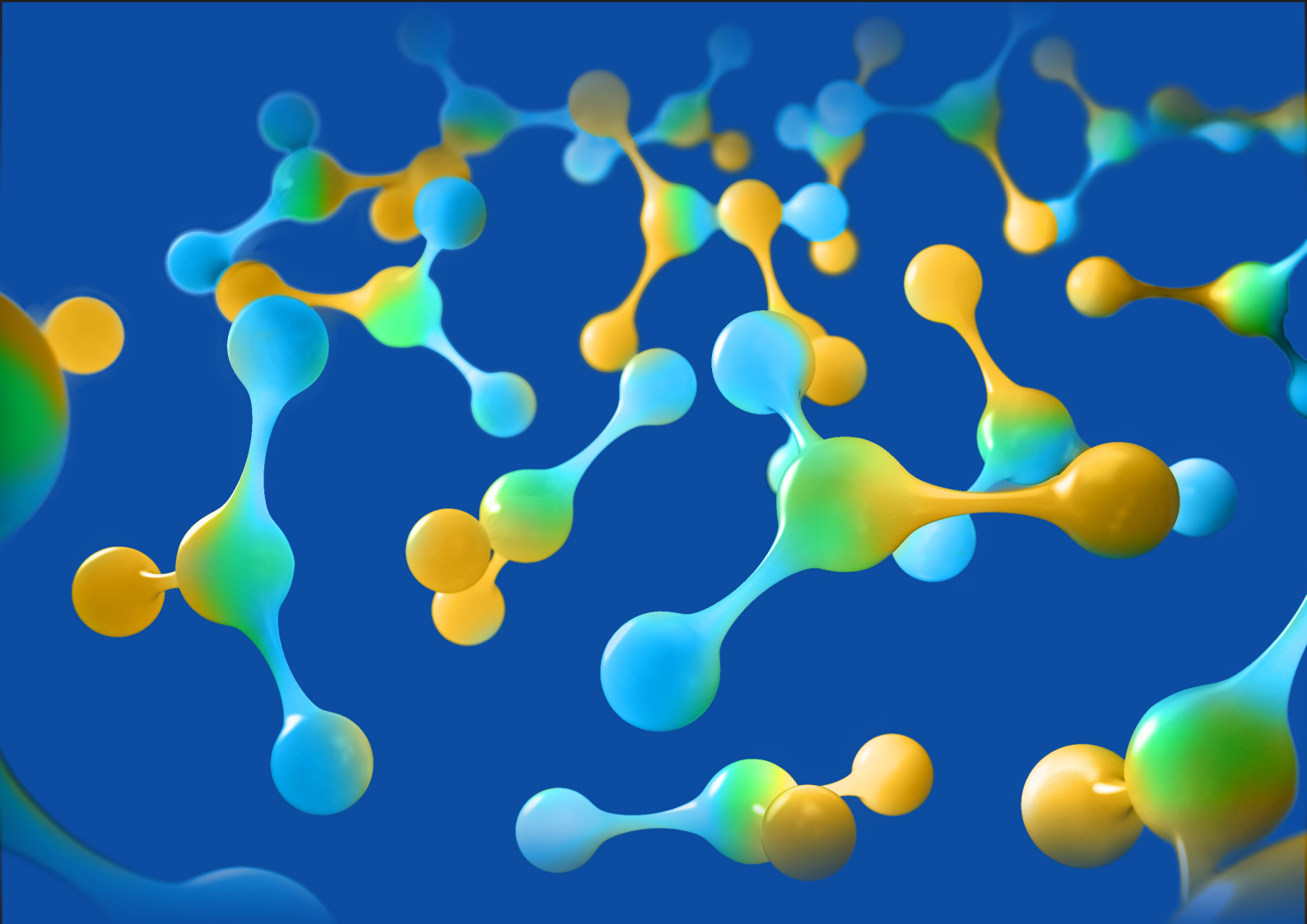




Livro de
RESUMOS

Congresso      
SulBiotec2018
8 a 10 de agosto 2018 | Canela - RS

Livro de
RESUMOS

Congresso      
SulBiotec2018
8 a 10 de agosto | Canela - RS



COMISSÃO ORGANIZADORA

Odir Antônio Dellagostin (UFPeI) – Coordenação Geral
Carlos Ricardo Soccol (UFPR)
Giancarlo Pasquali (UFRGS)
João Antônio Pegas Henriques (UCS e UFRGS)
João Carlos Deschamps (UFPeI)
Mario Steindel (UFSC)
Tiago Collares (UFPeI)

COMISSÃO CIENTÍFICA

Luciano da Silva Pinto (UFPeI)
Pablo Machado (PUCRS)
Sidnei Moura e Silva (UCS)

ORGANIZAÇÃO
AGeventos Assessoria

CAPA
Soma Criativa-Comunicação
EDITORAÇÃO
Isabel Kubaski - isabelkubaski@gmail.com

Sumário

ORAL	11
Aplicação de ferramentas de vacinologia estrutural para o desenvolvimento de vacina recombinante contra leptospirose	12
Natasha R. de Oliveira; Mara A. C. Maia; Tiffany T. Bunde; Ana Carolina K. Pedra; André A. Grassmann; Alan J. A. Mc Bride; Odir A. Dellagostin	
Avaliação da resposta imune celular e humoral induzida por <i>M. bovis</i> BCG expressando a proteína recombinante PLD	13
Bárbara da R. Fonseca; Karen S. Leal; Gabriel Brenner; Luiza D. Moron; Rodrigo B. de Pinho; Mirna S. D. Alves; Sibebe Borsuk	
Biochemical responses of the brown seaweed <i>Sargassum cymosum</i> after exposure to gasoline – metabolic changes in carotenoids and chlorophylls.....	14
Eva Regina Oliveira; Fernanda Ramlov; Claudia Marlene Bauer; Débora Cabral; Rodolfo Moresco; Marcelo Maraschin	
Biofixação de CO ₂ por <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 cultivada com dietanolamina.....	15
Bruna B. Cardias; Jenyfer A. Conceição; Michele G. Moraes; Jorge A. V. Costa	
Desenvolvimento de enzima de fusão para aumento na capacidade de produção de 2,3-butanodiol em processos fermentativos.....	16
Mauricio Schiavo; Ronaldo K. M. Rocha; Mauricio M. da Silveira; Sabrina Carra; Sergio Echeverrigaray	
Diphenyl Ditelluride: antiproliferative and cell cycle arrest effects in human and non-human cancer cells.....	17
André L. M. Juchem; Iuri M. de Oliveira; Miriana S. Machado; Temenouga N. Guecheva; João A. P. Henriques	
Estudo bioguiado dos alcaloides indólicos da <i>Tabernaemontana catharinensis</i>	18
Pauline F. Rosales (PG); Bianca T. Canci (PG); Mariana Roesch-Ely (PQ); Adriana C.E. Gower (PQ); Sidnei M. Silva (PQ)	
Influência de parâmetros nutricionais na produção de biomassa de <i>Kluyveromyces marxianus</i>	19
Alex C. Cham Jr; Roberta Castro Martins; Claudia E. Castro Bravo; Andréia Anschau; Fernando R. Skonieski; Marcela T. Frata	
Método de detecção e quantificação de DNA exógeno internalizado por células	20
Eduardo N. Dellagostin; Amanda W. da S. Martins; Gabriela T. Rassier; Larissa O. Daneluz; William B. Domingues; Tony L. R. da Silveira; Fabiana K. Seixas; Tiago V. Collares; Vinicius F. Campos	
Novas leveduras para novos tempos.....	21
Ana Paula L. Delamare; Fernando J. Scariot; Ronaldo K. Rocha; Joel Andrioli; Sergio Echeverrigaray	
Produção de bioetanol de mosto composto por diferentes combinações de biomassas residuais da bananicultura	22
Bianca M. Sandrin; Noeli Sellin; Ozair Souza	

Produção e caracterização do biocompósito nanoquitosana/óleo de buriti: um novo biomaterial para cicatrização de feridas.....	23
Dr. Luciano Pighinelli; Júlia Broquá; Msc. Jader Figueiredo; Anderson Rockenbach; Claudio C. Lisboa; Lucas Machado; Pamela Persson; Renata Pospichil	
Sistema integrado para produção de biopigmentos por <i>R. toruloides</i> e <i>S. platensis</i> a partir de caldo de cana-de-açúcar	24
Esteffany de S. Candéo; Eduardo B. S. de Souza; Alessandra C. N. Sydney; Eduardo B. Sydney	
Transcriptomic analysis of differentially expressed genes associated with resinosis in slash pine (<i>Pinus elliotti</i> var. <i>elliottii</i>)	25
Camila F. O. Junkes; Artur T. Araújo Jr.; Fernanda de Costa; Janette P. Fett; Arthur G. Fett-Neto	
POSTER	26
2-(Quinolin-4-iloxi)acetamidas e 3,4-diidro-quinazolin-4-onas: simplificação molecular e atividade antimicobacteriana.....	27
Ana F. Borsoi; Josiane L. D. da Paz; Kenia Pissinate; Cristiano V. Bizarro; Luiz A. Basso; Pablo Machado	
A ação proliferativa da lectina de <i>Bauhinia variegata</i> em células epiteliais humanas.....	28
Amanda Sigal Soares; Caroline Rizzi; Luciano da Silva Pinto	
A lectina recombinante de <i>Bauhinia forficata</i> II (rBfL-II) induz a morte de células humanas de câncer de mama e colorretal <i>in vitro</i>	29
Diego S. Amaral; Guilherme Cardoso; Frederico Schmitt Kremer; Ana Claudia O. Freitas; Guilherme F. Sousa; Rafael Danelon Dos Santos Woloski; Luciano Da S. Pinto	
Análise antimicrobiana de <i>Samanea tubulosa</i>	30
Isabela S. Simplicio; Rômulo M. de Mello; Eldrey L. S. dos Santos; Mariana S. Rodrigues; Gabrielli V. Sampaio; Roniel L. da Silva; Paula F. Montanher; Ricardo Sato; Cleverson Busso	
Análise de pré-tratamento (ácido e básico) na casca de soja.....	31
Cristian M. Canonico; Gabrieli C. Rossoni; João P. M. Miranda; Andréia Anschau	
Análise dos fatores que pode influenciar no crescimento microbiano	32
Cristian M. Canonico; Camila Kreczkuski; Claudinei de Freitas Vieira; Maria G. B. Pagnoncelli	
Antifungal activity evaluation of aqueous extract and purified saponin fractions obtained from <i>Quillaja brasiliensis</i> leaves	33
Ana Campos de Carvalho; Anna Carolina Alves Yendo; Gabriela Zottis Chitolina; Marilene Henning Vainstein; Arthur Germano Fett-Neto	
Aplicação de leveduras imobilizadas no processo de fermentação alcoólica	34
Gabriela Kovaleski; Sabrina Ávila Rodrigues	
Atividade antibacteriana de quitosana e compostos fenólicos extraídos de microalga <i>Spirulina</i> sp. LEB 18.....	35
Suelen G. Kuntzler; Ana Claudia A. de Almeida; Jorge L. da Maia; Jorge Alberto V. Costa; Michelle G. de Moraes	
Atividade antiestafilocócica do triterpeno netzahualcoionol isolado das raízes de <i>Salacia crassifolia</i> (Mart. Ex. Schult.) G. Don	36
Waleska S. Cruz; Arianne C. Ferraz; William G. Lima; Thaís F. S. Moraes; Jaqueline M. S. Ferreira; José C. de Magalhães	

Atividade antioxidante e teor de compostos fenólicos em extrato de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> MMPI	37
Marcelo L. K. Marchioro; Gabrielle C. Calegari; Vidiany A. Q. Santos; Candida Nissola; Fernanda A. B. Bertan; Andréia Anschau; Mário A. A. Cunha	
Atividade antiparasitária <i>in vitro</i> de dois análogos de 2,8-bis(trifluorometil) quinolina sobre <i>Trichomonas vaginalis</i>	38
Luiza D. Moron; Mirna S. D. Alves; Raquel N. das Neves; Bárbara R. Fonseca; Nicole R. Scholl; Gabriel Brenner; Sibebe Borsuk	
Atividade citotóxica da própolis vermelha em linhagens celulares de Glioblastoma	39
Sandra Sartoretto Pavin; Larissa Milano de Souza; Lisiane B. Meira; Mariana Roesch Ely; João Antônio Pêgas Henriques	
Atividade tricomonocida <i>in vitro</i> de derivados de furanil <i>N</i>-acilhidrazonas sobre <i>Trichomonas vaginalis</i>	40
Nicole R. Scholl; Mirna S. D. Alves; Raquel N. Das Neves; Bárbara R. Fonseca; Luiza D. Moron; Gabriel Brenner; Sibebe Borsuk	
Auxin influx transport and adventitious rooting in <i>Arabidopsis thaliana</i> etiolated seedlings	41
Cibele Tesser da Costa; Remko Offringa; Arthur Germano Fett-Neto	
Avaliação da aplicação de chorume oriundo de vermicompostagem no desenvolvimento de alface (<i>Lactuca sativa</i>)	42
Diana Träsel Weizenmann; Daniel Kuhn; Aluisie Piccolotto; Mariano Rodrigues; Maria Cristina Dallazen; Lucélia Hoehne	
Avaliação da atividade de produtos antiobesidade em ratos induzidos à obesidade	43
Cristian G. Uculmana Morales; Mayra A. Calagua Yaya; Jorge L. Tay Murtua; Hilda V. Poquioma Hernández; Carlos N. Vílchez Perales; Maria E. Villanueva Espinoza	
Avaliação da contaminação fúngica em amendoins e doces derivados comercializados em Ponta Grossa – PR	44
Mariely C. dos Santos; Kauanne K. Martins; Eduardo B. Sydney	
Avaliação da diversidade da microbiota oral de cães com diferentes estados de saúde bucal	45
Lucas D. dos Reis; Mauricio Tavares; Sergio Echeverrigaray; Fernando J. Scariot; Ana Paula L. Delamare	
Avaliação da senescência de espécies vegetais aquáticas em efluente suinícola diluído	46
Fábio A. Antonelo; Casi S. dos Santos; Gracielle Johann	
Avaliação de crescimento de leveduras do gênero <i>Saccharomyces</i> em efluente industrial	47
Vitoria H. Glenzel; Leite, F. P. L.; Gustavo W. Fehrenbach; Renan E. Piraine	
Avaliação de diferentes estratégias de funcionalização de nanopartículas de ouro para fins diagnósticos	48
Cristina C. Bianco; Caroline Menti; André L. Pinto; Cilene Labre; João A. P. Henriques; Mariana R. Ely	
Avaliação do potencial teórico da produção de biogás e biometano a partir de resíduos agroindustriais	49
Heder Jobbins de Arruda; Eduardo Sydney Bittencourt; Alessandra C. Novak Sydney	
Avaliação morfológica da degradação biológica de espumas de poliuretano em compostagem	50
Patrícia F. Marins; João P. M. G. Godoi; Danielle C. da Silva; Juliana R. Kloss; Reinaldo Y. Morita	
Bioinformática como ferramenta de pesquisa para estudo da influência de eventos de clivagem enzimática na atividade de peptídeos bioativos	51
Amanda Nyland; Anja Dullius; Ana Führ; Mônica Maciel; Márcia Goettter; Cláucia V. de Souza	

Bioinformatics as a research tool for enzyme selection in whey protein hydrolysate production containing antibacterial peptides	52
Anja Dullius; Amanda E. Nyland; Ana J. Führr; Luís F. S. M. Timmers; Márcia I. Goetttert; Cláudia F. Volken de Souza	
Bioprospecção de fungos produtores de enzimas lignocelulósicas em depósitos de resíduos de madeira de <i>Pinus sp.</i>	53
Mayara Scheffer; João Eduardo Levandoski; Johnata Henrique Rodrigues; Márcio Silva	
Biotecnologia e ciências forenses: padronização de análise de DNA em vestígios tipo pena visando elucidação de crimes contra a fauna.....	54
Leandra Formentão; Priscila Cassol; Yara Costa Netto Muniz; Andrea Rita Marrero	
Caracterização físico-química de casca de soja	55
Letícia Pinto; Roberta S. S. R. França; Andréia Anschau	
Caracterização físico-química de soro lácteo	56
Heloisa C. Rodrigues; Rafael U. Marttao; Izabelly Y. Bonatto; Ana C. Zanata; Gerusa A. Ferreira; Casí S. Santos; Andréia Anschau	
Caracterização físico-química e granulométrica de resíduo da indústria de celulose	57
Izabelly Y. Bonatto; Roberta S. S. R. França; Andréia Anschau	
Comparação de métodos de determinação da concentração de biomassa celular	58
Kathlyn Schafranski; Samuel R. Vieira; Eduardo B. Sydney	
Construção de uma lectina sintética da família das Lectinas Relacionadas à Jacalina (JRL) e suas aplicações biotecnológicas	59
Laura Junqueira de Camargo; Rafael Cagliari; Tony Picoli; Geferson Fisher; Luciano da Silva Pinto	
Construção de uma proteína quimérica para o desenvolvimento de vacina recombinante contra a leptospirose.....	60
Mara A. C. Maia; Natasha R. de Oliveira; Ana Carolina K. Pedra; Tiffany T. Bunde; André A. Grassmann; Alan J. A. McBride; Odir A. Dellagostin	
Construção e avaliação de quimera recombinante composta por porções de proteínas de <i>Leptospira spp.</i> identificadas por abordagem estrutural	61
Amanda S. Hecktheuer; Everton Bettin; André Grassmann; Alan J. McBride e Odir A. Dellagostin	
Construção <i>in silico</i> de uma sequência polipeptídica recombinante contra <i>Haemonchus contortus</i> pelo método de vacinologia reversa	62
Pedro Machado Medeiros de Albuquerque; Rodrigo Casquero Cunha; Renan Eugênio Araújo Piraine; Francisco Pereira Lobo; Fábio Pereira Leivas Leite	
Cultivo mixotrófico de <i>Spirulina sp.</i> com aplicação de campos magnéticos: potencial de obtenção de ficocianina	63
Alessandro O. M. Nogueira; Jorge A. V. Costa; Vânia R. Lima; Lucielen O. Santos	
Dados genômicos como indicadores de identidade e qualidade na gestão de coleções microbiológicas	64
Mariely C. Santos; Luciano M. Macedo; Mariana M. F. Nascimento; Luciana Almeida; Juliana V. M. Bittencourt	
Degradação biológica de poliuretano a partir do <i>Aspergillus spp.</i> isolado de um polímero biodegradado	65
João P. M. G. Godoi; Patrícia F. Marins; Camila E. Tenfen; Danielle C. da Silva; Reinaldo Y. Morita	

Desenvolvimento de pão tipo bisnaga enriquecido com a cianobactéria <i>Spirulina máxima</i>	66
Sandy K. Roberto; Sabrina A. Rodrigues; Alessandra C. N. Sydney; Eduardo B. Sydney	
Desenvolvimento de partículas de alginato para imobilização de <i>Chlorella vulgaris</i>	67
Felipe de A. Santos; Eduardo B. Sydney; Alessandra C. N. Sydney	
Desenvolvimento de um meio de cultura sintético alternativo para produção da microalga <i>Galdieria sulphuraria</i>	68
Jéssika D. F. Zimmermann; Isabella K. Carvalho; Eduardo B. Sydney	
Desenvolvimento e validação de método por RMN quantitativo para análise de agrotóxicos ilegais	69
Luana C. Crocoli (PG); Sidnei Moura (PQ)	
Determinação de glufosinato, glifosato e AMPA em óleo de soja por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa	70
Marilda Chiarello (PG); Roberto Romero-Gonzales (PQ); Sidnei Moura e Silva (PQ)	
Determinação do EHL (equilíbrio hidrófilo-lipófilo) do óleo de abacate	71
Laíssa Ap. P. dos Reis; Eduardo Bittencourt Sydney; Alessandra C. N. Sydney	
Efeito da aplicação de biofertilizante em hortaliças: uma meta-análise	72
Ana C. Zanata; Caliandra Bernardi; Nédia de C. Ghisi; Rosa M. S. Matsubara; Maria da C. C. Fernandes; Andreia Anschau	
Efeito da concentração de nitrogênio no cultivo autotrófico da microalga <i>Chlorella vulgaris</i>	73
Casi Santos dos Santos; Annamaria Dória S. Vidotti	
Efeitos da combinação de temozolomida e ditelureto de difenila em linhagens celulares de glioblastoma	74
Jéssica S. Soldatelli; Fernanda M. Munari; Iuri M. de Oliveira; Michelle de S. Lima; André L. M. Juchem; Mariana R. Ely; João A. P. Henriques	
Efeitos da rapamicina na expressão de genes associados ao envelhecimento ovariano	75
Giuliana A. Ferronato; Joao A. A. Rincón; Driele N. Garcia; Tatiana D. Saccon; Carlos C. de Barros; Augusto Schneider	
Efeitos dos diferentes métodos de microfabricação de transdutores magneto-elásticos na reprodutibilidade de um imunossensor	76
Caroline Menti; Bruno Silva; Yeslei Paulino da Silva; Cristina Chies Bianco; Sandro Tomaz Martins; Cesar Aguzzoli; João Antonio Pêgas Henriques; Rubem Sommer; Mariana Roesch Ely	
Emprego da floculação para a separação de células CHO produtoras de um anticorpo monoclonal recombinante humanizado	77
Rimenys J. Carvalho; Leda R. Castilho	
Estabelecimento de protocolo de propagação de matrizes de <i>Quillaja brasiliensis</i> através de mini-estaquia	78
Kelen Arossi; Anna Carolina Alves Yendo; Fernanda de Costa; Arthur Germano Fett-Neto; Grace Gosmann	
Esterificação de gordura animal via rota enzimática oriunda de subprodutos avícolas	79
Ana Paula M. Perin; Isabela S. Simplício; Andréia Anschau; Paula F. Montanher; Maria Giovana B. Pagnoncelli	
Estudo da produção de melanina pelo fungo endofítico <i>Diaporthe</i> sp.	80
Letícia W. Bassai; Adriane B. P. Medeiros	
Estudo do comportamento cinético da fermentação láctica na elaboração de iogurte	81
Isabella Scherer Vaz; Laís Lourdes Porto; Mylena Retixen do Rosário; Sabrina Ávila Rodrigues	

Expressão e caracterização de quimera constituída a partir de TolC de <i>Leptospira interrogans</i>	82
Ana Carolina K. Pedra; Tiffany B. Thurow; Mara A. C. Maia; Natasha R. de Oliveira; André A. Grassman; Alan J. A. McBride; Odir A. Dellagostin	
Fermentação alcoólica utilizando fontes de carbono diferentes	83
Gabriela Kovalesski; Sabrina Ávila Rodrigues	
Gestão da Coleção Microbiológica de Interesse Biotecnológico na UTFPR - Campus Ponta Grossa.....	84
Luciana de Almeida; Mariely C. Santos; Mariana M. F. do Nascimento; Luciano M. Macedo; Juliana V. M. Bittencourt	
Imobilização da enzima β-galactosidase de <i>Kluyveromyces lactis</i> em Immobead e estudo das propriedades texturais e catalíticas	85
Ana Júlia Führ; Adriano Gennari; Francielle H. Mobayed; Ruan S. Rafael; André L. Catto; Edilson V. Benvenutti; Rafael C. Rodrigues; Raul A. Sperotto; Giandra Volpato; Cláucia F. V. de Souza	
Investigação da interação entre o consumo de cafeína e o rs2298383 (<i>ADORA2A</i>) sobre sintomas de ansiedade.....	86
Fabiane Dresch; Luisa Capra; Kemberly Godoy Baségio; Magali Conte; Fernando Godoy Pereira das Neves; Alexandre Martins; Camile Wünsch; Júlia Pasqualini Genro; Verônica Contini	
Isolamento de fungos filamentosos produtores de celulasas a partir de tocos de <i>Pinus</i> sp.	87
João Eduardo Levandoski; Mayara Scheffer; Pedro Afonso Fatori Maldonado; Marcio Silva	
Isolamento, identificação molecular e caracterização da atividade lipolítica de isolado bacteriano ambiental	88
Luisa L. Santos; Débora V. Endt; Roberta B. Rodrigues	
Lignin distribution patterns during adventitious rooting in hard- and easy-to-root <i>Eucalyptus</i> species.....	89
Johnatan Vilasboa; Cibele T. da Costa; Jorge E. A. Mariath; Arthur G. Fett-Neto	
Melhoramento de leveduras para as fermentações de cacau e café mediante seleção clonal	90
Elisângela de S. M. Muynarsk; Gilberto V. de M. Pereira; Carlos R. Soccol	
Microtapping of <i>Pinus elliottii</i> Engelm as an alternative in prospecting resinose adjuvant pastes	91
João V. V. Duz; Magnus R. Kerber; Juliana L. Galvan; Júlia Wiczorek; Camila F. O. Junkes; Arthur G. Fett-Neto	
O laboratório de Bioquímica é para todos: formando pesquisadores inclusivos a partir de uma proposta acadêmico-aplicada em Libras	92
Tatiane Militão de Sá; Gildete da Silva Amorim Mendes Francisco; Gutemberg Gomes Alves; Saulo Cabral Bourguignon	
O tamanho das plantas de <i>Oryza</i> spp. pode influir na resposta de defesa a ácaros fitófagos?.....	93
Giseli Buffon; Thainá Inês Lamb; Édina Aparecida dos Reis Blasi; Rodrigo Gastmann; Joséli Schwambach; Felipe Klein Ricachenevsky; Mara Cristina Barbosa Lopes; Raul Antonio Sperotto	
Obtenção da exotoxina fosfolipase D de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> na forma não purificada e avaliação de segurança.....	94
Gabriel Brenner; Rodrigo B. de Pinho; Luiza D. Moron; Mara Thais O. Silva; Nicole R. Scholl; Raquel N. das Neves; Sibeles Borsuk	
Obtenção da proteína recombinante FadL de <i>Leptospira</i> spp. para o desenvolvimento de vacina recombinante contra leptospirose	95
Tiffany Thurow Bunde; Natasha Rodrigues de Oliveira; Mara Andrade Colares Maia; Ana Carolina Kurz Pedra; André Alex Grassmann; Alan John Alexander McBride; Odir Antônio Dellagostin	

Obtenção de carvão ativado de bagaço de malte para adsorção de corante Remazol Alaranjado Bril 3R.....	96
Renata Cândido Araújo de Lima; Fernanda Aparecida Brocco Bertan; Andréia Anschau	
Obtenção de nanocelulose bacteriana através da fermentação de resíduos agroindustriais	97
Luciano M. Macedo; Shelen P. Thomaz; Mariana M. F. Nascimento; Juliana V. M. Bittencourt	
Obtenção de plantas de arroz com níveis alterados de ferro nos grãos através de edição genômica	98
Betina Debastiani Benato; Felipe dos Santos Maraschin	
Otimização da transformação genética de <i>Eucalyptus</i> por bombardeamento de partículas	99
Bryan J. P. Solis; Luísa M. Ramos; Paulo A. K. X. M. Silva; Giancarlo Pasquali; Eliane R. Santarém; Leandro V. Astarita	
Potenciais aplicações de nanopartículas magnéticas em biotecnologia: desafios e oportunidades	100
Marcel Martins; Luna Polido; Luciana Carvalheira; Lizandra Alves; Adriana Teixeira; Priscilla Finotelli	
Potencial antioxidante de hidrogel contendo (1→6)-β-D-glucana (Lasiodiplodana)	101
Candida Nissola; Aneli de M. Barbosa-Dekker; Robert F. H. Dekker; Gabrielle C. Calegari; Marcelo L. K. Marchioro; Vidiany A. Q. Santos; Mário A. A. da Cunha	
Prevalência de <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> em amostras de tecido pulmonar coletadas no estado do Rio Grande do Sul	102
Violetta D. Pacce; Natasha R. de Oliveira; Sérgio Jorge; Odir A. Dellagostin	
Produção de 2,3-butanodiol a partir de simulação de hidrolisados lignocelulósicos: um estudo com <i>Enterobacter aerogenes</i>	103
Paulo H. Tonin; Victoria M. Baschera; Caroline Rossi; Mauricio M. da Silveira	
Produção de células H9c2 mutantes para o estudo da infecção por <i>Trypanosoma cruzi</i>	104
Bruna Evelyn Rocha Campos; Rafael Luis Kessler	
Produção de hidromel com leveduras livres e encapsuladas	105
Renato Daher Augusto Steffen; Nilson Yugo Matsuo; Sabrina Ávila Rodrigues	
Proposta de uma alternativa biotecnológica ao aproveitamento do efluente gerado na produção de farinha de mandioca	106
Oder Henrique C. Rodrigues; Rodolfo Moresco; Marcelo Maraschin	
Propriedades da solução de cloridrato de quitosana modificada com complexo de nano fosfato de cálcio	107
Luan R. Paz; Luciano Pighinelli; Fernando M. Guimarães; Júlia Broqué; Luiz F. P. Kolling; Marzena Kmiec; Pamela Persson; Cláudio M. Lisboa; Paulo S. R. Dias; Giovani A. Piva	
<i>Quillaja brasiliensis</i> plant cell cultures: growth and saponin content	108
Yve V. da Silva Magedans; Anna C. A. Yendo; Arthur G. Fett-Neto	
Recursos Didáticos Bilíngue Para Pessoas Surdas: inovação para profissionais surdos da área de Biotecnologia	109
Gildete da Silva Amorim Mendes Francisco; Saulo Cabral Bourguignon; Fernanda Serpa Cardoso	
Regeneração de mesocótilos de arroz da cv BR-IRGA 426 submetidos a diferentes tempos de infiltração a vácuo na transformação genética.....	110
Ana Claudia O. Freitas; Juliana O. Carvalho; Luciana Bicca Dode; Amilton Seixas Neto; Rafaela Formoso; Luciano da S. Pinto	

Síntese de tiazolil-1 <i>H</i> -benzo[d]imidazóis utilizando energia de ultrassom	111
Josiane L. D. da Paz; Ana F. Borsoi; Kenia Pissinate; Cristiano V. Bizarro; Luiz A. Basso; Pablo Machado	
Sistema de ajuste automático da osmorregulação em peixes eurialinos.....	112
Amanda W.S. Martins; Eduardo N. Dellagostin; William B. Domingues; Tony L. Silveira; Mariana H. Remião; Gabriel B. Martins; Ricardo B. Robaldo; Vinicius F. Campos	
Solubilidade de filmes de amido obtidos de tubérculos	113
Eduardo dos Santos Macedo Costa; Luciana Bicca Dode; Patrícia Díaz de Oliveira	
Tridimensional comparative anatomy of resin canals in low- and high-resin producing trees of <i>Pinus elliottii</i>	114
Franciele A. Neis; Anna C. A. Yendo; Márcia R. de Almeida; Fernanda de Costa; Arthur G. Fett-Neto	
Validação de proteínas e mecanismos moleculares envolvidos na resistência à cisplatina em células humanas de câncer de pulmão	115
Nathan A. Cadore; Bruna V. Meneghetti; Cristine de S. Dutra; Karina M. Monteiro	
Viability of probiotic bacteria encapsulated with ricotta whey and proteic materials.....	116
Daniela Dullius; Wendell Dall'Agnol; Gabriela Rabaioli Rama; Cláucia F. Volken de Souza	

ORAL

Aplicação de ferramentas de vacinologia estrutural para o desenvolvimento de vacina recombinante contra leptospirose

NATASHA R. DE OLIVEIRA^{1*}; MARA A. C. MAIA¹; TIFFANY T. BUNDE¹; ANA CAROLINA K. PEDRA¹; ANDRÉ A. GRASSMANN²; ALAN J. A. MC BRIDE¹; ODIR A. DELLAGOSTIN^{1**}

¹ Núcleo de Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas; ² Department of Medicine and Department of Molecular Biology and Biophysics, University of Connecticut Health, EUA.

E-mail: *oliveira_natasha@hotmail.com, **odirad@gmail.com

A leptospirose, doença causada por espiroquetas patogênicas do gênero *Leptospira*, é uma das principais zoonoses bacterianas que afetam a saúde pública. Vacinas comerciais apresentam limitações como à indução de imunidade restrita aos sorovares presentes na formulação e efeitos indesejáveis que restringem seu uso em humanos. A vacina ideal contra leptospirose deve conter antígenos expostos na superfície da bactéria, conservados, imunogênicos e apresentar baixa reatogenicidade. Tais características podem ser obtidas com a aplicação da tecnologia do DNA recombinante ao desenvolvimento de vacinas. A recente utilização de uma abordagem de bioinformática baseada em vacinologia reversa e estrutural, empregada por nosso grupo de pesquisas, permitiu a identificação de 165 proteínas preditas como barril- β transmembrana (β b-OMPs), as quais apresentam porções expostas no folheto externo da membrana, e conservadas em espécies patogênicas. Dentre estas se destaca a proteína aqui nomeada FadL, funcionalmente anotada como um transportador de ácidos graxos e conservada em pelo menos 9 das 13 espécies patogênicas de *Leptospira* conhecidas. A fim de validar a utilização da FadL como potencial alvo vacinal, a sua sequência de aminoácidos (genoma de *L. interrogans* sorovar Copenhageni cepa Fiocruz L1-130), foi submetida a modelagem de estrutura tridimensional (3D) utilizando a ferramenta I-TASSER. A predição de epítomos de células B e MHCII foi realizada utilizando os softwares BepiPred 2.0 e ProPredII, respectivamente. A localização dos epítomos na estrutura 3D da proteína foi visualizada com o software UCSF Chimera 1.12. O modelo da estrutura 3D da proteína FadL confirmou a conformação de β b-OMP, apresentando 14 folhas- β estruturalmente relacionada a um transportador de compostos hidrofóbicos em outras bactérias Gram-negativas. Um total de 25 epítomos para 51 variantes de receptores de MHCII e 10 epítomos lineares de células B foram identificados ao longo de todos os fragmentos preditos como expostos na superfície da bactéria. A aplicação de ferramentas de vacinologia estrutural *in silico* para FadL permitiu a identificação de regiões potencialmente imunogênicas desta proteína, caracterizando-a como um promissor alvo-vacinal. Atualmente uma construção recombinante da FadL está sendo caracterizada e sua capacidade de induzir proteção será testada em modelo animal, a fim de desenvolver uma vacina recombinante efetiva contra leptospirose.

Palavras-chave: *Leptospira*, proteína integral de membrana, bioinformática.

Avaliação da resposta imune celular e humoral induzida por *M. bovis* BCG expressando a proteína recombinante PLD

BÁRBARA DA R. FONSECA^{*}; KAREN S. LEAL; GABRIEL BRENNER; LUIZA D. MORON;
RODRIGO B. DE PINHO; MIRNA S. D. ALVES; SIBELE BORSUK^{**}

Laboratório de Biotecnologia Infecto-Parasitária, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Biotecnologia, UFPel.

E-mail: ^{*}barbafonseca@hotmail.com, ^{**}sibeleborsuk@gmail.com

A linfadenite caseosa (LC) é uma doença infecto-contagiosa causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*, que acomete ovinos e caprinos em escala mundial, ocasionando significativas perdas econômicas. A disseminação de *C. pseudotuberculosis* no sistema sanguíneo e linfático ocorre principalmente pela ação da exotoxina fosfolipase D (PLD), um importante fator de virulência da bactéria, que aumenta a permeabilidade vascular local e favorece sua migração. A cepa de *Mycobacterium bovis* BCG é um importante vetor vacinal a ser estudado, tendo em vista seu baixo custo de produção, propriedades adjuvantes e estímulo ao sistema imune. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar em camundongos a resposta imune celular e humoral induzida por *M. bovis* BCG expressando rPLD. Para isso, foi realizada a amplificação do gene *pld* que foi ligado ao vetor pUS2000 e transformado na cepa *M. bovis* BCG Pasteur. Para expressão da proteína rPLD, foi utilizado o plasmídeo pAE/*pld* previamente construído para transformação de *E. coli* BL21 (DE3) *Star*. A confirmação da identidade da proteína foi realizada por western blot com anticorpo monoclonal anti-6X-histidina. Na avaliação da resposta imune foram utilizados 36 camundongos alocados em 4 grupos com 9 animais, sendo: G1: Solução Salina; G2: *M. bovis* BCG Pasteur; G3: *M. bovis* BCG/*pld* e G4: *M. bovis* BCG/*pld*+rPLD purificada. Os animais receberam duas doses das vacinas via intraperitoneal, com intervalo de 21 dias. Foram realizadas 3 coletas de sangue com 21 dias de intervalo e os níveis de IgG Total foram determinados por ELISA indireto. Para avaliação da resposta imune celular, os animais foram eutanasiados 21 dias após a última imunização para remoção do baço e cultivo dos esplenócitos. A quantificação dos níveis de citocinas IFN- γ e IL-10 foi realizada através de kits comerciais, conforme instruções do fabricante. Como resultados, observou-se um baixo nível de anticorpos IgG Total nos dias 0 e 21 em todos os grupos, enquanto no dia 42 o grupo G3 apresentou um aumento significativo desse isótipo quando comparado aos demais. Quanto a imunidade celular, observou-se que todos os grupos imunizados apresentaram aumento nos níveis de produção de IFN- γ em comparação ao controle negativo e, além disso, o grupo G3 apresentou diferença significativa nos níveis de IL-10 do restante dos grupos. Conclui-se que *M. bovis* BCG expressando a proteína rPLD demonstrou resultados positivos, promovendo altos níveis de produção de IFN- γ , assim apresentando-se promissor para uso em vacinas vetorizadas para LC.

Palavras-chave: linfadenite caseosa, fosfolipase D, rBCG.

Biochemical responses of the brown seaweed *Sargassum cymosum* after exposure to gasoline – metabolic changes in carotenoids and chlorophylls

EVA REGINA OLIVEIRA*; FERNANDA RAMLOV; CLAUDIA MARLENE BAUER;
DÉBORA CABRAL; RODOLFO MORESCO; MARCELO MARASCHIN

Plant Morphogenesis and Biochemistry Laboratory, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil.

E-mail: *ginagro@gmail.com

Among the most abundant life forms in aquatic environments are macroalgae, fundamental constituents of the benthic communities and the base of the food chain. Marine macroalgae are of great importance in establishing the balance and resilience of coastal ecosystems, and are able to develop defense strategies against stressors, expressed in the production of several metabolites, which makes these organisms the most promising bioindicators of organic and inorganic pollutants in oceans. Among the pollutants resulting from anthropogenic activities, the most referred to and studied due to their high toxicity, bioaccumulation, and biomagnification are heavy metal ions, pesticides, xenobiotics, and petroleum derivatives, e.g. gasoline and diesel oil. In the analysis of harmful molecules, metabolomics represents a powerful approach in investigating the effect of pollutants at the cellular metabolic level. In this sense, this work determined the metabolic changes following the gasoline exposure on benthic organisms using the brown alga *Sargassum cymosum* var. *stenophyllum* as a study model. Thallus segments of this species were *in vitro* cultured (sea water, 25°C, 12h-photoperiod, continuous shaking). After the acclimation period (7 days), samples of specimens were exposed to gasoline (0.001, 0.01, 0.1, and 1% - v/v) over a time-course experiment, i.e., t_{zero} – control (absence of gasoline), 30 min., 1 h, 12 h, and 24 h. At the end of the incubation periods, samples (1 g - fresh weight) were collected, macerated in liquid N_2 , and added of 10 ml hexane: acetone: BHT (butyl hydroxytoluene) solution or acetone, to determine, respectively, the contents of carotenoids and chlorophylls *a* and *c* by UV-visible spectrophotometry. Increases in chlorophylls *a* and *c* amounts were detected in all samples, except following a short exposure to gasoline, i.e., 30 min. Contrarily, a negative dose-response effect for the carotenoid contents was detected after gasoline exposure for 30 min and 1h, with augmented values at 12h. Samples exposed to gasoline for 24h, regardless of the concentrations investigated, did not show a clear pattern of metabolic changes for carotenoids, denoting a possible disarrangement of the biological system following longer exposure times. The biochemical changes detected suggest that the brown seaweed *S. cymosum* may serve as a biological model, i.e. bioindicators, for assessing the impact of petroleum-derivative pollutants in impacted coastal areas, notably at initial disturbance.

Keywords: *Sargassum* sp., anthropogenic pressure, abiotic stress, UV-visible.

Biofixação de CO₂ por *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com dietanolamina

BRUNA B. CARDIAS^{1**}; JENYFER A. CONCEIÇÃO¹; MICHELE G. MORAIS²; JORGE A. V. COSTA^{1*}

¹ Laboratório de Engenharia Bioquímica, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande;

² Laboratório de Microbiologia e Bioquímica, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande.

E-mail: *jorgealbertovc@terra.com.br, **brunabarcelosc@hotmail.com

As elevadas emissões de gases de efeito estufa (GEE), como dióxido de carbono (CO₂), derivadas da geração de energia e uso de combustíveis fósseis são a principal causa da intensificação do aquecimento global. Estima-se que o consumo de energia aumente 28% entre 2015 e 2040, o que pode acentuar a produção de GEE. A biofixação por microalgas é uma das formas mais promissoras de captura do CO₂ atmosférico devido, principalmente, as elevadas taxas de crescimento dos micro-organismos. O cultivo de microalgas com absorventes químicos tem sido estudado como forma de elevar a captura do CO₂. Dietanolamina (DEA) é um absorvente químico utilizado no tratamento de gases de combustão, que apresenta alta taxa de reação com CO₂. Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da adição de DEA na biofixação de CO₂ por *Spirulina* sp. LEB 18. Os ensaios com *Spirulina* sp. LEB 18 foram realizados em duplicatas em fotobiorreatores tubulares verticais de 2 L, 30 °C, fotoperíodo 12 h claro/escuro, 41 $\mu\text{mol}_{\text{fótons}} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e concentração celular inicial 0,2 g L⁻¹. A agitação foi realizada com ar comprimido estéril e o CO₂ alimentado a 0,36 mL_{CO₂} mL_{meio}⁻¹ d⁻¹. Os ensaios foram realizados sem DEA (controle) e com adição de 0,41 e 3,28 mmol L⁻¹. Foram determinadas a produtividade máxima (P_{máx}), a taxa de biofixação de CO₂ (TB_{máx}), a concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID) e as espécies de carbono dissolvidas no meio. A maior P_{máx} foi obtida nos ensaios controle e com 0,41 mmol L⁻¹ de DEA (122 e 123 mg L⁻¹ d⁻¹, respectivamente). A adição da maior concentração de absorvente (3,28 mmol L⁻¹) resultou em redução da P_{máx} (99 mg L⁻¹ d⁻¹) e da TB_{máx} (182 mg L⁻¹ d⁻¹) em relação ao controle. No entanto, a presença de 0,41 mmol L⁻¹ de DEA no cultivo aumentou 8,5% a TB_{máx} em relação ao ensaio sem absorvente. O CO₂ foi dissolvido no meio na forma de bicarbonato (HCO₃⁻), carbonato (CO₃⁻²) e ácido carbônico (H₂CO₃). O maior valor de CID foi obtido com adição de 0,41 mmol L⁻¹ de DEA (218 mg L⁻¹), em que o HCO₃⁻, que é a forma de carbono preferencialmente utilizada pela microalga, foi predominante (33 vezes mais que CO₃⁻²). A microalga *Spirulina* sp. LEB 18 pode ser cultivada com dietanolamina, de forma a elevar a biofixação de CO₂, integrando os processos biológico e químico de captura do CO₂.

Palavras-chave: absorção química, carbono, microalga, produtividade.

Desenvolvimento de enzima de fusão para aumento na capacidade de produção de 2,3-butanodiol em processos fermentativos

MAURICIO SCHIAVO^{**}; RONALDO K. M. ROCHA; MAURICIO M. DA SILVEIRA; SABRINA CARRA; SERGIO ECHEVERRIGARAY^{*}

Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS.

E-mail: ^{*}selaguna@ucs.br, ^{**}mauricio@progenes.com.br

O glicerol é o principal resíduo obtido na produção de biodiesel, sendo liberado em grandes quantidades, excedendo sua demanda de mercado. O glicerol bruto obtido de plantas industriais de biodiesel pode ser usado como fonte de carbono e energia em crescimento microbiano para a sua conversão em substâncias de interesse como o 2,3-butanodiol. Atualmente, o desenvolvimento de enzimas e bactérias metabolicamente modificadas utilizando biologia sintética estão sendo explorados para aumentar o consumo de glicerol e a produção de 2,3-butanodiol. Um plasmídeo foi sintetizado para a expressão de uma proteína de fusão contendo ambas as enzimas glicerol desidrogenase (GLDH) NAD⁺ dependente e acetoína redutase (BDH) NADH dependente. O plasmídeo foi clonado em *Escherichia coli* DH5α para avaliar o seu efeito no crescimento celular, consumo de glicerol e conversão de acetoína em 2,3-butanodiol. O plasmídeo clonado foi avaliado em géis de agarose e a enzima obtida foi identificada em SDS-PAGE. Foi realizado crescimento de células transformadas induzidas e não induzidas com IPTG e células controle em meio mínimo contendo 25g/L de glicerol e acetoína, o extrato bruto de células de *E. coli* transformadas e induzidas também foi utilizado para análise enzimática em solução contendo 1mM NADH e 100mM de glicerol e acetoína. As concentrações de glicerol, acetoína e 2,3-butanodiol foram determinadas por HPLC. Foi observado que as células contendo o plasmídeo apresentaram uma redução no crescimento em comparação às bactérias controle. Em reação enzimática foi observado aumento de 12,85% no consumo de glicerol e de 29,77% de acetoína em relação ao controle e uma titulação final de 0,45 g/L de meso-2,3-butanodiol somente nos extratos de células transformadas, após 30 minutos de reação. A enzima produzida é capaz de aumentar a conversão de glicerol em di-hidroxiacetona e realizar a conversão de acetoína em 2,3-butanodiol.

Palavras-Chave: proteína de fusão, glicerol desidrogenase, acetoína redutase, 2,3-butanodiol, glicerol.

Diphenyl Ditelluride: antiproliferative and cell cycle arrest effects in human and non-human cancer cells

ANDRÉ L. M. JUCHEM^{1*}; IURI M. DE OLIVEIRA¹; MIRIANA S. MACHADO^{1,2};
TEMENOUGA N. GUECHEVA¹; JOÃO A. P. HENRIQUES^{1,2,3*}

¹ Department of Biophysics, Federal University of Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil; ² InnVitro Research & Development - Porto Alegre, RS, Brazil; ³ Institute of Biotechnology, University of Caxias do Sul – UCS, Caxias do Sul, RS, Brazil.

E-mail: *wbandre@gmail.com

Cancer is the one of most concerns in public health and has one of the highest mortality rates in worldwide. Diphenyl ditelluride (DPDT) is an organotellurium (OT) compound with biological effects, such as potential antioxidant, antigenotoxic and antimutagenic at low concentrations ($\leq 1 \mu\text{M}$). DPDT showed cytotoxic effects in mammalian V79 cells by inducing oxidative damage, DNA strand breaks, cell cycle arrest and topoisomerase I (Topo I) inhibition in several models ($1 - 10 \mu\text{M}$). Thus, this work aims to investigate the antiproliferative, genotoxic and cell cycle arrest potential of DPDT in human colorectal cancer cells (HCT116) and human fibroblast cells (MRC5) in addition to further potential applications of DPDT. Results showed a decrease in cell viability after DPDT exposures for 24, 48 and 72 h in both cell lines, as evaluated by MTT and clonogenic assays ($1 - 20 \mu\text{M}$). The comet assay detected DNA damage for both cells line in DPDT exposures (3 h and 24 h), with a more pronounced DNA damage index for HCT116. Furthermore, cell cycle arrest in G2/M phase detected by flow cytometry was more pronounced in the HCT116 than MRC5 cell lines after 24, 48 and 72 h of exposure ($1 - 10 \mu\text{M}$). Taken together, HCT116 colorectal cancer cells were more sensitive to DPDT biological effects than MRC5 cells. This difference may be related to the stronger genotoxic effects induced by DPDT in HCT116 cells, which probably triggered the cell cycle arrest. The action of DPDT apparently occurs in the S phase, taking place to cell cycle arrest in G2/M, leading to the checkpoint activation and/or Topo I inhibition hypothesis. The currently Topo I inhibitors has its limitations, therefore investigation of new compounds are required. The employment of genotoxic and checkpoint activators agents that leads to DNA damage response are targets in cancer research for their specificity or immunotherapeutic activity. Thus, the results of this work open up possibilities for future studies on further investigation of possible mechanisms of molecular action of DTDF in colorectal cancer cells and other cancer models.

Keywords: Diphenyl Ditelluride, colorectal cancer, cytotoxicity.

Estudo bioguiado dos alcalóides indólicos da *Tabernaemontana catharinensis*

PAULINE F. ROSALES (PG)^{1,2*}; BIANCA T. CANCI (PG)³; MARIANA ROESCH-ELY (PQ)³; ADRIANA C.E. GOWER (PQ)¹; SIDNEI M. SILVA (PQ)¹

¹ Laboratory of Biotechnology of Natural and Synthetic Products - University of Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, Brazil; ² Federal Institute of Education, Science and Technology of Rio Grande do Sul - Campus Bento Gonçalves, Bento Gonçalves, RS, Brazil; ³ Laboratory of Genomics, Proteomics and DNA Repair – Biotechnology Institute, University of Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, Brazil.

E-mail: *pauline.quimica@gmail.com

A *Tabernaemontana catharinensis* L., pertence à família Apocynaceae, conhecida pelo alto conteúdo de alcalóides indólicos. Esta espécie tem sido extensivamente estudada devido à atividade recorrente como analgésica, citotóxica, antioxidante e anticolinesterásica. Extratos contendo alcalóides indólicos de *T. catharinensis* já demonstraram atividade antitumoral. Desta forma, este estudo objetivou a identificação e a avaliação citotóxica desses metabólitos secundários em um processo bioguiado. As hastes foram coletadas na cidade de Ijuí-RS. O material vegetal triturado foi submetido a extração com ultrassom, utilizando etanol como solvente de extração (10mL/g) por 30 minutos a 40% de amplitude. O extrato bruto foi dissolvido em 100 mL de HCl 1% e 100 mL de diclorometano. A fase orgânica ácida foi descartada enquanto a fase aquosa ácida foi transferida para um novo funil de separação. A fase aquosa ácida foi alcalinizada com NaOH a 10% até pH 11,1 e extraída com 100 mL de diclorometano. A fase aquosa básica foi descartada e o solvente de fase orgânica básica foi removido por rotaevaporador a pressão reduzida. Essa última fração é rica em alcalóides. Os compostos foram separados em coluna aberta (25 cm com gel de sílica 60) que foi eluída com um gradiente de hexano, CHCl₃ e MeOH, com a polaridade aumentando gradualmente. As frações foram monitorizadas por CCD, reveladas com Dragendorff e reunidas em 33 frações contendo alcalóides indólicos. A espectrometria de massas de alta resolução - HRMS foi utilizada para identificação de compostos. Foram identificados em diferentes frações os alcalóides: 16-*epi*-afinina, afinisina, ibogamina, coronaridina hidroxindolina, voachalotina e 12-metoxi-*nb*-metil-voachalotina. Cinco frações contendo os principais alcalóides indólicos foram escolhidas para o ensaio biológico. O ensaio MTT foi utilizado para avaliar a citotoxicidade contra as linhagens celulares VERO e A375. As frações mostraram seletividade, pois apresentaram grandes taxas de sobrevivência para a linhagem celular saudável (VERO) e taxas mais baixas para a linhagem tumoral (A375). Dentre as frações, destaca-se a fração contendo o composto afinisina que mostrou tóxica para as células em todas as concentrações testadas, representando mais de 80% de morte celular.

Palavras-chave: secondary metabolites, ultrasound, cytotoxicity, apocynaceae, MTT assay.

Influência de parâmetros nutricionais na produção de biomassa de *Kluyveromyces marxianus*

ALEX C. CHAM JR^{1*}; ROBERTA CASTRO MARTINS²; CLAUDIA E. CASTRO BRAVO¹;
ANDRÉIA ANSCHAU¹; FERNANDO R. SKONIESKI¹; MARCELA T. FRATA¹

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná; ² Universidade Federal de Lavras – MG.

E-mail: *alexjunior.2016@alunos.utfpr.edu.br

As condições relacionadas ao cultivo de micro-organismos para obtenção de produtos ou subprodutos provenientes de fermentação requer uma análise bastante específica sobre as demandas nutricionais particulares de cada micro-organismo, assim como fatores relacionados ao processo operacional aplicado à sua obtenção. As leveduras vêm sendo amplamente estudadas quanto à sua capacidade de produção de compostos de interesse industrial, a fim de melhorar a suplementação e formulação de produtos com maior índice proteico conhecidas também como “*single cell protein*”. A levedura *Kluyveromyces marxianus* é um dos micro-organismos utilizados com a finalidade de obtenção de enzimas e outros subprodutos relacionados à sua fermentação sendo, em grande parte a biomassa utilizada para extração de compostos celulares como manoproteínas e fibras solúveis. Por ser conhecida e considerada como segura (GRAS) sua aplicação tem sido cada vez mais relevante no uso na indústria de alimentos e farmacêutica. Tendo em vista o potencial relacionado à obtenção de produtos provenientes de processos fermentativos otimizados, esse trabalho analisou a influência de parâmetros nutricionais na produção de biomassa de *K. marxianus*. Onde através de um Planejamento Fatorial Completo 2⁴ estudou-se as variáveis: Glicose (0,1% e 1,0%), extrato de levedura (0,1% e 1,0%), fosfato monopotássico (0,1% e 1,0%) e sulfato de magnésio heptahidratado (0,01% e 0,1%). O crescimento foi realizado em fermentação submersa a 28°C, 100 rpm por 24 horas. A biomassa final do processo fermentativo foi determinada por técnica gravimétrica. Os resultados obtidos a partir do Planejamento Fatorial foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), de forma a identificar diferenças com significância estatística na obtenção de biomassa de *K. marxianus*. A concentração celular obtida variou de 0,40 a 2,80 g/L. Através de análise estatística ($p > 0,05$), pode-se concluir que a melhor condição de cultivo para produção de biomassa de *K. marxianus* foi: glicose (1,0%), extrato de levedura (1,0%), fosfato monopotássico (0,1%) e sulfato de magnésio heptahidratado (0,01%), produzindo 1,30 g de biomassa L⁻¹ de caldo fermentado final; utilizando o coeficiente de determinação (R^2) obteve-se 0,99853 o que indica uma excelente relação dos dados experimentais com a curva estabelecida pelo modelo matemático. Conclui-se assim que os parâmetros estabelecidos em alguns dos testes foram eficientes para melhor desenvolvimento da cultura, podendo tais limites serem utilizados com finalidade de obter subprodutos a partir de células de *K. marxianus*.

Palavras-chave: fermentação submersa, delineamento experimental, levedura, subproduto.

Método de detecção e quantificação de DNA exógeno internalizado por células

EDUARDO N. DELLAGOSTIN^{1*}; AMANDA W. DA S. MARTINS¹; GABRIELA T. RASSIER¹; LARISSA O. DANELUZ¹; WILLIAM B. DOMINGUES¹; TONY L. R. DA SILVEIRA²; FABIANA K. SEIXAS³; TIAGO V. COLLARES³; VINICIUS F. CAMPOS^{1**}

¹ Laboratório de Genômica Estrutural, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas;

² Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Ciências Biológicas; ³ Grupo de Pesquisa em Oncologia Celular e Molecular, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas.

E-mail: *edu.ndell@gmail.com, **fariascampos@gmail.com

Técnicas de manipulação genética permitem que um DNA exógeno seja introduzido em células eucarióticas, em um processo denominado de transfecção. Na maioria das linhagens celulares provenientes de eucariotos, uma vez integrado no genoma da célula, os genes contidos no DNA exógeno podem ser expressos e proteínas biologicamente ativas sintetizadas. Nos campos da pesquisa científica básica e aplicada, o uso de gametas submetidos ao processo de transfecção de DNA exógeno para a produção em massa de animais transgênicos merece destaque na área de Biotecnologia Animal. Um dos métodos mais utilizados para a avaliação da transfecção é o emprego de DNA exógeno contendo o gene da proteína verde fluorescente (GFP, *Green Fluorescent Protein*), a qual serve como marcador indireto da internalização e expressão do gene de interesse, onde ambos devem estar contidos no DNA exógeno. No entanto, linhagens de células germinativas, como os espermatozoides, possuem uma maquinaria deficiente, a qual impossibilita expressão do gene da GFP e consequente expressão da proteína heteróloga, impedindo a análise da eficiência do processo de transfecção neste tipo celular. Sendo assim, observa-se no estado da técnica uma carência em se avaliar a eficiência do processo de transfecção de uma forma rápida e acurada, através de uma tecnologia que permita a quantificação do número de células carregando o DNA exógeno, bem como a posterior utilização das mesmas. Para a detecção e quantificação do DNA exógeno, o mesmo deve ser marcado utilizando primers associados ao fluorocromo Cianina-3. As células transfectadas devem ser incubadas em contato com o DNA exógeno em condições ótimas de cultivo, seguido de uma lavagem com uma solução de DNase para a remoção total do DNA exógeno livre ligado na face externa das células. Posteriormente, as células deverão ser analisadas em citômetro de fluxo para a concomitante detecção do DNA exógeno, quantificação da intensidade de fluorescência e quantificação da porcentagem de células contendo o DNA exógeno internalizado. Com a utilização da presente tecnologia, é possível a quantificação de forma acurada e otimizada do número de espermatozoides contendo o DNA exógeno internalizado, além disso, os mesmos podem ser utilizados em processos posteriores, tais como FIV e ICSI, uma vez que não foram observados efeitos prejudiciais. A presente tecnologia de detecção e quantificação de DNA exógeno internalizado por células encontra-se registrada na forma de Patente de Invenção e depositado no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI).

Palavras-chave: SMGT, citometria de fluxo, transgênese animal, fluoróforos.

Novas leveduras para novos tempos

ANA PAULA L. DELAMARE^{*}; FERNANDO J. SCARIOT; RONALDO K. ROCHA; JOEL ANDRIOLI; SERGIO ECHEVERRIGRAY

Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS.

E-mail: ^{*}apldelam@ucs.br

Desde mediados do século XX, a utilização de cepas de leveduras comerciais isoladas de fermentações naturais ou melhoradas na Europa ou nos Estados Unidos tem sido a base da produção de bebidas e outros produtos fermentados ao redor do mundo. Baseada na uniformidade e consistência dos processos e produtos fermentados, estas cepas determinaram grandes avanços na qualidade dos produtos, mas por outro lado, levaram a grande padronização dos mesmos. Nas últimas décadas, cepas locais de *Saccharomyces* e a seleção de leveduras não-*Saccharomyces* tem ganho espaço na procura de tipicidade e novos produtos fermentados, entre os quais vinhos, hidroméis, destilados e cervejas. Com mais de dez anos de trabalhos no isolamento, seleção e melhoramento de leveduras, o grupo conta com um amplo acervo de leveduras *Saccharomyces* nativas, segregantes, híbridos e leveduras não-*Saccharomyces* selecionadas para a produção de bebidas fermentadas com características que reforçam as peculiaridades dos produtos e dos *terroirs*. Focados em processos de melhoramento convencional, desenvolvemos cepas *Saccharomyces* com características peculiares tais como: leveduras floculantes de grau 1 a 3, cepas com características aromáticas superiores, cepas com baixa adsorção de antocianinas, cepas com alta capacidade de competição, leveduras com baixa produção de etanol, entre outras. Além destas contamos com um importante conjunto de leveduras não-*Saccharomyces* (*Hanseniaspora* sp., *Torulaspora* sp., *Metschnikowia* sp., *Pichia* sp., etc.) com atividades enzimáticas que determinam a produção de aromas e compostos não voláteis que elevam a qualidade do produto final. As leveduras geradas no programa tem sido identificadas, caracterizadas geneticamente, e ensaios laboratoriais, microvinificações e avaliações semi-industriais associadas a análises físico-químicas, de compostos voláteis e sensoriais tem confirmado o seu potencial.

Palavras-chave: *Saccharomyces*, no-*Saccharomyces*, vinho, *terroir*.

Produção de bioetanol de mosto composto por diferentes combinações de biomassas residuais da bananicultura

BIANCA M. SANDRIN; NOELI SELLIN; OZAIR SOUZA*

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos, Universidade da Região de Joinville.

E-mail: *ozair.souza@univille.br

A banana é a segunda fruta mais produzida no Brasil e o estado catarinense aparece como o 4º maior produtor brasileiro. Os municípios do Litoral Norte Catarinense são responsáveis por 85% da produção estadual de bananas, com geração de mais de 2,8 milhões de toneladas de biomassa rejeitada anualmente, dentre a qual 11% são de polpa e cascas de banana e 75% de pseudocaule de bananeira. Quatro diferentes caldos de fermentação foram obtidos desses resíduos: caldo de polpa (Pol 1) com uso apenas de água para solubilização do resíduo, caldo Pol2 com seiva do pseudocaule em substituição à água, ambos contendo 55 g/L em massa seca (MS), caldo de cascas de banana (Cas) com MS = 42 g/L e caldo de pseudocaule de bananeira (PSe) com MS = 63 g/L. Apenas para a obtenção do caldo Pse foi utilizado o pré-tratamento físico de secagem e moagem, seguido por tratamento químico H_2SO_4 2%/120 °C/15 min com posterior sacarificação enzimática (Celulase NS50013 e Hemicelulase NS22002 da Novozymes®, nas respectivas concentrações de 6% m/MS e 2% m/MS). As reações enzimáticas foram conduzidas a 45 °C, durante 24 h, em pH 5,5 (uso de tampão acetato de sódio/ácido acético 0,1 M). A fermentação alcoólica do mosto composto conjunta dos caldos provenientes de cada um desses três resíduos, com concentração inicial de açúcares redutores (AR_0) da ordem de 120 g/L e 150 g/L foram conduzidas a 30°C e pH inicial de 4,5 em frascos de Erlenmeyer com volume de trabalho de 100ml e inóculo constituído de cultura pura de *Saccharomyces cerevisiae* UNIVILLE 9080 (linhagem não floculante) ou por *S. cerevisiae* ATCC 26603 (linhagem floculante). Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores de rendimento em etanol obtidos nos diferentes ensaios realizados ($Y_{P/AR} = 0,33 \pm 0,027$ g/g). Os maiores valores de acúmulo do produto ($P_f \approx 50$ g/L) foram obtidos com a utilização de maiores valores de AR_0 , independentemente do micro-organismo empregado. Ao fermentar o mosto com $AR_0 = 150$ g/L contendo o caldo Pol2 ao invés do caldo Pol1 por *S. cerevisiae* ATCC 26603 obteve-se o maior valor médio de produtividade volumétrica em etanol ($Q_p = 3,70 \pm 0,13$ g/L.h); valor este 32% maior do que a produtividade obtida com a cepa UNIVILLE 9080 na fermentação de mesmo tipo de mosto. Consequentemente, dentro das condições operacionais avaliadas, a linhagem ATCC 26603 foi indicada como a ideal para a fermentação.

Palavras-chave: biocombustível, bioetanol, etanol de segunda geração.

Produção e caracterização do biocompósito nanoquitosana/ óleo de buriti: um novo biomaterial para cicatrização de feridas

DR. LUCIANO PIGHINELLI*; JÚLIA BROQUÁ**; MSC. JADER FIGUEIREDO; ANDERSON ROCKENBACH;
CLAUDIO C. LISBOA; LUCAS MACHADO; PAMELA PERSSON; RENATA POSPICHIL

Universidade Luterana do Brasil - ULBRA, Canoas, RS.

E-mail: *pighinelli@gmail.com, **j.broqua@hotmail.com

A pele está constantemente exposta a fatores externos capazes de danificar sua estrutura e funções. As lesões têm alto impacto socioeconômico, se tornando uma problemática para a área da saúde e para a comunidade científica. Biopolímeros são amplamente estudados e utilizados na medicina por possuírem biodegradabilidade, atoxicidade e biocompatibilidade, geralmente provendo de fontes renováveis e processamento relativamente acessível. A quitosana é um polissacarídeo estrutural, mais importante derivado da quitina e o único biopolímero carregado positivamente na natureza. Seu caráter catiônico garante propriedades antioxidante, antimicrobiana e antifúngica. Na obtenção de nanopartículas de quitosana, a cristalinidade é reduzida acarretando em um material com alta reatividade e propriedades hemostática e mucoadesiva. A complexação da nanoquitosana e óleos essenciais naturais fornecem um biocompósito exclusivo com grande potencial para a medicina. O óleo de buriti é um óleo essencial amazônico com alta concentração de ácidos graxos, polifenóis e rico em vitaminas, além de atividades antioxidante e antimicrobiana. O objetivo deste trabalho é criar um biocompósito de nanoquitosana e óleo de buriti para obtenção de um biomaterial único, com grandes propriedades e de processamento industrialmente acessível. O processo é dividido em duas etapas, iniciando com a dissolução da quitosana em solução de ácido acético, até atingir pH 4.6. A segunda etapa compreende a coagulação e complexação, para obtenção da nanocristalinidade e do biocompósito. É realizada com adição solução NaOH sob condições controladas. Ao atingir pH 5,0 é acrescido o óleo de Buriti, prosseguindo com adições de solução NaOH até atingir pH 7,4 final. Na análise de FTIR-ATR foram identificados os grupos característicos da nanoquitosana e do óleo de Buriti, com o surgimento de um novo grupo amida, sugerindo a interação e complexação dos materiais. A análise de MEV apresentou aglomerados de nanoquitosana, sugerindo o encapsulamento do óleo, principal característica da nanoquitosana. O tamanho de partícula e o mostraram um leve aumento do tamanho de partícula do biocompósito comparado à nanoquitosana, corroborando com o encapsulamento. Os testes microbiológicos com *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* mostraram maior inibição no biocompósito comparado aos resultados de inibição dos materiais independentes. O biomaterial final não apresentou separação de fases, manteve a integridade química das espécies, intensificando as características esperadas e comprovando o potencial bioproduto para cicatrização de feridas.

Palavras-chave: biomaterials, nanochitosan, buriti oil, biocomposite, wound healing.

Sistema integrado para produção de biopigmentos por *R. toruloides* e *S. platensis* a partir de caldo de cana-de-açúcar

ESTEFFANY DE S. CANDEO^{1*}; EDUARDO B. S. DE SOUZA¹; ALESSANDRA C. N. SYDNEY²; EDUARDO B. SYDNEY^{2**}

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Toledo; ² Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Ponta Grossa.

E-mail: *esteffanycandeo@hotmail.com, **eduardosydney@utfpr.edu.br

A produção de biopigmentos tem sido assunto de intensa pesquisa devido ao seu potencial de aplicação na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica. A *Rhodosporidium toruloides* é uma levedura conhecida por acumular grandes quantidades de lipídeos e carotenóides simultaneamente, enquanto a cianobactéria *Spirulina platensis* produz um pigmento azul chamado ficocianina. O presente estudo objetiva o desenvolvimento de um sistema integrado de produção de biopigmentos a partir da fermentação de caldo de cana-de-açúcar por *R. toruloides* e posterior aproveitamento do efluente da fermentação para o cultivo de *S. platensis*. As análises foram conduzidas no laboratório de microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Toledo. A fermentação foi realizada em biorreator de 7,5L com controle de pH ($7,0 \pm 0,2$), temperatura (30°C) e oxigênio dissolvido (30%). Obteve-se biomassa de levedura por fermentações de 51 horas de caldo de cana-de-açúcar (60g.L⁻¹) suplementado com ureia (3,15g.L⁻¹), perfazendo relação C/N igual a 17. Foi produzida 1,45g.L⁻¹ de biomassa de levedura. Após centrifugação seguiu-se protocolo de hidrólise com HCl a pH 2,0 (121°C, 1 hora) seguida de extração líquido-líquido (1:1) utilizando Clorofórmio. Caracterizou-se o potencial antioxidante da fração lipídica extraída por meio das análises de Folin-Ciocalteu e radical de DPPH. Ao efluente líquido da fermentação foi adicionado água destilada (0, 10, 30, 50, 70 e 100% de efluente) e realizou-se o cultivo de *S. platensis* por 14 dias, sob regime de fotoperíodo de 12 horas a 3500 lux. A quantificação de ficocianina, ficoeritrina e aloficocianina foi realizada na biomassa úmida obtida. O biopigmento de *R. toruloides* apresentou concentração de compostos fenólicos totais de 7518µg.mL⁻¹ e IC50 de 2,08mg.mL⁻¹, confirmando interessante potencial antioxidante. Quanto a produção de biomassa de *S. platensis*, a multiplicação celular foi proporcional à suplementação, sendo o cultivo em efluente puro o mais produtivo (1,1g.L⁻¹). Os rendimentos de ficobiliproteínas extraídos resultaram em 15,47mg.g⁻¹ de ficocianina, 5,73mg.g⁻¹ de ficoeritrina e 8,46mg.g⁻¹ de aloficocianina. Este estudo demonstrou a possibilidade de integração da produção de carotenóides com grande ação antioxidante por *R. toruloides* e aproveitamento do efluente fermentativo para a produção de biomassa de *S. platensis* e produção de ficocianina.

Palavras-chave: pigmentos, antioxidante, ficocianina.

Transcriptomic analysis of differentially expressed genes associated with resinosis in slash pine (*Pinus elliotti* var. *elliottii*)

CAMILA F. O. JUNKES; ARTUR T. ARAÚJO JR.; FERNANDA DE COSTA; JANETTE P. FETT; ARTHUR G. FETT-NETO*

Plant Physiology Laboratory, Center for Biotechnology, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail: *fettнето@cbiot.ufrgs.br

Conifers have a complex and dynamic chemical defense machinery against biotic agents based on the synthesis of terpenic resin. Resin is widely used in the chemical and pharmaceutical industry, being one of the main non-wood forest products. Several efforts have been made to increase resin production in *Pinus elliotti* var. *elliottii* (slash pine), but the mechanisms regulating terpene biosynthesis in this species are still fragmentary. Here we present the transcriptome analysis of 16-year-old *P. elliottii* trees under resinosis in the field using high-throughput sequencing technology. Samples were harvested from the cambium of trees on days 5 and 15 after tapping with either chloroethylphosphonic acid (Ethrel) - known stimulant that induces the response to ethylene and is present in commercial resin stimulating pastes - or control without paste application. Comparison of the expression profile between Ethrel and the control showed 310 differentially expressed genes (DEGs) on day 5, and 190 on day 15 with a fold change greater than 1.4. A total of 210 and 105 DEGs were identified between 5 and 15 days within control and Ethrel treatment, respectively. Among the possibly interesting genes with different expression patterns in some of the combinations, we found ethylene responsive transcription factors, geranylgeranyl diphosphate synthase, diterpene synthase, cytochrome P450 and ABC transporters, all of which may play important roles in resin biosynthesis. In addition, several DEGs annotated as MYB transcription factors, hormone responsive genes (*e.g.* to auxin and jasmonate), and UDP-transferases may also be related to defense and trunk damage repair mechanisms. Six genes were validated by RT-qPCR analysis and their expression pattern correlates with the data obtained by RNAseq. This transcriptome data may aid in studies on the molecular basis of *P. elliottii* resinosis in adult forests and on the development of tools for identification of high-yielding trees and for breeding.

Keywords: *Pinus elliottii*, resin, adjuvant paste, transcriptome.

POSTER

2-(Quinolin-4-iloxi)acetamidas e 3,4-diidro-quinazolin-4-onas: simplificação molecular e atividade antimicobacteriana

ANA F. BORSOI^{*}; JOSIANE L. D. DA PAZ; KENIA PISSINATE; CRISTIANO V. BIZARRO; LUIZ A. BASSO; PABLO MACHADO^{**}

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose (INCT-TB), Centro de Pesquisa em Biologia Molecular e Funcional (CPBMF), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: ^{*}afborsoi@gmail.com, ^{**}pablo.machado@pucrs.br

A tuberculose humana (TB) é uma doença infecciosa causada principalmente pelo *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), e é responsável pela morte de milhares de pessoas anualmente. Recentemente, a atividade antimicobacteriana das 2-(quinolin-4-iloxi)acetamidas e 3,4-diidro-quinazolin-4-onas tem sido relatada na literatura. Os compostos se mostraram ativos contra cepas sensíveis e resistentes de Mtb e exibiram inibição seletiva do crescimento do bacilo. Apesar da excelente atividade *in vitro*, a classe de compostos das 2-(quinolin-4-iloxi)acetamidas mostrou moderada atividade *in vivo*, resultado que pode ser atribuído à instabilidade metabólica do grupo acetamida. Já a classe das 3,4-diidro-quinazolin-4-onas apresentaram baixa hidrossolubilidade dificultando os ensaios em modelos *in vivo* de tuberculose. Portanto, o presente trabalho tem como objetivo a simplificação molecular destas classes químicas visando o aumento da estabilidade metabólica e da hidrossolubilidade (**Figura 1 e 2**).

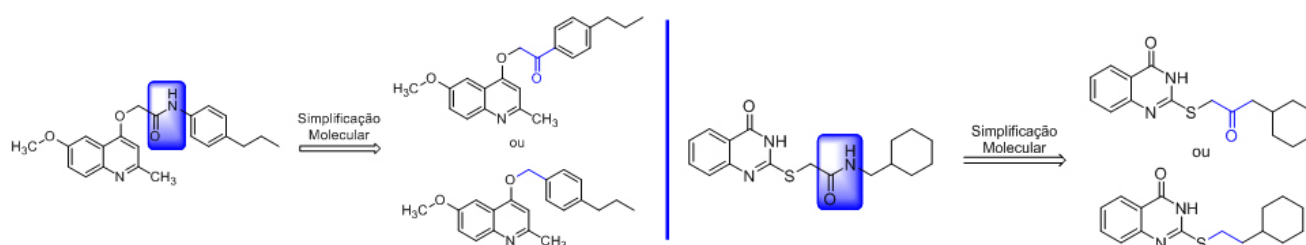


Figura 1. Simplificação Molecular da 2-(quinolin-4-iloxi)acetamidas. **Figura 2.** Simplificação Molecular da 3,4-diidro-quinazolin-4-onas.

Para a síntese das 2-(quinolin-4-iloxi)acetamidas foi utilizado o 6-metoxi-2-metilquinolin-4-ol e para a obtenção das 3,4-diidro-quinazolin-4-onas o 2-mercapto-4-(3H)-quinazolinona foi utilizado como reagente de partida. Ambas as reações foram realizadas com os agentes alquilantes na presença de carbonato de potássio (K_2CO_3) como base e dimetilformamida (DMF) como solvente. Os reagentes foram agitados durante 18 h a 25 °C conduzindo aos produtos com 25-86% de rendimento para a classe das quinolinas e 70-91% de rendimento para a classe das quinazolinonas. Os compostos sintetizados foram testados contra a cepa H37Rv de Mtb utilizando a isoniazida como controle positivo. O composto mais ativo da classe das 2-(quinolin-4-iloxi)acetamidas inibiu o crescimento de Mtb com MIC de 0,3 μM . Já os derivados da 3,4-diidro-quinazolin-4-onas apresentaram baixa atividade contra o bacilo. Nas mesmas condições de ensaio a isoniazida apresentou MIC de 1,46 μM .

Palavras-chave: *Mycobacterium tuberculosis*, síntese, simplificação molecular.

A ação proliferativa da lectina de *Bauhinia variegata* em células epiteliais humanas

AMANDA SIGAL SOARES; CAROLINE RIZZI; LUCIANO DA SILVA PINTO*

Universidade Federal de Pelotas – CDTec, Laboratório de Bioinformática e Proteômica.

E-mail: *ls_pinto@gmail.com

A *Bauhinia variegata* é uma planta comumente encontrada em diversos países e é tradicionalmente utilizada na medicina de culturas orientais, principalmente no tratamento de doenças e problemas de pele, e também, em doenças inflamatórias. A lectina (BVL) isolada da semente desta planta tem sido estudada para aplicação na inibição de fungos, bactérias, vírus e células tumorais. Além disso, nosso grupo tem estudado a ação desta lectina na proliferação de células e tecidos. Neste estudo demos foco para verificar a ação desta proteína na de linhagens celulares de fibroblastos humanos (HFF-1) e queratinócitos humanos (HaCaT), que são as principais células envolvidas no complexo processo de cicatrização epitelial. Para isso, foram feitos testes de citotoxicidade e viabilidade celular através do teste de MTT (3- (4,5-dimetiltiazol 2- il) -2,5 brometo difeniltetrazólico) e para as células de fibroblastos humanos foi feito também experimento com citometria de fluxo. Os resultados indicam que a lectina BvL induziu significativamente a proliferação das células HFF-1 e não foi tóxica para HaCaT, sendo que para o fibroblasto a concentração 0.1 mg/ml à 72 horas ($p \leq 0,01$) estimulou o crescimento significativamente. Já para os queratinócitos apenas foi observada a manutenção do seu crescimento, não havendo diferença significativa entre o controle e os tratamentos. As linhagens celulares aqui utilizadas são as principais células encontradas na piderme e derme, porém experimentos posteriores são necessários para confirmar atividade e identificação dos mecanismos de ação desta lectina.

Palavras-chave: *Bauhinia variegata*, BvL, *in vitro*, cultivo celular, cicatrização.

A lectina recombinante de *Bauhinia forficata* II (rBfL-II) induz a morte de células humanas de câncer de mama e colorretal *in vitro*

DIEGO S. AMARAL^{*}; GUILHERME CARDOSO; FREDERICO SCHMITT KREMER; ANA CLAUDIA O. FREITAS;
GUILHERME F. SOUSA; RAFAEL DANELON DOS SANTOS WOLOSKI; LUCIANO DA S. PINTO^{**}

Laboratório de Bioinformática e Proteômica, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro
de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

E-mail: ^{*}diegos.amaral@outlook.com, ^{**}dmpluc@gmail.com

As lectinas estão presentes em todos os tipos de organismos, desde humanos até vírus. Lectinas são proteínas de origem não-imune que reconhecem especificamente e reversivelmente carboidratos estando envolvidas em diversos processos biológicos, tais como sinalização celular e reconhecimento célula a célula. Estas proteínas tem sido utilizadas na inibição de fungos, bactérias, vírus e até mesmo de células tumorais. Nos últimos anos a lectina de *Bauhinia forficata* tem sido isolada e sua atividade testada visando a aplicação biotecnológica. Duas lectinas já foram identificadas para esta planta e estas possuem características semelhantes e são chamadas BfL e BfL-II. Com a finalidade de produzir a lectina de *B. forficata* recombinante o gene *bfl-II* foi amplificado, clonado e a proteína expressa em *E. coli*. Já a proteína nativa foi isolada de sementes conforme protocolos já estabelecidos. As proteínas foram testadas quanto a atividade antiproliferativa em células humanas de câncer de mama e colorretal *in vitro* (MCF-7 e HT-29, respectivamente). As lectinas foram testadas na forma ativa e inibida com seu açúcar ligante. Todos os tratamentos com 100 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ das lectinas nativa e recombinante, reduziram significativamente a proliferação de ambas as linhagens celulares tumorais ($P < 0,01$), quando comparadas ao controle sem tratamento. Para verificar se a ação da lectina tinha relação com o sítio de ligação ao carboidrato, os ensaios foram repetidos com a proteína inibida com galactose. A inibição da proliferação das células foi sentida já no início do tratamento, sendo de 82,5% pela rBfL e 93,6% pela nBfL para as células HT-29 de redução após 24h de tratamento. Portanto, a lectina BfL-II apresenta uma atividade antiproliferativa promissora, que pode ser ainda aplicada no desenvolvimento de novos tratamentos anti-câncer.

Palavras-chave: Bauhinia Lectins, MCF-7, HT-29, atividade antiproliferativa.

Análise antimicrobiana de *Samanea tubulosa*

ISABELA S. SIMPLICIO*; RÔMULO M. DE MELLO; ELDREY L. S. DOS SANTOS; MARIANA S. RODRIGUES;
GABRIELLI V. SAMPAIO; RONIEL L. DA SILVA; PAULA F. MONTANHER**; RICARDO SATO; CLEVERSON BUSO

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Coordenação de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Dois Vizinhos, PR.

E-mail: *isabela_spezia@hotmail.com, **paulamontanher@utfpr.edu.br

A *Samanea tubulosa*, também conhecida como Bordão de Velho, pertencente à família das *Fabaceae Mimosoideae* é uma planta arbórea nativa do Pantanal Matogrossense sendo pouco explorada pela indústria. O emprego de plantas medicinais é um dos meios terapêuticos muito bem aceitos ultimamente pela população. Perante a problemática referente a resistência microbiana, onde os mesmos estão cada vez mais desenvolvendo mecanismos de resistência, estudos vem sendo realizados com a finalidade de conceber novos agentes antimicrobianos que sejam mais efetivo contra a patógenos. Deste modo, o interesse em explorar compostos de plantas no qual possuem atividade associada aos utilizados tradicionalmente passou a crescer. Estes por sua vez dispõem de uma menor toxicidade, um menor impacto ambiental, podendo ser aplicado em produtos farmacêuticos, na industria alimentícia e cosméticos. Assim sendo, o objetivo do presente estudo foi realizar a análise antimicrobiana de extrato aquoso de *Samanea tubulosa*. A avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato foi obtida a partir de hidrodestilação por arraste a vapor. Para tal, duas cepas de bactérias foram avaliadas, *Aeromonas hydrophila* e *Edwardsiella tarda*. Os resultados sugerem que o extrato aquoso de *S. tubulosa* apresenta atividade antimicrobiana para as duas cepas avaliadas. A Concentração Inibitória Mínima foi maior para cepa *E. tarda* (CIM 6,25 µL/mL), apresentando valor similar aquele correspondente ao antibiótico ampicilina. Ainda, o extrato desta planta foi efetivo contra *A. hydrophila* (CIM 12,5 µL/mL), principalmente em relação a ampicilina, pois esta bactéria apresentou-se resistente à este antibiótico. Assim, o extrato aquoso da *S. tubulosa* apresenta um ótimo potencial de atividade microbiana sendo possível estudos mais aprofundados para utilização terapeutica.

Palavras-chave: Análise antimicrobiana, CIM, *Samanea tubulosa*.

Análise de pré-tratamento (ácido e básico) na casca de soja

CRISTIAN M. CANONICO^{1*}; GABRIELI C. ROSSONI²; JOÃO P. M. MIRANDA²; ANDRÉIA ANSCHAU^{3*}

¹ Acadêmico do Curso de Engenharia Florestal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR; ² Acadêmicos do Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR; ^{3*} Dr. Professora na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, PR, Orientadora.

E-mail: *cristianc@alunos.utfpr.edu.br

No Brasil, tem-se observado uma ascendente valorização nos subprodutos gerados pelas indústrias, sendo assim a busca por fontes renováveis de energia vem crescendo de maneira considerável nos últimos anos, isso devido à necessidade de uma matriz energética limpa e renovável. Sendo que a cada tonelada de soja que entra para ser processada, cerca de 2% é transformada no resíduo casca de soja. O objetivo do presente trabalho foi realizar uma análise do efeito dos pré-tratamentos (Ácido e Básico) na casca de soja. A casca de soja analisada foi fornecida pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos. O experimento foi conduzido no Laboratório de Bioprocessos e Biotecnologia. Inicialmente, o material foi moído em moinho de facas e posteriormente realizado peneiramento em peneiras granulométricas sequenciais, obtendo-se diferentes granulometrias da biomassa e sendo trabalhado com as granulometrias de 20 e 60 mesh. A influência do pré-tratamento físico-químico sobre a biomassa vegetal foi analisada em relação ao tratamento ácido e alcalino, para ambas as granulometrias selecionadas inicialmente e em proporções sólido:líquido de 1:10. No tratamento básico, aplicado sobre a fração sólida do pré-tratamentos utilizando o hidróxido de sódio 1 % e 2 % (v/v). No tratamento ácido foi utilizado ácido sulfúrico 1 % e 2 % (v/v), sendo possível analisar a conversão da hemicelulose pela hidrólise ácido e do processo de hidrólise em açúcares totais. No pré-tratamento alcalino, o melhor resultado obtido foi com a utilização dos respectivos solventes na concentração de 1 % em ambas as granulometrias, o que apresentou a maior taxa de conversão em açúcares. Já o pré-tratamento ácido, a utilização dos respectivos solventes na concentração de 2 % para ambas as granulometrias permitiu obter as melhores taxas de conversão de açúcares.

Palavras-chave: Biomassa, resíduo sólido, conversão, açúcares.

Análise dos fatores que pode influenciar no crescimento microbiano

CRISTIAN M. CANONICO^{1*}; CAMILA KRECZKIUSKI¹; CLAUDINEI DE FREITAS VIEIRA²; MARIA G. B. PAGNONCELLI³

¹ Acadêmicos do Curso de Engenharia Florestal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR; ² Mestrando em Biotecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR; ³ Dr. Professora na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos – PR, Orientadora.

E-mail: *cristianc@alunos.utfpr.edu.br

O crescimento microbiano é definido como um aumento no número de células, sendo que estas células microbianas possuem um tempo de vida limitado, no qual o crescimento dessas células depende de um grande número e de uma ampla variedade de tipos de reações químicas. As atividades dos micro-organismos são intensamente afetadas pelo estado químico e físico de seu ambiente. Vários fatores ambientais podem ser considerados. Contudo, quatro fatores essenciais controlam o crescimento de todos os micro-organismos: temperatura, pH, disponibilidade de água (pressão osmótica) e oxigênio. Para este experimento foram utilizados os micro-organismos constituintes de levedura *Saccharomyces cerevisiae* e uma bactéria *Lactobacillus plantarum*. Os fatores analisados na influência do crescimento desses micro-organismos neste experimento a Temperatura de 4°C, 37°C e 60°C, o Ph de 2, 4, 6, 8 e 10, e diferentes concentrações de Sais 2%, 4% e 6%. Através da análise do pH podemos inferir que bactéria *Lactobacillus plantarum* e o fungo *Saccharomyces cerevisiae* conseguiram se desenvolver dentro das variações de pH, a maioria das bactérias cresce melhor dentro de variações pequenas, perto da neutralidade, entre pH 6,5 e 7,5, mas isso é variável, no experimento a bactéria a qual submetida a uma maior variação de pH conseguiu crescer, apenas no pH 2 (ácido) e pH 10 (básico) não conseguiu se desenvolver. Com a análise de temperatura percebe-se que a *Saccharomyces cerevisiae* conseguiu crescer no meio em todas as temperaturas que o experimento foi submetido, no entanto a bactéria *Lactobacillus plantarum* em alta temperatura não se desenvolveu. Por fim na adição do cloreto de sódio (sal) tanto a *Lactobacillus plantarum* e a *Saccharomyces cerevisiae* cresceram, o que variou foi a quantidade que foi moderada, isso se deve pelo fato de que a adição de sais em um meio de cultura de bactérias e também de fungos tem como consequência o aumento da pressão osmótica, o qual resulta na remoção de água do interior da célula microbiana impedindo seu crescimento. Concluindo assim que através da análise das tabelas comparativas entre a bactéria *Lactobacillus plantarum* e o fungo *Saccharomyces cerevisiae*, os fungos apresentam maior resistência aos fatores físicos submetidos, pH, temperatura e pressão osmótica através da adição do cloreto de sódio, conseguindo se manter e resultar em um maior crescimento.

Palavras-chave: Micro-organismo, levedura, bactérias, desenvolvimento, resistência.

Antifungal activity evaluation of aqueous extract and purified saponin fractions obtained from *Quillaja brasiliensis* leaves

ANA CAMPOS DE CARVALHO^{1*}; ANNA CAROLINA ALVES YENDO¹; GABRIELA ZOTTIS CHITOLINA²; MARILENE HENNING VAINSTEIN²; ARTHUR GERMANO FETT-NETO¹

¹ Laboratory of Plant Physiology, Graduate Program in Cell and Molecular Biology (PPGBCM), Center for Biotechnology (CBIOT), UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil; ² Laboratory of Fungal Biology with Medical and Biotechnological Importance, PPGBCM, CBIOT, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail: *ana.carvalhoi@ufrgs.br

Quillaja brasiliensis (A. St.-Hil. Et Tul.) Mart. (Quillajaceae) is a native species from Southern Brazil popularly known as soap-tree, due to the persistent foaminess of its bark and leaf extracts. Leaf saponins show immunoadjuvant activity in experimental vaccine formulations, such as against bovine herpesvirus type 1 and type 5, poliovirus, bovine viral diarrhoea and rabies viruses. The accumulation of the immunoadjuvant saponin fraction QB-90 is induced by several stresses and stress signaling molecules in cultured leaf disks and seedlings, such as osmotic stress, salicylic acid, jasmonic acid, mechanical damage applied to leaves, ultrasound, UV-C radiation and increased light irradiance. Data suggest that these terpenes may be players in defense responses. An investigation of the potential inhibitory role of *Q. brasiliensis* saponins fractions QB-80 and QB-90, as well as the aqueous extract, on human pathogenic fungi *Cryptococcus neoformans grubi* H99, *C. neoformans neoformans* B3501 and *C. gattii* R265 was carried out. For this, two methodologies were used: measurement of the inhibition halo of impregnated disks with the treatments and counting of colonies grown after exposure of the fungus to media containing the treatment solutions. Saponin fractions QB-80 and QB-90 were evaluated at 1 and 2% (w/v), aqueous extract at 4 and 40% (w/v) and amphotericin B 0.2% (w/v) was used as positive control; negative control consisted of regular culture medium. *Q. brasiliensis* saponins fractions QB-80 and QB-90, as well as the aqueous extract, had no antifungal activity against *C. neoformans grubi* and *C. neoformans neoformans* in all concentrations tested. On the other hand, QB-80 and QB-90 at the concentration of 2% and aqueous extract 40% was effective in inhibiting the growth of *C. gattii* by at least 40% compared to the positive control. These results, together with previous studies of the group demonstrating the antifungal potential against phytopathogenic fungi, suggest a role for *Q. brasiliensis* saponins in plant defense against fungi and its potential use as new molecules with antifungal activity.

Keywords: antifungal, secondary metabolism, QB-90, triterpene, *Cryptococcus*.

Aplicação de leveduras imobilizadas no processo de fermentação alcoólica

GABRIELA KOVALESKI^{*}; SABRINA ÁVILA RODRIGUES^{**}

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, PR.

E-mail: ^{*}gabi95k@hotmail.com, ^{**}sabrinaavila@utfpr.edu.br

Imobilização é a técnica que aprisiona as células mantendo as suas atividades catalíticas, seu uso é crescente nos estudos e nas indústrias. A fermentação alcoólica utilizando leveduras imobilizadas comparada com o processo convencional (leveduras livres) apresenta várias vantagens, por exemplo a utilização de alta densidade celular, reutilização das células, eliminação de processos industriais como a filtração para a remoção das células, aumento da produção e redução do tempo e dos custos de produção. Logo, a comparação entre um método de imobilização e o método utilizando células livres é essencial para possíveis discussões. Esse trabalho tem objetivo de comparar o consumo da sacarose na fermentação alcoólica utilizando leveduras livres e leveduras imobilizadas para verificar possíveis vantagens da imobilização celular. Foram realizadas duas fermentações alcoólicas com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, uma com as leveduras livres no meio e outra com as leveduras imobilizadas em esferas de alginato de cálcio, as duas foram mantidas a 32°C por 90 horas. Verificou-se a cada 12 horas os sólidos solúveis do meio de fermentação, utilizando uma escala numérica de índice de refração (Brix) em um refratômetro. Um grau Brix corresponde a 1 grama de açúcar por 100 gramas de solução. Com os resultados obtidos, observou-se decréscimo do grau Brix maior na fermentação utilizando as leveduras imobilizadas do que as leveduras livres no meio, ou seja, ocorreu um maior consumo do substrato na fermentação utilizando as leveduras no gel de alginato de cálcio. Nas primeiras 24 horas, ocorreu pouco consumo de substrato nas duas fermentações. Após essas 24 horas, até quase 60 horas, houve um consumo rápido do substrato na fermentação com imobilização, 47,76%, já com as leveduras livres apenas 18,31%. Nas últimas 30 horas a fermentação com as leveduras livres teve um consumo maior do que as leveduras imobilizadas. Durante toda a fermentação com leveduras livre percebeu-se que o consumo de substrato foi mais constante e menor do que a fermentação com leveduras imobilizadas, onde ocorreu um rápido consumo no início e depois se manteve constante. Foi possível verificar a vantagem da utilização das leveduras imobilizadas, de possuir um tempo de fermentação menor e um aumento de produção, comparado com o método convencional, também a remoção das esferas de alginato de cálcio sem processos industriais.

Palavras-chave: *Sacharomyces cerevisiae*, alginato, cinética.

Atividade antibacteriana de quitosana e compostos fenólicos extraídos de microalga *Spirulina* sp. LEB 18

SUELEN G. KUNTZLER^{1*}; ANA CLAUDIA A. DE ALMEIDA¹; JORGE L. DA MAIA¹;
JORGE ALBERTO V. COSTA²; MICHELE G. DE MORAIS¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos, Laboratório de Microbiologia e Bioquímica;

² Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos, Laboratório de Engenharia Bioquímica.

E-mail: *suelen_goettems@hotmail.com

As microalgas são micro-organismos autotróficos que utilizam energia luminosa e nutrientes inorgânicos como dióxido de carbono, nitrogênio e fósforo para sintetizar compostos biologicamente ativos como lipídios, proteínas, carboidratos, pigmentos e compostos fenólicos. Estes compostos apresentam funções biológicas como antioxidantes, antimicrobiana, anti-inflamatório e antiviral. Os compostos fenólicos incorporados em nanofibras protege-os de perder sua ação antecipadamente e, apresenta potencial aplicação na indústria de alimentos na forma de embalagens. As nanofibras produzidas com quitosana e óxido de polietileno (PEO) tem potencial para aplicação como embalagem, pois a quitosana é um aminopolissacarídeo obtido a partir da reação de desacetilação da quitina. Este polímero apresenta propriedades como biodegradabilidade, biocompatibilidade, atoxicidade, quelação com metais e atividade antimicrobiana. Devido à estas propriedades, a quitosana e compostos fenólicos podem ser aplicados no desenvolvimento de nanofibras para produção de embalagens de alimentos. O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana das nanofibras de quitosana e compostos fenólicos. Os compostos fenólicos foram extraídos da biomassa da microalga *Spirulina* sp LEB 18 com metanol. A atividade antibacteriana dos compostos fenólicos e das nanofibras foi avaliada pelo método de difusão de discos e macrodiluição com contagem utilizando as bactérias *Escherichia coli* ATCC 25972 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Os compostos fenólicos e a quitosana apresentaram halos de inibição de $10,3 \pm 0,5$ e $12,5 \pm 3,5$ mm para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Os compostos fenólicos agiram inibindo 100% do crescimento do *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 na concentração de $200 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto que para inibição de crescimento de 100% da *Escherichia coli* ATCC 25972 foi possível com $500 \mu\text{g mL}^{-1}$. A microalga *Spirulina* sp. LEB 18 é potencial fonte de compostos fenólicos capazes de promover a inibição de bactérias patogênicas, e as nanofibras de quitosana e PEO adicionadas de compostos fenólicos microalgais contribuem para preservar a qualidade do alimento e estender a vida útil dos produtos.

Palavras-chave: biomassa, nanofibras, halos de inibição.

Atividade antiestafilocócica do triterpeno netzahualcoionol isolado das raízes de *Salacia crassifolia* (Mart. Ex. Schult.) G. Don

WALESKA S. CRUZ^{1*}; ARIANE C. FERRAZ²; WILLIAM G. LIMA³; THAÍS F. S. MORAES¹; JAQUELINA M. S. FERREIRA¹; JOSÉ C. DE MAGALHÃES¹

¹ Universidade Federal de São João del-Rei; ² Universidade Federal de Ouro Preto; ³ Universidade Federal de Minas Gerais.

E-mail: *waleskaob@gmail.com

Staphylococcus aureus é um coco Gram-positivo considerado o principal agente etiológico das infecções nosocomiais. Apesar de fazer parte da microbiota humana, essa bactéria pode adquirir fatores de patogenicidade e causar diversos tipos de infecções, que variam de leves (furúnculos e celulites) a graves (endocardites, pneumonia e síndrome do choque tóxico). A formação de biofilme é apontada como um dos principais promotores da virulência de *S. aureus*, uma vez que esta estrutura dificulta o tratamento das infecções e favorece uma colonização a longo prazo. Além disso, é cada vez mais comum a aquisição de determinantes de resistência nesse microrganismo, o que limita consideravelmente a eficácia de muitos antibacterianos e torna relevante a busca por novos fármacos. Nesse sentido, as plantas e seus metabólitos secundários têm ganhado cada vez mais destaque na busca de novos fármacos antimicrobianos, face ao seu grande potencial fitoterápico. Entre os principais metabólitos secundários isolados de plantas, destacam-se os triterpenos, compostos que desempenham importantes funções biológicas, como atividades antitumoral, antimicrobiana e antioxidante. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana do triterpeno netzahualcoionol isolado de raízes de *Salacia crassifolia*. Para tal, foram determinados: (i) a concentração inibitória mínima (CIM); (ii) a concentração bactericida mínima (CBM) (iii) o efeito do triterpeno no biofilme maduro; (iv) o efeito da combinação com antibióticos em uso clínico e (v) a citotoxicidade frente às células de mamífero, Vero. Em todos os testes foi empregado *S. aureus* ATCC 29213 e amoxicilina como controle positivo. Netzahualcoionol apresentou CIM de 25 µg/mL e 6,25 µg/mL contra *S. aureus* e uma cepa MRSA, respectivamente, apresentando efeito predominantemente bacteriostático, e efeito sinérgico em combinação com amoxicilina, penicilina e gentamicina. Em todas as concentrações testadas, o triterpeno foi capaz de romper o biofilme maduro, o que não foi observado para o tratamento com a penicilina. Quanto à citotoxicidade, o valor de CC₅₀ foi de 32,08 ± 12,77, com um índice de seletividade (IS) de 1,28. O triterpeno netzahualcoionol se apresenta como um potencial antimicrobiano, uma vez que apresentou efeito bacteriostático, além de ter sido capaz de romper o biofilme formado por *S. aureus* e ter apresentado considerável efeito sinérgico na combinação com outros antibióticos.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, atividade antibacteriana, netzahualcoionol, biofilme, sinergismo.

Atividade antioxidante e teor de compostos fenólicos em extrato de *Lasiodiplodia theobromae* MMPI

MARCELO L. K. MARCHIORO¹; GABRIELLE C. CALEGARI¹; VIDIANY A. Q. SANTOS¹; CANDIDA NISSOLA^{2**}; FERNANDA A. B. BERTAN²; ANDRÉIA ANSCHAU²; MÁRIO A. A. CUNHA^{1,2*}

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Via do Conhecimento, Km 1, Fraron, Pato Branco, PR, Brasil; ² Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Estrada para Boa Esperança, s/n - Zona Rural, Dois Vizinhos, PR, Brasil.

E-mail: *mcunha@utfpr.edu.br, **candida.nissola@gmail.com

Biomassas fúngicas são ricas em proteínas, carboidratos, fibras, macro e micronutrientes, além de compostos fenólicos com potencial antioxidante. A biomassa do fungo *L. theobromae* MMPI é um subproduto da produção biotecnológica da lasiodiplodana, uma (1→6)-β-D-glucana que apresenta diversas potencialidades biológicas, incluindo atividade imunomoduladora, antioxidante, antiproliferativa e hipocolesterolêmica. O presente trabalho buscou avaliar a capacidade antioxidante *in vitro* e o teor de compostos fenólicos presentes na biomassa micelial do ascomiceto *L. theobromae* MMPI. Foram avaliadas como soluções extratores: etanol (80%), metanol (80%) e água. A extração foi conduzida em frascos agitados (150 rpm) empregando a proporção 1:10 entre biomassa liofilizada e solução extratora, temperatura de 60 °C em banho ultrassônico por 1h. Os extratos foram obtidos após filtragem em papel filtro Whatman (nº 2) e a atividade antioxidante dos extratos foi avaliada pela capacidade de remoção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radical hidroxila (OH•), poder redutor do íon férrico (FRAP) e capacidade de remoção do radical DPPH. O teor de compostos fenólicos foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu utilizando uma curva padrão de ácido gálico. O extrato demonstrou ser rico em compostos fenólicos e apresentou potencial antioxidante. Extrato etanólico apresentou maior poder redutor (44,2 mM de Sulfato Ferroso equivalente/mL) seguido pelo extrato metanólico (36,4 mM de Sulfato Ferroso equivalente/mL). Menor potencial redutor foi verificado no extrato aquoso (15,6 mM Sulfato Ferroso equivalente/mL). O extrato etanólico foi capaz de remover 90,7% do radical DPPH e os extratos metanólicos e aquoso removeram 77,5% e 73,8%, respectivamente. Nenhum dos extratos demonstrou habilidade para a remoção de radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio. Em relação ao teor de compostos fenólicos, maiores valores foram verificados nos extratos metanólico (1006,8 µg ácido gálico equivalente/mL) e etanólico (916,0 µg ácido gálico equivalente/mL). A água apresentou menor capacidade de extração de fenólicos (198,6 µg ácido gálico equivalente/mL) indicando que a polaridade da solução extratora é um parâmetro importante na extração de compostos bioativos da biomassa micelial de *L. theobromae* MMPI.

Palavras-chave: bioatividade, biomassa micelial, ascomiceto, radicais livres.

Atividade antiparasitária *in vitro* de dois análogos de 2,8-bis(trifluorometil) quinolina sobre *Trichomonas vaginalis*

LUIZA D. MORON^{**}; MIRNA S. D. ALVES; RAQUEL N. DAS NEVES; BÁRBARA R. FONSECA; NICOLE R. SCHOLL; GABRIEL BRENNER; SIBELE BORSUK^{*}

Universidade Federal de Pelotas, campus Capão do Leão, Pelotas, RS.

E-mail: ^{*}sibeleborsuk@gmail.com, ^{**}luizadominguesmoron@gmail.com

As quinolinas são compostos heterocíclicos, aromáticos e nitrogenados que possuem atividades farmacológicas já caracterizadas, como antituberculose, antimalárica e antibacteriana. Com isso, a utilização de derivados quinolínicos pode ser uma estratégia eficiente para o tratamento de doenças infecciosas, como é o caso da tricomoníase, a infecção sexualmente transmissível (IST) não-viral mais frequente no mundo, causada pelo agente etiológico *Trichomonas vaginalis* (Tv). Metronidazol e tinidazol são fármacos da classe dos 5-nitroimidazóis e são os únicos disponíveis para o tratamento da tricomoníase. Entretanto, reações adversas e falhas no tratamento vêm sendo observadas devido à toxicidade desses fármacos, além disso, já foi reportado o aparecimento de isolados de Tv resistentes a essa classe de medicamentos, reforçando a necessidade de novas abordagens para o tratamento da tricomoníase. Sendo assim, esse trabalho teve como objetivo analisar a atividade tricomonocida de compostos análogos de 2,8-bis(trifluorometil) quinolina diamina (QDA) sobre *Trichomonas vaginalis*. Para isso, foram selecionados dois compostos, QDA-1 e QDA-2 diluídos em DMSO, para avaliação da sua atividade sobre o isolado de TV ATCC 30236, cultivado em meio tripticase-extrato de levedo-maltose (TYM), suplementado com 10% de soro bovino adulto e 5 mg/mL de estreptomicina. O ensaio da atividade antiparasitária foi realizado três vezes em triplicata, em placas de 96 cavidades onde os trofozoítos foram adicionados na densidade inicial de $2,6 \times 10^5$ trofozoítos/mL, e os compostos nas concentrações de 100, 200 e 300 μ M. Além disso, foram realizados três controles: negativo (apenas trofozoítos), positivo (100 μ M de Metronidazol) e controle de DMSO a 0,6%. As placas foram incubadas a 37°C em estufa de 5% CO₂, e a análise antiparasitária foi realizada após 24h de incubação, a partir da observação da motilidade, morfologia e contagem dos trofozoítos viáveis, em câmara de Neubauer, pelo teste de exclusão com corante Azul de Tripán (0,4%). Para as análises estatísticas (ANOVA de uma via e Teste de Tukey), foi utilizado o software GraphPad Prism 7.0. Como resultados, o composto QDA-1 mostrou atividade tricomonocida a 200 μ M com eliminação completa dos trofozoítos, enquanto o composto QDA-2 inibiu o crescimento dos trofozoítos em 26,8%, 48,3% e 76,9% a 100 μ M, 200 μ M e 300 μ M, respectivamente. Diante disso, o composto QDA-1 pode ser uma alternativa para o tratamento da tricomoníase, assim como derivados quinolínicos devem ser estudados como possíveis agentes antiparasitários para tricomoníase e diferentes parasitoses.

Palavras-chave: quinolinas, antiparasitário, tricomonocida.

Atividade citotóxica da própolis vermelha em linhagens celulares de Glioblastoma

SANDRA SARTORETTO PAVIN^{1*}; LARISSA MILANO DE SOUZA²; LISIANE B. MEIRA³;
MARIANA ROESCH ELY^{1**}; JOÃO ANTÔNIO PÊGAS HENRIQUES^{1***}

¹ Universidade de Caxias do Sul; ² Universidade Federal do Rio Grande do Sul; ³ University of Surrey, UK.

E-mail: *sandraspavin@gmail.com, **mrely@ucs.br, ***pegas.henriques@gmail.com

Os produtos naturais são muito utilizados em estudos para a descoberta de novas drogas, as quais são aplicadas como agentes inovadores na terapêutica de doenças de alta prevalência e morbidade, como o câncer. A própolis vermelha, encontrada no nordeste brasileiro, vem sendo estudada por apresentar características físico-químicas e biológicas diferenciais. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi investigar a atividade antitumoral da própolis vermelha oriundas de Alagoas em linhagens celulares de Glioblastoma. A atividade citotóxica do extrato em células de Glioblastoma de mamíferos foi avaliada através do ensaio de viabilidade celular (MTS). As células coletadas de paciente diagnosticado com glioblastoma (GBM) e linhagem T98G foram expostas a própolis ou a temozolomida (TMZ) por 5 dias de incubação com meio suplementado com soro fetal bovino. Para elucidar as diferenças moleculares entre as linhagens foram avaliadas a expressão gênica de O6-metilguanina-DNA metiltransferase (*MGMT*) e alquil adenina DNA glicosilase (*AAG*) por PCR em tempo real (qRT-PCR). Os resultados mostram que as células T98G (IC_{50} 4 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) são mais sensíveis ao tratamento com própolis se comparadas com as células GBM (IC_{50} 22 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Inversamente, as células GBM são mais sensíveis a temozolomida do que as T98G. A análise da expressão gênica mostrou que a linhagem T98G tem a expressão aumentada para *MGMT* e *AAG* em relação a linhagem GBM, estas proteínas estão envolvidas no reparo das lesões causadas pela TMZ e suas expressões elevada podem explicar uma maior resistência a droga. Nossos resultados sugerem que a utilização de extratos da própolis vermelha pode ser uma estratégia terapêutica interessante para sensibilizar as células resistentes ao tratamento com TMZ, sendo promissor em futuros tratamentos contra o câncer, contudo mais estudos são necessário para a aplicação dessa estratégia.

Palavras-chave: própolis vermelha, temozolomida, Glioblastoma.

Atividade tricomonicida *in vitro* de derivados de furanil *N*-acilhidrazonas sobre *Trichomonas vaginalis*

NICOLE R. SCHOLL^{**}; MIRNA S. D. ALVES; RAQUEL N. DAS NEVES; BÁRBARA R.
FONSECA; LUIZA D. MORON; GABRIEL BRENNER; SIBELE BORSUK^{*}

Universidade Federal de Pelotas, campus Capão do Leão - Pelotas, RS.

E-mail: ^{**}nicoleramosscholl@hotmail.com, ^{*}sibeleborsuk@gmail.com

A tricomoníase, causada pelo parasito *Trichomonas vaginalis* (Tv), é a infecção sexualmente transmissível (IST) não-viral mais recorrente no mundo, e pode gerar sintomas e complicações no trato urogenital do hospedeiro. O tratamento dessa infecção é realizado através de apenas uma classe de fármacos, os 5-nitroimidazóis, mais especificamente metronidazol (MTZ) e tinidazol (TNZ). Apesar da alta taxa de cura, este tratamento apresenta falhas, como reações alérgicas e reações adversas e há ainda relatos de isolados clínicos resistentes a este tratamento, comprovando assim a necessidade do desenvolvimento de novos fármacos com atividade anti-Tv. Neste contexto, o estudo da atividade anti-*T. vaginalis* de compostos sintéticos derivados de *N*-acilhidrazonas destaca-se, visto que essa classe já demonstrou propriedades antiparasitárias. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade tricomonicida *in vitro* de derivados de furanil *N*-acilhidrazonas (PFUR). Para isso, foram utilizados doze compostos, sendo eles: PFUR 4 (precursor), PFUR 4a, PFUR 4b, PFUR 4c, PFUR 4d, PFUR 4e, PFUR 4f, PFUR 4g, PFUR 4h, PFUR 4i, PFUR 4j e PFUR 4k. O isolado de *T. vaginalis* ATCC 30236, suscetível ao MTZ, foi cultivado em meio tripticase-extrato de levedo-maltose (TYM), suplementado com 10% de soro bovino adulto e estreptomicina (5 mg/mL), e incubado a 37°C em estufa de O₂. Para avaliar o potencial tricomonicida, foram utilizadas microplacas de 96 cavidades, nas quais os compostos previamente diluídos em DMSO, foram adicionados na concentração de 100 µM para o tratamento dos trofozoítos, adicionados a uma densidade inicial de 2,6 x 10⁵ trofozoítos/mL. Além disso, foram realizados três controles: negativo (somente trofozoítos), controle DMSO (0,6%) e positivo (100 µM de MTZ). As placas foram incubadas em estufa de 5% de CO₂ a 37° C por 24h e, posteriormente, a análise de morfologia, motilidade e viabilidade foi realizada através de contagens dos trofozoítos viáveis em câmara de Neubauer, utilizando o corante Azul de Tripán (0,4%). O experimento foi realizado três vezes em triplicata e as análises estatísticas foram realizadas por ANOVA de uma via e pós-teste de Tukey no software GraphPad Prism 7.0. Como resultados, PFUR 4a e 4b demonstraram atividade tricomonicida reduzindo a viabilidade dos trofozoítos em 100%, além destes PFUR 4d e 4f reduziram 26,3% e 43,1% da viabilidade, respectivamente, enquanto os outros compostos não levaram a reduções significativas. Diante do exposto, conclui-se que as moléculas derivadas de furanil *N*-acilhidrazonas são alternativas promissoras para o tratamento da tricomoníase, assim como para o estudo de outras atividades antiparasitárias.

Palavras-chave: tricomoníase, antiparasitário, *N*-acilhidrazonas.

Auxin influx transport and adventitious rooting in *Arabidopsis thaliana* etiolated seedlings

CIBELE TESSER DA COSTA¹; REMKO OFFRINGA²; ARTHUR GERMANO FETT-NETO^{1*}

¹ Center for Biotechnology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil; ² Department of Plant Developmental Genetics, Institute of Biology Leiden, Leiden University, The Netherlands.

E-mail: *fettneto@cbiot.ufrgs.br

Root system architecture modulation can include root growth and development of lateral roots (LRs) and adventitious roots (ARs). Whereas LR develop from the primary root, ARs are generally formed from above-ground organs. ARs may be stimulated by wounding or hormonal application. Auxins are recognized as major hormones involved in AR development. Auxins are produced in the shoot apex of the plant and need to be transported to the base. The transport of auxins occurs in two different modes: the non-polar transport, a rapid and non-directional pathway through the phloem or the polar auxin transport (PAT), a slower and directional pathway, which involves specific transporters. The polarity of intracellular auxin transport is mostly controlled by the PINFORMED (PIN) and ABC-B/MULTI-DRUG RESISTANT/P-GLYCOPROTEIN (ABCB/MDR/PGP) auxin efflux carriers, together with the AUXIN1/LIKE AUXIN1 (AUX1/LAX1) influx carriers. AUX/LAX is a small family composed of AUX1, LAX1, LAX2 and LAX3 genes in *A. thaliana*, related to amino acid permeases. To further understand the role of auxin influx transporters in rooting, we analyzed AR development in different mutants affected in auxin influx transporters, coupled with reporter gene constructs, in presence or absence of exogenous auxin. Loss of AUX1 function reduced the number of ARs in *A. thaliana* etiolated seedlings and this effect was not reversed by exogenous auxin supply. Single mutations in LAX1, LAX2 and LAX3 had no impact in AR, but different combinations of double, triple and quadruple mutations in AUX1, LAX1, LAX2 and LAX3 caused significant reductions in ARs. This effect, however, was reversed by auxin. Surprisingly, mutation in LAX3 did not negatively affect AR number and the visualization of LAX3pro:LAX3-YFP was stronger in the region of the stele. Therefore, an essential role was established for AUX1 in AR. Although LAX3 *per se* was not essential to the process, it seemed to act in conjunction with AUX1. (Support: Capes, CNPq and Fapergs).

Keywords: adventitious rooting, auxin influx transport, *Arabidopsis*, mutant, gene expression

Avaliação da aplicação de chorume oriundo de vermicompostagem no desenvolvimento de alface (*Lactuca sativa*)

DIANA TRÄSEL WEIZENMANN; DANIEL KUHN; ALUISIE PICOLOTTO; MARIANO RODRIGUES; MARIA CRISTINA DALLAZEN; LUCÉLIA HOEHNE*

Universidade do Vale do Taquari – Univates, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Lajeado, RS.

E-mail: *luceliah@univates.br

A alface (*Lactuca sativa*) é uma das hortaliças mais comercializadas no Brasil, devido ao costume do consumo de saladas. Seu cultivo pode ser feito no solo ou no sistema de hidroponia e podem ser adicionados fertilizantes, onde contêm teores de nitrogênio, fósforo e potássio. No entanto, a busca de biofertilizantes naturais é uma alternativa que vem ganhando espaço na agricultura mundial. Nesse sentido, a minhocultura é uma atividade altamente interessante para a produção de adubo orgânico de qualidade nas propriedades familiares e o chorume gerado, pode conter nutrientes que podem ser usados como fertilizantes em plantações de vegetais. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do uso de chorume diluído na qualidade do desenvolvimento da alface. Para isso, foi feita a caracterização física e química do solo e posterior plantio de alface, sendo divididos em grupo controle (sem chorume, contendo 10 plantas) e outro grupo teste (onde houve a aplicação do chorume, contendo 10 plantas). O chorume usado foi oriundo de minhocários feitos com a espécie *Eisenia andrei*, onde tinha esterco, restos de cascas de frutas, erva-mate e folhas secas. A vermicompostagem durou 2 meses e o chorume então, foi coletado e diluído a 10 % para a aplicação nas raízes das plantas. Os vegetais foram irrigados 2 vezes por dia, durante 31 dias. Ao final, as amostras foram coletadas, lavadas, separadas em parte aérea e raiz. E foram submetidas às seguintes análises como pH, umidade e cinzas. Como resultados, pode-se verificar que não houve diferença estatística em relação ao crescimento das plantas. Apenas houve aumento de Ca nas folhas das alfaces e de K no solo, quando irrigadas com 10% de chorume. Assim, pode-se concluir que a solução diluída de chorume não prejudicou o desenvolvimento das plantas. Testes posteriores ainda serão feitos aumentando a dosagem da porcentagem de chorume.

Palavras-chave: vermicomposto, chorume, vegetais, biofertilizante.

Avaliação da atividade de produtos antiobesidade em ratos induzidos à obesidade

CRISTIAN G. UCULMANA MORALES¹; MAYRA A. CALAGUA YAYA¹; JORGE L. TAY MAURTUA¹; HILDA V. POQUIOMA HERNÁNDEZ^{3,4**}; CARLOS N. VÍLCHEZ PERALES²; MARIA E. VILLANUEVA ESPINOZA^{2*}

¹ Programa de Maestría en nutrición, Escuela de posgrado, Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Peru; ² Departamento de nutrición, Facultad de zootecnia, Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Peru; ³ Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular, Facultad de zootecnia, Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima, Peru; ⁴ Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC), Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

E-mail: **vpoquiomah@gmail.com; *mvillanueva@lamolina.edu.pe

A obesidade é uma doença complexa que envolve a disfunção de muitos órgãos e sistemas. Seus efeitos negativos recaem sobre o perfil do tecido adiposo, fígado, pâncreas, trato gastrointestinal, microbiota, e até mesmo no nível de expressão de certos genes, como os genes PPAR. Nesta pesquisa foi avaliado o peso, bioquímica sanguínea (TG, HDL e de glucose), biometria, deposição de tecido adiposo e expressão do gene PPAR γ em tecido do fígado depois da administração de produtos antiobesogênicos em ratos Holtzman por um período de 3 meses previamente induzidas obesidade. Os produtos foram um nutracêutico (ácido linoleico conjugado, CLA), uma droga (fenofibrato, F), um ácido graxo monoinsaturado (azeite, AO) e um ácido graxo poli-insaturado (óleo de peixe, AP). O estudo foi dividido em dois estágios: E1, dieta obesogênica (DO) por 30 dias; E2, incorporação de seis tratamentos (T). T1: dieta padrão (DE); T2: DO; T3: DO + CLA; T4: DO + F; T5: DO + AO; T6: DO + AP. Para T3, T5 e T6, foram considerados 0,5 ml de óleo / kg PV rat / day; para T4, a dose de F foi de 100 mg / kg PV rat / dia. Ao final da fase experimental, os animais foram anestesiados e depois eutanasiados e as seguintes medidas foram realizadas: peso, consumo de ração, bioquímica sanguínea, biometria, gordura corporal e expressão do gene PPAR α (fígado). Os dados foram submetidos à análise de variância sob uma DCA com 6 tratamentos e 7 repetições usando Minitab. A média da diferença foi calculada utilizando o teste LSD. No final de E2 verificou-se que os tratamentos foram influenciados pelo ganho de peso, HDL, gordura inguinal e total e peso do fígado, mas não no peso final nem em variáveis biométricas. Encontramos uma tendência na expressão relativa de PPAR γ , onde T6 teve o maior valor e T1 teve o menor valor. Conclui-se que os produtos avaliados apresentam diferentes efeitos benéficos ao nível do metabolismo e expressão gênica relativa mesmo sob condições desfavoráveis de alimentos.

Palavras-chave: obesidade, perfil lipídico, PPAR.

Avaliação da contaminação fúngica em amendoins e doces derivados comercializados em Ponta Grossa – PR

MARIELY C. DOS SANTOS^{**}; KAUANNE K. MARTINS; EDUARDO B. SYDNEY^{*}

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR.

E-mail: ^{*}eduardosydney@utfpr.edu.br, ^{**}s.mariely.c@gmail.com

O amendoim (*Arachis hypogaea*) é uma importante cultura oleaginosa no Brasil, sendo reconhecida como uma grande fonte de óleos e proteínas, apresentando alto valor energético e nutricional. Em virtude de suas características nutricionais e do clima tropical favorável, nas diversas fases de manipulação (plantio, pós-colheita, processamento), armazenamento e comercialização do produto, este se torna um propício meio de cultura para o desenvolvimento fúngico. Esses fungos podem ser associados ao desenvolvimento de micotoxinas, caracterizando um grande problema para a saúde pública e para a qualidade do alimento. Partindo disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar a contaminação por fungos em amostras de amendoim cru em grãos e doces derivados (doce de amendoim tablete, paçoca e pé de moça) comercializados no município de Ponta Grossa – PR. Para a verificação do crescimento fúngico, realizou-se o plaqueamento direto em ágar ABD para o amendoim em grão, depois que sua superfície externa foi higienizada com cloro ativo e plaqueamento indireto para os doces derivados, para realização da contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) no mesmo ágar. As placas com amendoim em grão foram incubadas a 29°C e as placas com a diluição dos doces a 25°C em estufa bacteriológica. Em cinco dias de incubação observou-se o crescimento de fungos nas placas de amendoim em grão, dentre os quais, através de análise microscópica, foi possível identificar os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e algumas leveduras. Para as placas de doces, somente a diluição 10⁻¹ do pé de moça apresentou crescimento fúngico de *Penicillium*, demonstrando a presença de poucas Unidades Formadoras de Colônias. Os fungos identificados são relacionados à produção das micotoxinas aflatoxina e ocratoxina, levantando a importante questão sobre a presença dessas toxinas nos produtos. Torna-se necessária a realização de maiores análises para a verificação da presença da toxina onde os fungos foram encontrados, já que a presença destes não necessariamente indica a existência da toxina.

Palavras-chave: amendoim, *Aspergillus sp.*, contaminação fúngica, doces derivados de amendoim, *Penicillium sp.*

Avaliação da diversidade da microbiota oral de cães com diferentes estados de saúde bucal

LUCAS D. DOS REIS*; MAURICIO TAVARES; SERGIO ECHEVERRIGARAY; FERNANDO J. SCARIOT; ANA PAULA L. DELAMARE**

Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, Brasil.

E-mail: *dornellles.lucas@gmail.com, **apdelam@ucs.br

A doença periodontal é causada pelo progressivo aumento da placa bacteriana, gerando alterações na microbiota oral, e como consequência ocorre a gengivite e posteriormente a periodontite. Estas alterações se caracterizam pela hiperemia e retração gengival, exposição da furca e perda dentária. Devido a dor e desconforto, cães com doença periodontal podem desenvolver anorexia e adipsia, predispondo o animal a quadros de imunossupressão, enfermidades sistêmicas e complicações clínicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a microbiota de cães saudáveis, com gengivite e com periodontite a fim de determinar possíveis agentes etiológicos do processo. Para este trabalho, foram selecionados 30 cães, divididos em 3 grupos: saudáveis, com gengivite e com periodontite. A coleta do material para os grupos de animais saudáveis e com gengivite foi por meio de swab gengival, enquanto o grupo periodontite foi feito por sondagem do sulco gengival. O material foi inoculado em placas com ágar Colúmbia acrescido de 5% de sangue equino e incubados durante 48 h a 37°C, sendo que a seleção dos isolados foi feita pela diferença fenotípica das colônias. A identificação dos isolados foi realizada através do sequenciamento da região 16S rDNA empregando “primers” universais. As sequências obtidas foram comparadas com aquelas depositadas no GenBank. Foram identificadas um total de 187 bactérias pertencentes a 4 filos diferentes. No grupo saudável a maior parte dos isolados identificados pertenceram ao filo *Proteobacteria* (36,5%), seguido de *Firmicutes* (30,8%), *Actinobacteria* (25%) e *Bacteroidetes* (7,7%). O grupo gengivite apresentou mais isolados de *Proteobacteria* (66,7%), *Actinobacteria* (27,3%), *Firmicutes* (3%) e *Bacteroidetes* (3%). No grupo periodontite os filos com maior número de isolados foram *Proteobacteria* (59,4%), *Actinobacteria* (32%), *Firmicutes* (7,2%) e *Bacteroidetes* (1,4%). Dentre as bactérias isoladas e identificadas, os gêneros mais prevalentes foram *Neisseria spp.* (29,4%), *Corynebacterium spp.* (11,8%), *Actinomyces spp.* (11,8%) e *Staphylococcus spp.* (8,5%) e com outros 23 gêneros representando 38,5%. Em comparação os grupos gengivite e periodontite mostraram maior prevalência de *Proteobacteria* e reduzido número de *Firmicutes* em relação ao grupo saudável, indicando que bactérias deste filo, ou o desequilíbrio provocado pelo seu aumento, pode ser responsável pela progressão da doença periodontal em cães.

Palavras-chave: bactéria, gengivite, periodontite.

Avaliação da senescência de espécies vegetais aquáticas em efluente suinícola diluído

FÁBIO A. ANTONELLO*; CASI S. DOS SANTOS**; GRACIELLE JOHANN

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

E-mail: *fabioantonelo.33@gmail.com, **casi.ufma@gmail.com

A utilização de plantas aquáticas no tratamento de efluentes é uma alternativa viável em vários aspectos. Porém, não há uma metodologia padronizada para a determinação das espécies a serem utilizadas. Com isso, o objetivo do presente trabalho foi propor uma técnica de avaliação para a determinação das espécies a serem usadas no tratamento de efluentes, bem como avaliar organismos aptos a serem empregados no tratamento de águas residuárias oriundas da atividade suinícola. A fim de simular o tratamento convencional, foram realizadas diluições do efluente utilizando água destilada (10, 20, 50% de efluente bruto). Para cada diluição foram testadas 5 espécies de macrófitas aquáticas, *Eichhornia crassipes*, *Hedychium coronarium*, *Lemna minuta*, *Pistia stratiotes* e *Salvinia natans*. Cada um dos 30 biorreatores experimentais era constituído de recipiente cilíndrico de 1000 mL de capacidade, preenchido com 50% de volume de solução. Durante um período de 44 dias, em intervalo de dois dias, foram avaliadas a sobrevivência e a morte/senescência das plantas, sendo essa evidenciada pelo escurecimento total, seguido do início da decomposição dos organismos vegetais. Ao fim do experimento, notou-se que as plantas que não apresentaram senescência na maior diluição possível do efluente (50%), foram as macrófitas *Hedychium coronarium* e *Lemna minuta*, demonstrando maior potencial para tratamento de efluentes suinícolas. Entretanto, as demais espécies, *Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Salvinia natans*, apresentaram senescência com respectivamente, 12, 16 e 30 dias. Assim, desenvolveu-se e aplicou-se um teste de senescência para a determinação de espécies de plantas aquáticas a serem utilizadas no tratamento de efluente suinícola. As espécies *Hedychium coronarium* e *Lemna minuta* apresentaram maior sobrevivência sob as condições testadas. Portanto, o teste de senescência desenvolvido apresentou resultados satisfatórios, podendo ser aplicado para diferentes tipos de efluentes e macrófitas.

Palavras-chave: macrófitas aquáticas, águas residuárias, processos biológicos.

Avaliação de crescimento de leveduras do gênero *Saccharomyces* em efluente industrial

VITORIA H. GLENZEL*; LEITE, F. P. L.**; GUSTAVO W. FEHRENBACH; RENAN E. PIRAINÉ

Universidade Federal de Pelotas.

E-mail: *vitoria.glenzel@gmail.com, **fabio@leivasleite.com.br

Os resíduos originados de processos industriais denominados efluentes demandam tratamento e adequação prévia ao descarte, geralmente empregando técnicas químicas e/ou biológicas. Caso não tratados de forma correta causam eutrofização no local de descarte, favorecendo o crescimento de algumas espécies em detrimento de outras, causando um desequilíbrio no ecossistema local. A geração de resíduos nos processos industriais é fator determinante no custo de produção, o que torna necessário a busca por novas tecnologias de processos, como o uso de microrganismos na redução de nutrientes em excesso do efluente na etapa de tratamento terciário. As leveduras do gênero *Saccharomyces*, destacando *S. cerevisiae* e *S. boulardii*, são fungos unicelulares que possuem grande aplicação na indústria de fermentos para bebidas e alimentos, e também na produção de probióticos, respectivamente. Podem então ser destinadas tanto para o tratamento de efluentes como para outros fins, motivos pelos quais se optou utilizar esses organismos no presente trabalho. Teve-se como objetivo avaliar o cultivo das leveduras *S. cerevisiae* e *S. boulardii* em efluentes da produção de arroz parboilizado. O cultivo foi avaliado através da contagem de unidades formadoras de colônia por mL (UFC/mL), e como controle se utilizou o meio de cultura padrão *Yeast extract malt* (YM). Para avaliar crescimento celular, foram retiradas amostras dos cultivos em efluente nos tempos de 0, 24 e 48 horas. Os cultivos de *S. boulardii* em efluente, com um inóculo inicial de 10^4 UFC/mL, apresentaram um crescimento de $1,6 \cdot 10^7$ e $2 \cdot 10^7$ UFC/mL em 24 e 48 horas respectivamente. Enquanto que os cultivos de *S. cerevisiae* obtiveram um crescimento de $1 \cdot 10^7$ e de $8 \cdot 10^6$ UFC/mL em um intervalo de 24 e 48 horas, respectivamente. Como conclusão, observamos que é possível utilizar o efluente industrial da produção de arroz parboilizado como meio alternativo para o cultivo de *S. boulardii* e *S. cerevisiae* como uma alternativa que agrega valor a indústria e diminui os danos ambientais. Como perspectivas futuras almeja-se otimizar os processos de cultivo a fim de tornar os componentes mais acessíveis à levedura, com objetivo final de aumento da biomassa microbiana. Com isso, se torna possível a obtenção de produtos alternativos que podem ser utilizados na indústria.

Palavras-chave: bioprocesso, efluente, biotecnologia ambiental, *Saccharomyces*.

Avaliação de diferentes estratégias de funcionalização de nanopartículas de ouro para fins diagnósticos

CRISTINA C. BIANCO^{1**}; CAROLINE MENTI¹; ANDRÉ L. PINTO²; CILENE LABRE²; JOÃO A. P. HENRIQUES¹; MARIANA R. ELY^{*1}

¹ Universidade de Caxias do Sul; ² Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas.

E-mail: *mrely@ucs.br, **ccbianco@ucs.br

A multifuncionalidade das nanopartículas de ouro têm sido destacada em variadas áreas do conhecimento nas últimas décadas, entre elas a área de diagnósticos. Entretanto, uma vez que fatores como a dispersão e a estabilidade estão diretamente relacionados à estratégia de funcionalização empregada, o estudo de distintas abordagens é essencial. A estabilização das nanopartículas pode ser conduzida através de polímeros multifuncionais. O atrativo desta abordagem é a possibilidade de controlar a estabilidade das soluções coloidais conferindo as características e propriedades dos polímeros às nanopartículas modificadas. A enzima horseradish peroxidase (HRP) foi empregada como uma alternativa para aferir a eficiência das diferentes estratégias de funcionalização, uma vez que foram realizados testes que avaliaram a captura desta a partir das técnicas de espectroscopia na região do UV visível e microscopia eletrônica de varredura. Nanopartículas de ouro de 40 nm foram modificadas com soluções de polietileno glicol heterofuncional (HS-PEG-NH₂ 3500 e 7500 g/mol) durante 2 e 12h e submetidas a quatro diferentes estratégias de funcionalização (I e III com HS-PEG-NH₂ 3500, II e IV com HS-PEG-NH₂ 7500). Nas estratégias I e II as soluções poliméricas foram postas em contato com a solução de anticorpos anti-HRP por 1h, seguida pela adição das soluções coloidais. Enquanto que nas estratégias III e IV, as soluções coloidais foram postas em contato, primeiramente, com as soluções poliméricas e em seguida conjugadas aos anticorpos. A dispersão das partículas foi verificada por microscopia eletrônica de varredura, enquanto que a eficiência das estratégias foi determinada através da captura da enzima. Soluções com concentrações de 100 e 200 ng/mL de HRP foram adicionadas às soluções resultantes e mantidas em contato por 1h. Estas foram centrifugadas e a atividade catalítica das enzimas que estavam remanescentes nos sobrenadantes foi analisada por espectroscopia na região do UV visível em 405 nm por 1h. A eficácia das estratégias I e II quando comparadas às estratégias III e IV foi observada, uma vez que as primeiras apresentaram uma melhora de até 5 vezes quando estabilizadas durante 2h e de até 6 vezes para 12h. Sendo assim, foi possível aferir que as diferentes estratégias de funcionalização, assim como o tempo de estabilização influenciaram diretamente na captura da enzima.

Palavras-chave: nanopartículas de ouro, polietileno glicol, funcionalização, captura, horseradish peroxidase.

Avaliação do potencial teórico da produção de biogás e biometano a partir de resíduos agroindustriais

HEDER JOBBINS DE ARRUDA; EDUARDO SYDNEY BITTENCOURT; ALESSANDRA C. NOVAK SYDNEY*

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Ponta Grossa.

Email: *alessandrac@utfpr.edu.br

A busca por fontes de energia renováveis é uma das preocupações constantes na atualidade. O tratamento de despejos industriais, tanto para adequação a legislação vigente quanto pela responsabilidade sócio-ambiental, também vem ganhando força nos últimos anos. O processamento de alimentos gera uma ampla variedade de resíduos com alto teor de matéria orgânica, condição que torna difícil o tratamento nas estações convencionais nas indústrias. Muitas vezes o tratamento é feito por empresas especializadas contratadas para esse fim, o que gera despesa à indústria. A produção de energia renovável a partir destes subprodutos industriais por meio da produção de biogás e biometano via fermentação anaeróbia tem se tornado uma alternativa viável para a solução destas questões. A viabilidade da produção de biogás e biometano depende de vários fatores específicos do processo, como a localização da planta, sazonalidade condições operacionais, climáticas e regionais. Mesmo com essas especificidades, são encontradas no mundo todo, indicando a sua grande versatilidade. Este trabalho reúne informações de artigos das principais bases de dados sobre o potencial de produção de biogás e biometano a partir de substratos específicos e combinações de substratos, bem como suas características, a fim de estudar a viabilidade da aplicação da tecnologia em uma agroindústria no Paraná. Dentre os estudos analisados, em 70% utilizou-se resíduos do processamento de batatas como substrato, com uma média de $435,51 \text{ m}^3_{\text{biogás}}/\text{ton}_{\text{resíduo}}$. Nesses trabalhos, foram utilizados substratos combinados com outros resíduos de alimentos, resíduos de outras fermentações e dejetos de animais. O segundo subproduto mais utilizado foi beterraba, encontrado em 46% dos trabalhos e com uma média de produtividade de $401,35 \text{ m}^3_{\text{biogás}}/\text{ton}_{\text{resíduo}}$. Um pré-tratamento térmico da beterraba a 160°C elevou a produção de 358 a $631 \text{ m}^3_{\text{biogás}}/\text{ton}_{\text{resíduo}}$. Ainda entre as leguminosas, foram encontrados trabalhos com cenoura ($334,00 \text{ m}^3_{\text{biogás}}/\text{ton}_{\text{resíduo}}$), batata doce ($454,67 \text{ m}^3_{\text{biogás}}/\text{ton}_{\text{resíduo}}$), mandioca ($660 \text{ m}^3_{\text{biogás}}/\text{ton}_{\text{resíduo}}$), e repolho ($447,00 \text{ m}^3_{\text{biogás}}/\text{ton}_{\text{resíduo}}$). Entre os grãos, sobressai a utilização de milho em 30% dos artigos com uma média de $382,50 \text{ m}^3_{\text{biogás}}/\text{ton}_{\text{resíduo}}$, sendo maior a produção para hastes e palha do que para grãos, e a menor capacidade de conversão analisada foi de ervilha com $190 \text{ m}^3_{\text{biogás}}/\text{ton}_{\text{resíduo}}$. Os resultados mostram a viabilidade na produção combinada de diferentes tipos de substratos, a depender da produção mensal de resíduo. O biogás gerado pode ser convertido em energia térmica ou elétrica, a depender da capacidade de geração de substrato e necessidade de cada indústria.

Palavras-chave: biogás, biometano, energia renovável, fermentação anaeróbia.

Avaliação morfológica da degradação biológica de espumas de poliuretano em compostagem

PATRICIA F. MARINS^{1**}; JOÃO P. M. G. GODOI¹; DANIELLE C. DA SILVA¹; JULIANA R. KLOSS²; REINALDO Y. MORITA^{1*}

¹ Coordenação do Curso de Engenharia de Bioprocessos - Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Dois Vizinhos - Paraná; ² Departamento de Química e Biologia - Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Curitiba - Paraná.

E-mail: *rmorita@utfpr.edu.br, **pmarins@alunos.utfpr.edu.br

O descarte inadequado de espumas de poliuretano (EPU) gera um grande impacto ambiental devido sua persistência no ambiente. No entanto, as EPU a base de polioliol de origem vegetal tem se tornado uma alternativa viável na substituição dos de origem petroquímico, pois sabe-se que são mais susceptíveis à ação microbiológica. Na compostagem ocorre a ação de microrganismos na degradação biológica aeróbica de materiais biodegradáveis em matéria orgânica, água, dióxido de carbono e minerais. A fase termofílica durante a compostagem é caracterizada pela ação de fungos e bactérias, os quais atuam sobre a matéria orgânica degradando as estruturas químicas mais complexas. Sendo, a compostagem de EPU com cama aviária, que é uma mistura de excrementos de aves, penas, fragmentos de material sólido e orgânico utilizada na avicultura, é um estudo promissor quanto a destinação e degradação deste tipo de polímero. As EPU a base de polioliol de origem vegetal na forma rígida, semi-flexível e flexível foram fornecidas pela empresa Kehl e EPU a base de polioliol petroquímico foi sintetizada em laboratório. Estas foram colocadas no interior da pilha de compostagem contendo cama aviária, permanecendo sem o revolvimento por 45 dias em ambiente aberto. As amostras de EPU foram coletadas em triplicata a cada 15 dias. Foram previamente lavadas, secadas em estufa à 60°C até massa constante e caracterizadas por microscopia ótica e microscopia eletrônica de varredura. As EPU de origem vegetal possuem um diferencial em sua estrutura molecular, as ligações ésteres oriundas do óleo vegetal, permite de tal forma que os microrganismos degradadores de gordura o ataquem, quando em contato com o material. Por meio das análises de microscopia óptica foi possível observar deformações físicas e coloração mais escura nas espumas após 15 dias, como também, ainda mais relevante, foi encontrado o crescimento de colônias de microrganismos nas EPU de origem vegetal. Um fator considerável foi o aumento da umidade e na temperatura da pilha de compostagem já nos primeiros dias, comprovando a atividade microbiológica, dado que as estruturas dos microrganismos precisam obter água do meio, neste caso, da massa de compostagem. Outro, o nutriente necessário para o microrganismo precisa ser dissolvido em água, para a sua assimilação. A umidade média nesse período ficou próximo de 47%, o que foi capaz de favorecer o crescimento dos microrganismos capazes de realizar o processo de degradação, bem como o suficiente para que as reações químicas se desenvolvessem de forma satisfatória na compostagem.

Palavras-chave: poliuretano vegetal, termofílica, cama aviária.

Bioinformática como ferramenta de pesquisa para estudo da influência de eventos de clivagem enzimática na atividade de peptídeos bioativos

AMANDA NYLAND^{1*}; ANJA DULLIUS¹; ANA FÜHR¹; MÔNICA MACIEL¹; MÁRCIA GOETTERT²; CLÁUCIA V. DE SOUZA^{1**}

¹ Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade do Vale do Taquari - Univates, Lajeado, RS, Brazil; ² Laboratório de Cultura de Células, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade do Vale do Taquari - Univates, Lajeado, RS, Brazil.

E-mail: *amanda.nyland@universo.univates.br, **claucia@univates.br

O soro de queijo é uma fonte proteica amplamente disponível, pois é gerado como subproduto na fabricação de queijo. A hidrólise enzimática das proteínas do soro libera os peptídeos, fragmentos de sequência codificada que possuem propriedades benéficas, como por exemplo atividades antibacterianas e imunomoduladoras. Assim, a possibilidade de produção de tais peptídeos bioativos, torna o soro uma matéria-prima de valor agregado para a indústria alimentícia, como, por exemplo, na bioconservação de alimentos ou na produção de alimentos funcionais. Neste contexto, a bioinformática tem contribuído de forma decisiva no que se refere à identificação e concepção de peptídeos com atividade antimicrobiana, auxiliando nas atividades experimentais para o desenvolvimento de peptídeos bioativos a partir do soro de queijo. Assim, o uso de plataformas computacionais *online*, para prever o processo de hidrólise e a bioatividade destes peptídeos *In silico*, é recomendado pela literatura científica. Dentro deste contexto, a especificidade da enzima ainda é um desafio, pois a forma globular da proteína não permite que a enzima atue em todos os sítios de clivagem previstos na avaliação teórica, resultando numa fragmentação diferente da proteína e consequentemente em diferentes atividades bioativas dos hidrolisados. Portanto, o objetivo do presente trabalho é prever as atividades antimicrobianas de hidrolisados de soro de queijo por meio das plataformas computacionais iAMPpred e CAMPR3. Neste *screening* foi utilizada a β -lactoglobulina, principal proteína do soro de queijo, a fim de determinar as sequências de aminoácidos que apresentam atividade antimicrobiana e a relação entre esta atividade e o tamanho dos peptídeos. Os resultados obtidos mostram que nesta proteína há três regiões com atividade antibacteriana prevista, das quais a atividade da região C-terminal está relacionada com as sequências mais curtas de até 12 aminoácidos. As posições destas regiões foram localizadas em uma estrutura obtida da cristalografia, disponível no *Protein Data Bank* (PDB), para estimar o acesso da enzima à proteína durante o processo de hidrólise. Após os trabalhos *In silico*, os resultados obtidos serão validados em laboratório, a fim de determinar a aplicabilidade do método utilizado.

Palavras-chave: hidrólise, *in silico*, *screening* da bioatividade.

Bioinformatics as a research tool for enzyme selection in whey protein hydrolysate production containing antibacterial peptides

ANJA DULLIUS^{1*}; AMANDA E. NYLAND¹; ANA J. FÜHR¹; LUÍS F. S. M. TIMMERS¹;
MÁRCIA I. GOETTERT²; CLÁUCIA F. VOLKEN DE SOUZA^{1**}

¹ Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade do Vale do Taquari - UNIVATES, Lajeado, RS, Brazil; ² Laboratório de Cultura de Células, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade do Vale do Taquari - UNIVATES, Lajeado, RS, Brazil.

E-mail: *anja.dullius@universo.univates.br, **claucia@univates.br

Sweet whey is a widely available protein source, because it is commonly generated as a by-product within manufacturing of cheese. Enzymatic hydrolysis of these whey proteins liberates encrypted sequence fragments, possessing beneficial properties, as for instance antibacterial and immunomodulatory activities. Thus, the production of such bioactive peptides makes whey a high-value raw material for the food industry, e.g. for food biopreservation or production of functional foods. Within bioactive peptide research, regarding the conventional laboratory development process, such as production, identification and activity detection of bioactive peptides, is time consuming and expensive. Furthermore, a special challenge within product development is enzyme specificity, which leads to a different fragmentation of the protein, resulting in different bioactivities of the hydrolysates. Thus, the objective of this work is the use of computational online-available platforms as a bioinformatics research tool for antibacterial peptide prediction to select a suitable enzyme, which is able to release highly active peptide candidates of a protein sequence. As an applied method, a control list containing 88 experimental tested antibacterial peptides was used to test and select computational platforms, enabling prediction of these control peptides with an accuracy of 70.46%. Subsequently, the six principal whey protein sequences α -lactalbumin, β -lactoglobulin, κ -casein, serum albumin, lactotransferrin and lactoperoxidase were evaluated *in silico* for antibacterial peptide release utilizing 30 different enzymes. Therefore, a mathematical equation was found, which improves enzyme selection including parameters as the number of peptides with the prospected activity, frequency of the predicted antibacterial peptide and prediction values of *in silico* platforms (iAMPpred and CAMP_{R3}) using different algorithms, which were found in literature to have the best performance for antibacterial and antimicrobial activity prediction within this research field. Enzyme access was evaluated by localization of sequence regions, which are predicted to have antibacterial activity within the tertiary structure of the protein. For further outlook, the results will be tested in laboratory to give a conclusion about usability of the method.

Keywords: whey protein hydrolysis, antibacterial peptides, *in silico* prediction, enzyme selection.

Bioprospecção de fungos produtores de enzimas lignocelulósicas em depósitos de resíduos de madeira de *Pinus sp.*

MAYARA SCHEFFER^{1*}; JOÃO EDUARDO LEVANDOSKI¹; JOHNATA HENRIQUE RODRIGUES²; MÁRCIO SILVA^{1**}

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná; ² Universidade Estadual de Ponta Grossa.

E-mail: *mayscheffer@hotmail.com, **marcios@utfpr.edu.br

A inserção de microrganismos tais como fungos, bactérias e leveduras em variados processos industriais, como na sacarificação de açúcares fermentescíveis para fins energéticos e na biorremediação de efluentes da indústria têxtil, apresenta um papel de destaque no contexto biotecnológico dos últimos anos. A possibilidade de encontrar novas espécies no meio ambiente torna-se bastante atrativa já que o Brasil apresenta uma grande biodiversidade proporcionada pelo seu vasto território e suas condições climáticas. Através da bioprospecção é possível isolar microrganismos que promovam degradações altamente específicas e eficientes em diferentes substratos, dessa forma, torna-se fundamental conhecer as condições físicas e os nutrientes disponíveis na microbiota para que se tenha a oportunidade de selecionar os organismos com as melhores características de acordo com a aplicação pretendida. No presente trabalho, foram prospectados fungos em depósitos de resíduos de madeira de pinus, com o objetivo de isolar organismos que apresentassem resultados positivos para a secreção de enzimas celulasas. Os resíduos de madeira foram depositados no local há mais de 20 anos, promovendo uma microbiota com elevada carga de componentes da biomassa vegetal e, portanto, oferecendo as condições de nutrição necessárias para o surgimento de fungos capazes de secretar enzimas do complexo lignocelulolítico. Foram coletadas 14 amostras provenientes de diferentes pontos em profundidades que variavam do nível da superfície do solo até 1,70 m, num raio de aproximadamente 10 metros, no terreno da empresa Águia Florestal. A inoculação foi realizada em placas de Petri contendo meio de cultura seletivo (Solução de Manachini) suplementado com carboximetilcelulose (CMC) 0,5% (p/v) nas quais verificou-se a produção de celulasas através da revelação com vermelho do Congo 0,1% (p/v). Após o isolamento, foram determinados os índices enzimáticos (I.E.) e as taxas de crescimento das 8 colônias obtidas utilizando a técnica do “cup plate” resultando em 3 estirpes com I.E. > 2,0 ao final de 5 dias de incubação à 30°C, o que as caracteriza como microrganismos promissores na produção de enzimas celulolíticas. Já as maiores taxas de crescimento foram observadas nos isolados que obtiveram os menores índices enzimáticos, com 0,12 cm/dia. Por fim, a produção de enzimas do complexo ligninolítico também foi verificada utilizando meio seletivo contendo ácido tânico, resultando em 3 estirpes positivas para a secreção de fenoloxidasas.

Palavras-chave: bioprospecção, fungos, celulasas, fenoloxidasas.

Biotecnologia e ciências forenses: padronização de análise de DNA em vestígios tipo pena visando elucidação de crimes contra a fauna

LEANDRA FORMENTÃO^{**}; PRISCILA CASSOL; YARA COSTA NETTO MUNIZ; ANDREA RITA MARRERO^{*}

Laboratório de Polimorfismos Genéticos, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

E-mail: ^{*}andrea.marrero@ufsc.br, ^{**}leandraformentao@gmail.com

Crimes contra a fauna incluem maus tratos, captura, comércio ilegal e morte de animais silvestres. Estes são considerados grandes ameaças à conservação de espécies e a correta identificação destas auxilia na dosimetria de pena aplicada aos infratores. As aves são os animais que mais sofrem com captura e tráfico, sendo as penas vestígios importantes quando não são encontrados os indivíduos em situações de fiscalização em cativeiros. Análises de DNA em penas utilizam o cálcio e o “ponto de sangue” ou coágulo e protocolos de extração com fenol-clorofórmio ou acetato de amônio, além de solução de lise contendo ditiotretol (DTT). Objetivou-se, então, testar protocolos de extração sem uso de DTT, um utilizando acetato de amônio e o outro, cloreto de sódio, afim de reduzir custos e toxicidade do processo utilizando diferentes partes da pena como fonte de DNA. A extração foi realizada a partir do cálcio, ponto de sangue, ráque e barbas de penugem e de pena. Foram testadas quantidades diferentes de barba: 01, ~05 e ~15. Utilizaram-se penas de duas espécies de aves silvestres: *Procnias* sp. e *Ara ararauna*, passeriforme e psitacídeo, respectivamente, objetivando padronizar a análise em tamanhos de penas distintos. As amostras foram coletadas e cedidas pelo Zoológico de Pomerode/SC. O rendimento de DNA foi analisado por espectrofotometria. Utilizou-se um par de *primers* universal de aves para amplificação de fragmento do gene mitocondrial citocromo oxidase I (COI). O rendimento de DNA foi baixo em ambas as partes e quantidades de barbas das penas, sendo levemente maior em penas de psitacídeo, devido ao maior tamanho. A amplificação do fragmento de COI foi melhor na utilização do protocolo com acetato de amônio, obtendo resultados positivos para todas as amostras, enquanto que o protocolo utilizando cloreto de sódio apresentou bandas muito fracas ou insucesso na amplificação. Recomenda-se o uso de acetato de amônio para extração de penas, sem a necessidade de DTT, para identificação de espécies. Novos testes com o mesmo protocolo serão realizados a fim de determinar se a quantidade de DNA obtida é suficiente para testes forenses de parentesco e origem geográfica, além de outras análises referentes a investigações na área de genética de populações e conservação.

Palavras-chave: biologia molecular, comércio ilegal, identificação de espécies, DNA *barcode*.

Caracterização físico-química de casca de soja

LETÍCIA PINTO^{1*}; ROBERTA S. S. R. FRANÇA²; ANDRÉIA ANSCHAU^{1,2**}

¹ Coordenadoria de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Dois Vizinhos, Brasil; ² Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC), Universidade Tecnológica Federal do Paraná / Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV), Brasil.

E-mail: *letpin@alunos.utfpr.edu.br, **andreaanschau@utfpr.edu.br

A busca por adsorventes alternativos, de fácil obtenção e baixo custo são bastante estudados para tratamento de efluentes. O emprego de resíduos agrícolas como materiais adsorventes vem apresentando alta eficiência na remoção de corantes e outros compostos, tornando-se atrativo devido ao seu baixo custo e alta seletividade. Nesse contexto, a casca de soja (CS) é um subproduto que representa uma fração de 8% a 10% da massa total do grão no processamento da soja na indústria. O presente trabalho teve por objetivo a caracterização físico-química da CS nas granulometrias de 20, 35 e 60 mesh para posterior aplicação em estudos de adsorção. Nesse sentido, foram quantificados os teores de umidade, matéria mineral, proteína bruta, de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. A gordura total foi determinada através do método AOCS American Oil Chemists' Society. As análises foram feitas em duplicata para cada granulometria. Foram feitas ainda análises de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA). A FDN compreende a hemicelulose, celulose e lignina com alguma contaminação de pectina, proteína e cinzas. A FDA, por sua vez, corresponde a celulose, lignina, sílica e proteína servindo para quantificar a hemicelulose quando da sua diferença com a FDN. Além disso, sequencialmente da FDA também se obtém a lignina e celulose isoladamente pelo método do ácido sulfúrico. Todas as análises foram feitas em duplicata. Para a determinação do ponto de carga zero (PCZ), foi usada a metodologia denominada "experimento dos 11 pontos". O teor de cinzas obtido foi de 4,1%, com umidade inferior a 5%. A matéria mineral variou de 5,6% a 14,3% entre as diferentes granulometrias. O teor de proteína bruta, ficou em média 8,7% e extrato etéreo abaixo de 1%. O conteúdo de celulose variou de 30,1 a 37%, hemicelulose de 10,1 a 14,3% e lignina de 7,8 a 10,1% nas granulometrias estudadas. O cálculo do PCZ foi realizado pela média aritmética de pH final e inicial. O valor encontrado para o adsorvente CS foi de 8, valor no qual o adsorvente atua como tampão, mostrando que soluções acima deste ponto fornecerão carga superficial negativa, favorecendo a adsorção de cátions e abaixo do PCZ apresentarão carga superficial positiva, favorecendo a adsorção de ânions. A disponibilidade da CS estimulou o estudo da CS como um adsorvente alternativo e demonstrou ser atrativo e com boa capacidade de remoção de poluentes através dos resultados de caracterização.

Palavras-chave: adsorvente alternativo, biomassa, aproveitamento, adsorção.

Caracterização físico-química de soro lácteo

HELOISA C. RODRIGUES^{1**}; RAFAEL U. MARTTAO¹; IZABELLY Y. BONATTO¹; ANA C. ZANATA²; GERUSA A. FERREIRA²; CASI S. SANTOS²; ANDRÉIA ANSCHAU^{1,2*}

¹ Coordenadoria de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Dois Vizinhos, Brasil; ² Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC), Universidade Tecnológica Federal do Paraná / Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV), Brasil.

E-mail: *andreaanschau@utfpr.edu.br; **heloisarodrigues@alunos.utfpr.edu.br.

O soro do leite bovino é um subproduto do processo da fabricação de queijos. Aproximadamente metade da produção mundial de soro é lançada no meio ambiente sem qualquer tratamento. A sua alta Demanda Química de Oxigênio (DQO), associada ao seu alto valor nutricional conferido pela lactose e proteínas, tornam o soro um agente com alto potencial de poluição ambiental, o que evidencia a importância da sua reutilização ou tratamento. Dentre os coagulantes naturais existentes, a utilização de compostos derivados de taninos vegetais tem se mostrado eficiente no tratamento de efluentes. Tendo isso em vista objetivou-se avaliar as características físico-químicas do soro lácteo resultante da produção de queijo mussarela coletado em um laticínio do sudoeste do Paraná, visando posterior tratamento deste efluente através de processos de coagulação e floculação usando tanino como coagulante natural. O soro foi analisado físico-quimicamente (em triplicata) através de determinação de pH, acidez, turbidez, lactose, gordura, densidade, umidade e cinzas. O pH ficou em 6,19, acidez 0,13 g de ácido láctico/100 mL, turbidez em 893 NTU (unidade nefelométrica de turbidez), 50,1 g/L de lactose, densidade de 1,026 g/mL, 86% de umidade e 6% de cinzas. O teor de gordura foi igual a zero. Os valores obtidos estão dentro dos resultados obtidos na literatura e dentro dos parâmetros exigidos pela legislação. A caracterização do soro de queijo mussarela demonstra o alto índice de lactose lançado no meio ambiente, que pode ser aproveitado para várias formulações ou ser usado como substrato em processos fermentativos. Mais estudos devem ser realizados com o soro lácteo, analisando outros parâmetros importantes como proteína e DQO, para posterior definição dos parâmetros de tratamento por coagulação/floculação. A partir dos resultados obtidos, será avaliado o desempenho de coagulantes naturais como os taninos, em substituição de coagulantes químicos, no processo de coagulação/floculação no tratamento de efluentes de laticínios, visando a aplicação dos princípios da Química Verde, ou seja, reduzir ao máximo a utilização de substâncias tóxicas e/ou à produção de resíduos que necessitam de tratamento de custo elevado.

Palavras-chave: co-produto, queijo, tratamento de efluentes, características físico-químicas.

Caracterização físico-química e granulométrica de resíduo da indústria de celulose

IZABELLY Y. BONATTO^{1*}; ROBERTA S. S. S. R. FRANÇA²; ANDRÉIA ANSCHAU^{1,2**}

¹ Coordenadoria de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Dois Vizinhos, Brasil; ² Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC), Universidade Tecnológica Federal do Paraná / Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV), Brasil.

E-mail: *izabelly@alunos.utfpr.edu.br, **andreiaanschau@utfpr.edu.br

As indústrias de celulose geram grande quantidade de resíduo, resultando em torno de 48% do processo de produção da celulose. A crescente preocupação com o meio ambiente leva pesquisadores a buscar alternativas para mitigar os impactos ambientais e também agregar valor aos resíduos inicialmente descartados. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as características físico-químicas e granulométricas de resíduo de indústria de celulose. O método utilizado para a análise granulométrica de sedimentos foi o de peneiramento. A maior porcentagem de resíduos apresentou granulometria inferior a 170 mesh (48,2%) ou superior a 20 mesh (43 %). Os sólidos podem ser classificados de acordo com o sistema Tyler conforme a abertura das peneiras, assim, o sólido da amostra pode ser classificado como misto pois sua faixa de diâmetro varia de grosso fino. Foi calculado também o diâmetro médio de Sauter, que é uma medida mais precisa quando comparada à média ponderada utilizada para se encontrar o diâmetro médio da amostra. O valor encontrado foi de 0,00086 mm. A caracterização físico-química da amostra foi feita (em duplicata) usando a metodologia do Instituto Adolfo Lutz. A umidade ficou em 81,2%, com; 3,7% de cinzas; 0,9% de proteína e 19,5% de gordura. Com base nos resultados da caracterização é possível concluir que os resíduos em questão possuem características potenciais para utilização como matéria-prima alternativa visando o aproveitamento energético.

Palavras-chave: resíduo, indústria de celulose, matéria orgânica, sustentabilidade.

Comparação de métodos de determinação da concentração de biomassa celular

KATHLYN SCHAFRANSKI; SAMUEL R. VIEIRA^{**}; EDUARDO B. SYDNEY^{*}

Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Ponta Grossa - Departamento de Pós graduação em Biotecnologia, Ponta Grossa, PR, Brasil.

E-mail: ^{*}eduardosydney@utfpr.edu.br, ^{**}samuely@alunos.utfpr.edu.br

Os processos fermentativos caracterizam-se pela produção biológica de produtos a partir de células animais, vegetais ou de microrganismos. Durante este processo, a produção do produto de interesse está diretamente relacionada à quantidade de biomassa celular produzida, independentemente se a formação do bioproduto é associada, desassociada ou parcialmente associada ao crescimento. Assim, a determinação e acompanhamento do crescimento microbiano torna-se ferramenta essencial para o desenvolvimento e otimização dos processos fermentativos. O presente trabalho teve por objetivo comparar métodos de determinação da concentração de biomassa celular de cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella sp.* e *Staphylococcus aureus* por (I) peso seco, (II) densidade ótica, (III) unidade formadora de colônia (UFC) e (IV) análise de proteína celular, durante processo fermentativo (0, 24, 48, 72, 96, e 168 horas). A determinação de biomassa I mostrou-se com sensibilidade moderada em relação ao demais métodos utilizados, além de apresentar o inconveniente do aquecimento prolongado da amostra, tornando-o um processo oneroso. Na IV foi observada melhor exatidão e menor suscetibilidade a alguns tipos de interferentes, como absorvidade específica variável para diferentes proteínas. Já a análise III mostrou-se um método trabalhoso devido a necessidade de muita manipulação, o que aumenta a probabilidade da ocorrência de erros de diluição e/ou plaqueamento. O método II por sua vez mostrou-se de rápida e simples execução, contudo o método não permite distinguir entre células viáveis e células mortas. Dentro do contexto onde todas as análises foram realizadas, os métodos II e IV se mostraram relativamente rápidos em comparação com os demais, o que é crucial para a integração dos mesmos em uma indústria. Considerando uma relação entre a exatidão e o tempo gasto no processo, a IV seria a melhor escolha; enquanto se a raidez da análise for mais importante, o método II é o mais indicado. No que tange a análise em escala industrial, diversos fatores devem ser analisados antes da escolha de uma método para a determinação de biomassa, especialmente a identificação dos possíveis interferentes.

Palavras-chave: fermentação, peso seco, densidade óptica, UFC, proteína.

Construção de uma lectina sintética da família das Lectinas Relacionadas à Jacalina (JRL) e suas aplicações biotecnológicas

LAURA JUNQUEIRA DE CAMARGO^{1**}; RAFAEL CAGLIARI¹; TONY PICOLI²; GEFERSON FISHER²; LUCIANO DA SILVA PINTO^{1*}

¹ Laboratório de Bioinformática e Proteômica, Biotecnologia, CDTec, UFPel; ² Laboratório de Virologia e Imunologia, Faculdade de Veterinária, UFPel.

E-mail: *ls_pinto@hotmail.com, **laurajcamargo@gmail.com

Lectinas são proteínas bioativas que se ligam a carboidratos de forma reversível, estão presentes em vários organismos de diferentes complexidades e possuem diversas atividades biológicas. As lectinas pertencentes à família das “Lectinas Relacionadas à Jacalina (JRL)” apresentam atividade antiproliferativa, imunomoduladora e antiviral, já tendo sido testada em vírus da Hepatite C (HCV), Vírus do Mosaico do Tabaco (TMV), vírus da Influenza e Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Neste trabalho uma nova lectina JRL foi delineada *in silico* levando-se em conta a sequência de 10 lectinas percententes às JRL. O gene sintético foi expresso em *E.coli* e a lectina recombinante manteve conservada sua atividade, comprovada por ensaio de hemaglutinação, onde 0,625 mM de proteína foi ainda capaz de aglutinar eritrócitos de rato, caracterizando 1 unidade hemaglutinante (UHA). Além disso foi demonstrado efeito antiproliferativo sobre a linhagem tumoral A375 de melanoma, avaliada por ensaio de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium (MTT), com diferentes concentrações da lectina recombinante (100, 50 e 25 µg/ml), onde após 48 h a inibição do crescimento para todas as concentrações foi de 92-93% em relação ao controle. Por outro lado, a atividade antiviral e virucida testada contra dois vírus de grande importância veterinária responsáveis por grandes perdas econômicas na pecuária, Herpes vírus bovino tipo-1 (BoHV-1) e Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV), não foi encontrada como esperado, sugerindo uma possível perda de atividade devido a sua conformação estrutural.

Palavras-chave: Jacalina, lectina, melanoma, BoHV-1, BVDV.

Construção de uma proteína quimérica para o desenvolvimento de vacina recombinante contra a leptospirose

MARA A. C. MAIA^{1**}; NATASHA R. DE OLIVEIRA¹; ANA CAROLINA K. PEDRA¹; TIFFANY T. BUNDE¹; ANDRÉ A. GRASSMANN²; ALAN J. A. MCBRIDE¹; ODIR A. DELLAGOSTIN^{1*}

¹ Núcleo de Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas; ² Department of Medicine and Department of Molecular Biology and Biophysics - University of Connecticut Health, EUA.

E-mail: **maracamaia@hotmail.com, *odirad@gmail.com

A leptospirose é uma zoonose de alta morbidade e mortalidade em todo mundo. Estima-se que por ano ocorram 1 milhão de novos casos da doença, acarretando aproximadamente 60 mil mortes. As atuais vacinas para leptospirose são preparações de células inteiras inativadas e apresentam limitações. Estas formulações fornecem proteção apenas contra os sorovares presentes na sua composição, além de gerarem efeitos adversos e induzirem uma proteção de curta duração. A vacinologia reversa e estrutural torna possível o desenvolvimento de uma vacina com antígenos proteicos que contenham epítomos expostos na superfície da bactéria, conservados nas espécies patogênicas, potencialmente capaz de gerar uma resposta imune protetora para controlar a infecção. A utilização dessa inovadora metodologia por nosso grupo de pesquisas permitiu a identificação de proteínas barril- β transmembrana (β b-OMPs), que apresentam porções expostas na membrana externa da *Leptospira*. Dentre estas β b-OMPs, podemos destacar a classe das TolC, uma componente de bombas de efluxo, localizada na membrana externa da bactéria. A fim de avaliar a utilização de TolC como antígenos vacinais, foi construída uma quimera desenhada com epítomos de cinco proteínas de *Leptospira* spp., preditas por bioinformática como TolC. A sequência correspondente às proteínas maduras foram submetidas ao software I-TASSER para a geração de modelos para estrutura tridimensional (3D). Epítomos imunogênicos para o Complexo Principal de Histocompatibilidade de classe II (MHCII) e epítomos para reconhecimento por receptores de células B, foram buscados na sequência primária das proteínas utilizando ProPredII e BepiPred 2.0, respectivamente. As estruturas foram visualizadas através do software UCSF Chimera 1.12. O modelo 3D das cinco proteínas mostrou a conformação de β b-OMP tipo TolC, indicando que as proteínas selecionadas possam estar envolvidas no efluxo transmembrana de drogas ou toxinas, tais como metais pesados. Para a construção da proteína quimérica os epítomos expostos dominantes de cada uma das cinco proteínas foram fusionados sequencialmente. Em uma abordagem multi-epítopo, este estudo baseia-se em informações referentes a estrutura 3D de proteínas para construir uma proteína quimérica composta de fragmentos de β b-OMP. Essa quimera será avaliada como vacina recombinante experimental contra leptospirose.

Palavras-chave: leptospirose, TolC, vacinologia reversa.

Construção e avaliação de quimera recombinante composta por porções de proteínas de *Leptospira* spp. identificadas por abordagem estrutural

AMANDA S. HECKTHEUER^{1**}; EVERTON BETTIN¹; ANDRÉ GRASSMANN²; ALAN J. MCBRIDE¹ E ODIR A. DELLAGOSTIN^{1*}

¹ Núcleo de Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas; ² Department of Medicine and Department of Molecular Biology and Biophysics - University of Connecticut Health, EUA

E-mail: *odirad@gmail.com, **amandasheck@hotmail.com

A leptospirose, uma das zoonoses mais difundidas no mundo, é causada por bactérias didérmicas do gênero *Leptospira* spp.. A doença possui incidência global estimada em 1 milhão de casos ao ano, resultando em aproximadamente 60 mil mortes. As formulações vacinais atualmente disponíveis contra a doença são bacterinas, que conferem uma proteção limitada e que precisa ser administrada anualmente. Uma nova vacina universal contra a leptospirose deve incluir epítomos expostos na superfície, que são conservados entre as espécies patogênicas e capazes de gerar uma resposta imune neutralizante. Esse trabalho teve por objetivo a utilização de uma abordagem estrutural no desenvolvimento de uma quimera recombinante composta por regiões expostas e conservadas de três proteínas, receptores dependentes de TonB (TBDR) de *Leptospira* spp., assim como a avaliação em modelo animal da resposta imunoprotetora gerada pelo antígeno. Epítomos de células T e epítomos lineares de células B foram preditos utilizando as ferramentas NetMHCII 2.2 e BepiPred 1.0, respectivamente, e, logo após, mapeados nos modelos de estrutura tridimensional (3D) de cada proteína utilizando o programa UCSF Chimera 1.12. Dez segmentos contendo regiões potencialmente imunogênicas e conservadas foram identificados nas regiões expostas na superfície do patógeno, sendo utilizados para a construção da quimera. A sequência de DNA codificante para a molécula foi otimizada para expressão em *Escherichia coli*, sintetizada e clonada no vetor de expressão pAE, permitindo sua expressão heteróloga. Soros humanos convalescentes reconheceram a quimera recombinante em *Western blot*. Para a avaliação da capacidade imunoprotetora, hamsters receberam duas doses de 50µg da proteína associada ao adjuvante hidróxido de alumínio, por via intramuscular, em um intervalo de 14 dias. O desafio foi realizado utilizando 20xDL₅₀ de *L. interrogans* sorovar Copenhageni cepa Fiocruz L1-130, 14 dias após a segunda dose. Coletas de sangue foram realizadas nos dias 0 e 28 do experimento. Dos animais imunizados com a quimera recombinante, 44,4% (4/9) sobreviveram. Este número de sobreviventes não constitui uma proteção significativa ($p>0,05$). A análise da resposta imune humoral por ELISA indicou soroconversão para o antígeno ($p<0,001$). Novas construções recombinantes compostas por diferentes fragmentos expostos de proteínas de membrana externa estão sendo avaliadas em busca de uma vacina com capacidade de indução de uma imunidade protetora.

Palavras-chave: vacina, leptospirose, epítomos.

Construção *in silico* de uma sequência polipeptídica recombinante contra *Haemonchus contortus* pelo método de vacinologia reversa

PEDRO MACHADO MEDEIROS DE ALBUQUERQUE^{1**}; RODRIGO CASQUERO CUNHA¹; RENAN EUGÊNIO ARAUJO PIRAINÉ¹; FRANCISCO PEREIRA LOBO²; FÁBIO PEREIRA LEIVAS LEITE^{1*}

¹ Universidade Federal de Pelotas; ² Universidade Federal de Minas Gerais.

E-mail: *fabio@leivasleite.com.br, **albuquerque95pedro@gmail.com

Hemoncose é a principal parasitose de pequenos ruminantes, sendo responsável anualmente por prejuízos na faixa de bilhões de reais para os produtores. O seu agente etiológico é o helminto *Haemonchus contortus*, um parasito de reprodução rápida e difícil controle. Atualmente a metodologia mais utilizada para o seu controle é através de anti-helmínticos químicos sintéticos, mas também são empregados outros métodos, como o controle biológico e rotação de pastagem. Contudo, a resistência adquirida pelo parasito devido aos milhares de ovos que a fêmea é capaz de colocar diariamente faz com que seja necessária uma medida mais permanente de controle. O desenvolvimento de vacinas contra *H. contortus* é uma área de interesse de estudo já há algumas décadas, porém, mesmo que a proteção imunológica tenha sido adequada em algumas delas, o custo de produção a partir do parasita inativado ou atenuado demonstra-se elevado, tornando-se alternativas caras para sua aplicação na pecuária e até mesmo inviáveis economicamente. O uso de vacinas de subunidade recombinante surge como uma alternativa promissora, contudo, devido à complexidade das modificações pós traducionais e dos antígenos secundários relacionados com as proteínas nativas do parasito, não foi possível, até hoje, desenvolver uma vacina eficaz contra hemoncose utilizando essa abordagem. A bioinformática tornou possível o uso de ferramentas para encontrar epítomos imunogênicos por meio de análises *in silico*, possibilitando a identificação de novas moléculas como alvos vacinais. Foi feita a análise de vacinologia reversa do genoma de *H. contortus* pela ferramenta preditora de antígenos IMMUNORANK (LIGP – UFMG), na qual foram observadas as características referentes a: epítomos de célula B; epítomos de linfócitos T CD8+; epítomos de linfócitos T CD4+; proteínas intrinsecamente desordenadas (PID); repetições; regiões de baixa complexidade; peptídeo sinal; hélice transmembrana; ancoragem por GPI; similaridade com proteínas do hospedeiro; similaridade com proteínas de outros patógenos; similaridade com proteínas sintéticas; N-Glicosilação e O-Glicosilação. Após a escolha das regiões imunodominantes foi construída uma sequência denominada Hc1 que foi sintetizada e inserida no plasmídeo pAE de expressão em *Escherichia coli* para ser utilizada na produção de um antígeno vacinal contra *H. contortus*.

Palavras-chave: verminose, hemoncose, *Haemonchus contortus*, vacinologia reversa, antígeno.

Cultivo mixotrófico de *Spirulina* sp. com aplicação de campos magnéticos: potencial de obtenção de ficocianina

ALESSANDRO O. M. NOGUEIRA; JORGE A. V. COSTA; VÂNIA R. LIMA; LUCIELEN O. SANTOS*

Universidade Federal do Rio Grande – Escola de Química e Alimentos.

E-mail: *santoslucielen@gmail.com

O potencial biotecnológico do gênero *Spirulina* mostra-se de grande interesse devido à identificação de diversos compostos obtidos a partir de sua biomassa com interesse de exploração comercial. Estudos demonstraram que os campos magnéticos (CM) têm efeito sobre o metabolismo microalgal, além de possibilitar o aumento da produção de biomoléculas de interesse. Dentre estas biomoléculas, a ficocianina (FC), pigmento desta microalga, possui atividade anticarcinogênica, antitumoral, anti-inflamatório e antioxidante. Desta forma, o objetivo do trabalho foi extrair ficocianina da biomassa de *Spirulina* sp. LEB18 em meio mixotrófico com suplementação de melaço e aplicação de CM. Os cultivos foram realizados em frascos Erlenmeyer (2 L) com volume útil de 1,8 L, iluminância de $60 \mu\text{mol}_{\text{fótons}} \text{m}^{-2}/\text{s}$, a 30°C , com injeção de ar comprimido, fotoperíodo 12 h claro/escuro e aplicação de CM de 30 mT por 1 h/d. Os cultivos foram realizados por 15 dias, sendo realizados paralelamente ensaios controle sem aplicação de CM. A concentração de biomassa obtida foi $1,445 \pm 0,019 \text{ g/L}$, enquanto que no ensaio controle foi $0,971 \pm 0,073 \text{ g/L}$. Nos cultivos obteve-se acréscimo, quando comparado ao cultivo controle, nos valores da concentração máxima de biomassa (48,8%) e produtividade máxima (72,1%), bem como nos valores da composição centesimal da biomassa em relação a proteínas (15,5%), carboidratos (28,5%) e lipídios (27,9%). O teor de proteína na biomassa no cultivo foi $76,9 \pm 2,83\%$ e no ensaio controle $66,6 \pm 1,81\%$. O teor de FC extraída da biomassa foi 318,35 mg/g e 138,0 mg/g no cultivo controle, valores estes referentes a 172,5 mg/g e 50,25 mg/g de rendimento, respectivamente. Após etapa de purificação obteve-se FC com grau de pureza de 0,627, valor ligeiramente abaixo do grau de pureza utilizado para o setor alimentício de 0,7. Desta forma o cultivo mixotrófico com aplicação de CM para obtenção de ficocianina mostrou-se uma alternativa eficaz para aumentar a quantidade de biomassa produzida, bem como a quantidade de ficocianina produzida.

Palavras-chave: biomassa, fotobiorreator, biomoléculas.

Dados genômicos como indicadores de identidade e qualidade na gestão de coleções microbiológicas

MARIELY C. SANTOS; LUCIANO M. MACEDO*; MARIANA M. F. NASCIMENTO;
LUCIANA ALMEIDA; JULIANA V. M. BITTENCOURT

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa, Ponta Grossa - PR, Brasil.

E-mail: *medina.ppgebb@gmail.com

A função de uma coleção microbiológica é armazenar de maneira segura e eficiente materiais biológicos de origens diversas, permitindo que o acesso destes sejam possíveis quando necessário. O armazenamento de material biológico é essencial para a compreensão da vida no planeta, projeção de cenários futuros, entendimento de mudanças da biodiversidade e seus impactos, pesquisas relacionadas à saúde pública, agropecuária, entre outros setores. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi utilizar dados de sequências de DNA como forma de confirmar a identidade taxonômica dos depósitos da CMIB - Coleção Microbiológica de Interesse Biotecnológico da UTFPR/Ponta Grossa. De um total de 149 acessos que a CMIB contabilizava até Julho de 2018, cerca de 50 % não apresentavam uma identificação precisa até o nível de espécie através da caracterização morfológica convencional. Por este motivo foi realizada a caracterização genômica das amostras, através da análise de regiões ITS para fungos e leveduras, e regiões 16S para bactérias. Após o sequenciamento do DNA das amostras foi identificado a espécie de cerca de 90% das amostras, enquanto que outros 10% foram identificados somente até o nível de gênero, principalmente por se tratarem de novos acessos nunca antes caracterizados em nível de sequências de DNA. Esta caracterização molecular assegura não somente a identidade das amostras, mas também os Procedimentos Operacionais Padrões (POPs) mais indicados a serem aplicados para cada tipo de microrganismo. Este conjunto de informações asseguradas somente através do sequenciamento genômico permitem que o acesso destes microrganismos sejam facilitados para desempenhar processos biotecnológicos específicos. Adicionalmente, em estudos voltados para a bioprospecção de diversidade microbiológica com potencial para desempenhar processos biotecnológicos específicos, experimentos metagenômicos utilizando técnicas de sequenciamento de nova geração permitem identificar a existência de microrganismos de difícil cultivo e que naturalmente existem em quantidades reduzidas em amostras complexas, mas que quando cultivados em condições adequadas são capazes de serem isolados de maneira segura e eficiente. Desta forma, o uso de informações moleculares na gestão de uma coleção de culturas microbiológicas possibilita a exploração da biodiversidade quanto ao seu potencial biotecnológico com maior segurança, possibilitando que novos processos capazes de produzir produtos com valor agregado tragam desenvolvimento tecnológico e econômico para toda a sociedade, através do desenvolvimento de novas indústrias de base biotecnológica.

Palavras-chave: coleção microbiológica, ferramentas moleculares, sequenciamento, controle de qualidade, bioprospecção.

Degradação biológica de poliuretano a partir do *Aspergillus* spp. isolado de um polímero biodegradado

JOÃO P. M. G. GODOI^{**}; PATRICIA F. MARINS; CAMILA E. TENFEN; DANIELLE C. DA SILVA; REINALDO Y. MORITA^{*}

Coordenação do Curso de Engenharia de Bioprocessos - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, Paraná.

Email: ^{*}rmorita@utfpr.edu.br, ^{**}godoi_joao@hotmail.com

Na área da biotecnologia vem se destacando nos últimos anos a biocatálise através do uso de enzimas que, podem atuar na forma isolada ou associada a consórcios microbianos para catalisar a hidrólise de ligações éster em polímeros. Atualmente, de tal relevância científica, há inúmeros trabalhos reportando a degradação biotecnológica, que envolve a biodegradação enzimática e/ou biológica de macromoléculas de origem renovável. Algumas espumas de poliuretanos (EPU) a base de poliol de origem vegetal tem se tornado uma alternativa viável aos de origem petroquímico, pois são mais susceptíveis à ação microbiológica. Sendo assim, o estudo da degradação biológica de EPU a base de poliol de origem vegetal é promissor, pois pode ser uma forma de destinação aos resíduos gerados pós uso. O fungo *Aspergillus* spp. isolado de um polímero biodegradável submetido a biodegradação em solo simulado foi inoculado em EPU a base de poliol de origem vegetal na forma rígida, semi-flexível e flexível fornecidas pela empresa Kehl e na EPU a base de poliol petroquímico, sintetizada em laboratório. As amostras das espumas de 2,0x2,0 cm e 0,3 cm de espessura foram mantidas em placa de Petri contendo água estéril e o microrganismo na estufa à 27°C. Em 60 dias, as amostras foram caracterizadas morfológicamente por microscopia óptica e foi possível observar que na EPU a base de poliol petroquímico não houve a adsorção do fungo na superfície. No caso das EPU a base de poliol de origem vegetal, houve uma notável colonização do fungo na superfície do material, além de, apresentarem indícios de degradação através da presença de falhas na superfície, orifícios e abertura das células da espuma. Um fator importante é quanto maior o tempo de contato do microrganismo com o polímero, maior será a área degradada. No entanto, observou-se que em 60 dias já houve uma alteração física na espuma, o que indica que o fungo está secretando as enzimas sobre a superfície e degradando o polímero em estruturas químicas de tamanho menores. Portanto, os resultados obtidos são promissores para a degradação biológica das EPU, possibilitando e viabilizando rotas sócio-ambientais adequadas para uma destinação adequada para este tipo de polímero.

Palavras-chave: biodegração, poliuretano, *Aspergillus* spp.

Desenvolvimento de pão tipo bisnaga enriquecido com a cianobactéria *Spirulina máxima*

SANDY K. ROBERTO^{**}; SABRINA A. RODRIGUES; ALESSANDRA C. N. SYDNEY; EDUARDO B. SYDNEY^{*}

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Depto. Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Ponta Grossa, PR.

E-mail: ^{*}eduardosydney@utfpr.edu.br, ^{**}sandykukizm@gmail.com

A cianobactéria *Spirulina máxima* é uma fonte rica em proteínas, vitaminas, aminoácidos essenciais, minerais e ácidos graxos polinsaturados, motivo pelo qual é mundialmente utilizada na indústria farmacêutica e de alimentos, principalmente como suplemento alimentar. Considerando (i) os problemas mundiais de saúde relacionados à má alimentação e deficiência de proteínas e (ii) a qualidade nutricional da cianobactéria em questão, este trabalho objetivou adicionar biomassa de *Spirulina máxima* à farinha de pão, um alimento popular entre os brasileiros, promovendo aumento proteico do produto final. A biomassa desidratada e triturada de *S. máxima* foi adicionada em diferentes concentrações à farinha de trigo branca tipo I (0, 5 e 10%). Os pães assados em forno convencional e com tamanho padrão de 3 centímetros de altura, foram analisados em relação à atividade de água (A_w), firmeza (12 horas após o forneamento) e cores da casca e do miolo. As amostras padrão e com 5% de *S. máxima* apresentaram atividade de água (A_w) acima de 0,93 não havendo diferença significativa entre elas, enquanto a amostra com 10% teve seu A_w diminuído para 0,90, consequência do aumento do teor proteico (maior absorção de água pelas proteínas). Em relação à firmeza, não houve alteração significativa entre as amostras de pães, ficando entre 1900 e 1950 gramas. Com relação à cor dos pães, as amostras com a microalga apresentaram redução de luminosidade (L^*) e considerável aumento de tonalidade verde na casca e miolo dos pães, resultando em -2,45 e -3,26 no parâmetro (A^*) para amostras de 5 e 10% respectivamente.

Palavras-chave: enriquecimento proteico, proteína, alimentos, dieta.

Desenvolvimento de partículas de alginato para imobilização de *Chlorella vulgaris*

FELIPE DE A. SANTOS; EDUARDO B. SYDNEY; ALESSANDRA C. N. SYDNEY*

Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Email: *alessandrac@utfpr.edu.br

A microalga *Chlorella vulgaris* é amplamente estudada e comercializada. Os custos de produção de microalgas devem ser continuamente reduzidos, visando aumentar a sua competitividade. O objetivo do presente estudo foi analisar a viabilidade de crescimento da microalga *Chlorella vulgaris*, visando diminuir os custos com a recuperação das suas células, que poderiam ser simplesmente filtradas ao invés de centrifugadas (método convencional). O método do gotejamento é baseado no gotejamento de alginato de sódio sobre solução de cloreto de cálcio, formando alginato de cálcio, o que produz uma estrutura em rede tridimensional. A estabilidade, rigidez e esfericidade adequadas das partículas são condições fundamentais para o fluxo de nutrientes entre o meio e as células. Foram testadas diferentes alturas (3cm, 5cm e 7cm) de gotejamento de uma mistura contendo *Chlorella vulgaris* e alginato de sódio (50:50). Os resultados referem-se às obtidas em uma altura de 3 cm. O procedimento foi realizado em fluxo laminar com uma bomba peristáltica a 30 rpm, com saída da solução para gotejamento por ponteira de micropipeta de 200µL, inclinada 45° sobre a solução de cloreto de cálcio 125mM. Depois de encapsuladas, as partículas obtidas foram colocadas em frasco contendo meio de cultivo (MBM – Meio Bristol modificado), e outro frasco, contendo apenas células livres e meio de cultivo, foi utilizado como controle. Os cultivos foram mantidos a 25°C, em fotoperíodo 12h:12h durante 7 dias. Foi realizada uma comparação do número de células entre o teste e o controle por meio da contagem de células na câmara de Neubauer no microscópio óptico. Além disso, foi feita uma contagem do número de células no meio de cultura contendo partículas imobilizadas, para garantir que o diâmetro dos poros das partículas de alginato não permitisse a passagem de células para o meio de cultura. A dissolução das partículas de alginato para contagem de células foi feita com citrato de sódio 40mM, sob agitação em vórtex durante 10 minutos. O inóculo, tanto do branco quanto do experimento, foi de $2,00 \times 10^6$ células.mL⁻¹. Após 7 dias, o número de células no experimento controle foi de $3,03 \times 10^6$ células.mL⁻¹, enquanto que o número de células nas partículas imobilizadas foi $2,5 \times 10^7$ células.mL⁻¹. Não foram encontradas células de *Chlorella vulgaris* no cultivo contendo microalga imobilizada, o que comprova a eficácia da imobilização. A imobilização permitiu um crescimento significativo do número de células devido à eficiente troca de nutrientes entre o meio de cultura e as partículas.

Palavras-chave: imobilização, *Chlorella vulgaris*, bioatividade.

Desenvolvimento de um meio de cultura sintético alternativo para produção da microalga *Galdieria sulphuraria*

JÉSSICA D. F. ZIMERMANN*; ISABELLA K. CARVALHO; EDUARDO B. SYDNEY**

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Ponta Grossa.

E-mail: *je.zima@hotmail.com, **eduardosydney@utfpr.edu.br

As microalgas são seres unicelulares, eucarióticos, realizam fotossíntese e fixam CO_2 . Podem ser encontrados em diversos ecossistemas, crescendo em águas doces, salgadas e salobras. A *Galdieria sulphuraria*, pertencente à família das *Cyanidiales*, um grupo de algas vermelhas (*Rhodophyta*) é uma microalga acidófila/extremófila, podendo ser capaz de se desenvolver a pH 0,5-4 e temperaturas até 56 °C, utilizando metabolismo auto, mixo e heterotrófico. O *Allen's Medium* é o meio de cultura mais utilizado na literatura científica e indicado por bancos de microalgas (SAG, por exemplo) para o cultivo de *G. sulphuraria*. Porém nossa experiência em laboratório mostra que este é um meio que resulta em crescimento lento e reduzido. Para maximizar a produção de biomassa microalgal, a otimização dos processos de cultivo (tipo de sistema de crescimento [aberto ou fechado], luz, temperatura, pH e nutrientes) é passo fundamental. Neste contexto, o presente estudo objetivou verificar o desenvolvimento da *G. sulphuraria* em um meio de cultura alternativo. O novo meio de cultivo proposto neste trabalho, foi composto por $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1g/L); K_2HPO_4 (0,02g/L); $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,02g/L); extrato de levedura (0,5 g/L); extrato de malte (0,5 g/L). O pH do meio foi ajustado a 4 com H_3PO_4 . Além do novo meio de cultivo, também foi utilizado o meio *Allen's* para cultivo da microalga. Os cultivos foram mantidos em estufa B.O.D, durante 15 dias, à 45° C, com iluminação constante (3500 Lux). Para otimizar a absorção de CO_2 , os cultivos foram aerados através de pedras de aeração ligadas a bombas de aquário. Diariamente, foram retiradas alíquotas de 20 mL e centrifugadas, a 5000 rpm por 15 minutos em tubos previamente pesados, descartando-se o sobrenadante. A biomassa foi seca em estufa a 80 °C até peso constante. A contagem em câmara de Neubauer também foi realizada para a determinação da concentração de células. O maior crescimento da *G. sulphuraria*, em ambas análises realizadas, foi observado no novo meio proposto. A concentração máxima de células no meio *Allen's* e no meio novo ocorreu no 12º dia e no 14º, respectivamente. A produção de biomassa no novo meio, em células/L, foi aproximadamente dez vezes maior, enquanto que em g/L foi mais que o dobro, quando comparado ao meio *Allen's*. O meio proposto demonstrou ser uma alternativa aos meios tradicionais de cultivo de *G. sulphuraria*, uma vez que foi capaz de produzir maior quantidade de biomassa necessitando de menos reagentes e demandando menos trabalho na sua preparação.

Palavras-chave: meio de cultivo, biomassa microalgal, condições de cultivo.

Desenvolvimento e validação de método por RMN quantitativo para análise de agrotóxicos ilegais

LUANA C. CROCOLI (PG)*; SIDNEI MOURA (PQ)

Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e Sintéticos- Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil.

E-mail: *lccrocoli@ucs.br

Desde a década de 1950, o consumo de agroquímicos tem aumentado desordenadamente no Brasil. Com isso, o contrabando destes produtos também cresce de forma exponencial. Segundo o relatório da Polícia Federal do Brasil, em 2016 o aumento do contrabando de agrotóxicos foi de aproximadamente 188% em relação ao ano anterior. No entanto, os agrotóxicos contrabandeados apresentaram características desconhecidas do ponto de vista químico, físico e biológico. Por isso, a composição destes produtos deve ser investigada a fim de manter a eficiência agrônoma e a segurança dos usuários. O qRMN requer metodologias simples, rápida e não destrutiva que permite a qualificação e quantificação simultânea de diversas substâncias (alvo e não-alvo). Portanto, o objetivo do presente trabalho é desenvolver e validar um método quantitativo por RMN ^1H para análise de agroquímicos apreendidos pela Polícia Federal. Para isso, a validação foi realizada de acordo com a ABNT NBR 14029: 2016 e a Association of Official Analytical Chemists (AOAC) utilizando padrões de azoxistrobina, imidacloprido, λ -cialotrina, tebuconazol e tiametoxam, os quais foram determinados simultaneamente. Todas as análises foram realizadas em um equipamento de RMN Fourier300 Bruker®, usando CDCl_3 como solvente. Para verificar a viabilidade do método, foram testadas 30 amostras comerciais e 02 produtos apreendidos. Os resultados para os parâmetros de validação avaliados para os cinco compostos foram satisfatórios visto que os valores de linearidade foram superiores a 0,997, de precisão ficaram entre 1,019 e 2,525 e os ensaios de recuperação apresentaram resultados entre 97,79 e 101,75 %. Em relação as análises dos pesticidas comerciais, todos mostraram a quantidade de princípio ativo especificado pelo fabricante. No entanto, os produtos contrabandeados apresentaram diferença de 18 a 75% menor que a concentração especificada. Além disso, foi possível identificar a presença de clorantpril e ciproconazol (substâncias não-alvo) em diferentes amostras. Com isso se pode concluir que o método desenvolvido é aplicável para identificar e quantificar os princípios ativos azoxistrobina, imidacloprido, λ -cialotrina, tebuconazol e tiametoxam de pesticidas comerciais e ilegais, bem como substâncias presentes na amostra.

Palavras-chave: contrabando, pesticidas, qRMN, validação.

Determinação de glufosinato, glifosato e AMPA em óleo de soja por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa

MARILDA CHIARELLO (PG)^{1,2*}; ROBERTO ROMÉRO-GONZALES (PQ)¹; SIDNEI MOURA E SILVA (PQ)²

¹ Chemistry and Physics department, group of analytical chemical investigation of contaminants. Universidad of Almería – UAL/ Spain; ² Laboratory of Biotechnology of Natural and Synthetic Products (LBIOP), University of Caxias do Sul – UCS/Brazil.

E-mail: *mchiarello@ucs.br

O glifosato (N-fosfonometil-glicina) é um composto polar, que está entre os herbicidas não seletivos mais utilizados no campo agrícola, e é comumente aplicado para o controle de um amplo espectro de gramíneas e espécies de ervas daninhas de folhas largas. Porém, seu uso excessivo está preocupando o ser humano, sendo que resíduos deste herbicida e seu metabólito podem causar danos à saúde humana, inclusive mutações. Para estabelecer a toxicidade do glifosato, níveis máximos de resíduos (LMRs) são estabelecidos em todo o mundo por agências fiscalizadoras. Por exemplo, no Brasil a ANVISA estabelece LMR de $10 \mu\text{g g}^{-1}$, na União Européia, a tolerância do glifosato à soja é de $20 \mu\text{g g}^{-1}$, mas LMRs não foram estabelecidos para óleo de soja. Por serem moléculas difíceis de analisar devido sua polaridade e baixo peso molecular, o desafio foi desenvolver um método rápido, sem derivatização, para o monitoramento do glifosato, seu metabólito ácido aminometilfosfônico (AMPA) e resíduos de glufosinato em óleo de soja, utilizando o método rápido para pesticidas polares (QuPPE) para a extração dos compostos. A determinação analítica dos compostos alvo foi realizada por cromatografia líquida de ultra alto desempenho acoplada à espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS). Um método foi desenvolvido e validado de acordo com a norma SANTE, com análise cromatográfica utilizando uma coluna Hypercarb ($100 \times 2,1 \text{ mm id}$, tamanho de partícula de $5 \mu\text{m}$) da Thermo Scientific (Waltham, MA, EUA), fluxo de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$. A fase aquosa foi filtrada e posteriormente analisada por UHPLC-MS/MS. A detecção por espectrometria de massa foi realizada utilizando um triplo quadrupolo como detector equipado com uma fonte de ionização por *electrospray* (ESI), obtendo-se um intervalo linear de 5 a $500 \mu\text{g kg}^{-1}$ com $R^2 > 0,99$ e limites de quantificação de $5 \mu\text{g kg}^{-1}$ para AMPA e $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ para glifosato e recuperação de 80 a 112% para o óleo de soja, com RSD $< 20\%$. O método mostrou-se adequado para a análise de resíduos de herbicidas em óleo de soja, podendo ser utilizado em análises de rotina, utilizando baixo uso de solventes orgânicos. Nas amostras estudadas, não foram encontrados resíduos dos pesticidas em estudo, mas é importante monitorá-los, principalmente devido ao uso no cultivo da soja e ao alto consumo humano do óleo de soja.

Palavras-chave: glifosato, óleo de soja, UHPLC-MS/MS.

Determinação do EHL (equilíbrio hidrófilo-lipófilo) do óleo de abacate

LAÍSSA AP. P. DOS REIS; EDUARDO BITTENCOURT SYDNEY; ALESSANDRA C. N. SYDNEY*

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Ponta Grossa.

E-mail: *alessandrac@utfpr.edu.br

O abacate é um fruto muito versátil do qual é possível se obter diferentes produtos, sendo um deles o óleo. O óleo de abacate é um produto amplamente utilizado na área cosmética devido às suas propriedades de hidratação e regeneração da pele. Para o uso de qualquer óleo em emulsões cosméticas é preciso conhecer o caráter hidrófilo-lipofílico do mesmo (EHL – equilíbrio hidrófilo-lipófilo), pois esse valor é determinante para a escolha do tensoativo ou uma mistura de tensoativo e co-tensoativo. A determinação do EHL do óleo de abacate foi realizado pelo método descrito por Griffin (1949), que consiste em multiplicar as massas de Span 80 e Tween 80 utilizados no preparo da emulsão por seus respectivos EHL e em seguida dividir este valor pela soma das massas de tensoativos utilizados. A metodologia de preparação das emulsões possui forte influência na estabilidade das mesmas por isso foi analisado duas metodologias, a de inversão de fases e a preparação por simples mistura. Para analisar os sistemas emulsionados obtidos foi empregado o método turbidimétrico, que permite estimar se a emulsão possui partículas grandes ou pequenas, sendo assim possível identificar qual emulsão possui uma maior estabilidade. De acordo com esse método, os maiores valores de turbidez indicam menores partículas na emulsão. A partir da análise turbidimétrica foi determinado que o melhor método de preparar as emulsões se deu pela inversão de fases. A partir disso foram realizadas emulsões com o óleo de abacate utilizando óleo de três fabricantes diferentes (Mix das Essências, BioEssência e Duom). O EHL foi determinado a partir das emulsões que apresentaram maiores valor de turbidez (723, 935 e 726 NUT, respectivamente), ou seja, produziram emulsões mais estáveis. As emulsões que apresentaram esses valores de turbidez apresentaram valores de 7,89, 7,82 e 7,97, respectivamente. Com isso pode-se determinar que o EHL do óleo de abacate equivale a $(7,89 \pm 0,06)$.

Palavras-chave: óleo de abacate, EHL, emulsão, turbidez

Efeito da aplicação de biofertilizante em hortaliças: uma meta-análise

ANA C. ZANATA^{1**}; CALIANDRA BERNARDI¹; NÉDIA DE C. GHISI¹; ROSA M. S. MATSUBARA²; MARIA DA C. C. FERNANDES³; ANDREIA ANSCHAU^{1*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC), Universidade Tecnológica Federal do Paraná / Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV), Brasil; ² Laboratório de Biotecnologia Industrial (LBI), Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT), Brasil; ³ Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança (IPB), Portugal.

E-mail: *andreiaanschau@utfpr.edu.br, **anaczanata@hotmail.com

A grande demanda de alimentos para uma população em constante crescimento é uma das preocupações atuais. O desafio está na produção de produtos sustentáveis que visem a diminuição ou erradicação do uso de fertilizantes químicos. Como alternativa aos fertilizantes sintéticos, estão sendo desenvolvidos os biofertilizantes, pois melhoram a disponibilidade de nutrientes para o vegetal, promovem o crescimento da planta, são menos agressivos ao solo e ao meio ambiente além de apresentarem custo de produção menor. O objetivo deste trabalho foi a realização de uma meta-análise da literatura, identificando estudos que avaliaram os efeitos de biofertilizantes aplicados em culturas de hortaliças. Com base no banco de dados do Google Scholar tendo como base as palavras-chave “biofertilizante” E “alface” E “altura” OU “massa seca” OU “massa fresca”, foram selecionados nove artigos sobre o tema. Os parâmetros analisados foram: Altura, massa seca de folhas e massa fresca de folhas. A busca na literatura permitiu o acesso de 23 referências bibliográficas, porém somente nove foram selecionadas, visto que, as demais não preenchiam os critérios de validação para inclusão em uma meta-análise. Os estudos analisados foram realizados no Brasil entre os anos de 2004 e 2017 em sete estados brasileiros. Utilizou-se como ferramenta de análise o Software MetaWin, o qual forneceu através do Hedges'd o tamanho dos efeitos e a variância de cada estudo avaliado pelo modelo aleatório. Após análises elaborou-se para cada parâmetro para melhor visualização dos resultados os gráficos Forest plot e Funil plot, sendo que este último indica em uma análise subjetiva o viés de publicação e quanto menor for o número de amostras, menor a percepção de determinar um funil. A análise foi feita usando modelo aleatório, pois os modelos de efeito fixo apresentaram heterogeneidade elevada e probabilidade nula. Os dados apontaram que as plantas submetidas aos tratamentos de origem orgânica apresentaram maior desempenho, evidenciando assim a possibilidade de substituição de soluções químicas na produção de mudas de alface.

Palavras-chave: revisão sistemática, fertilizante orgânico, vegetais

Efeito da concentração de nitrogênio no cultivo autotrófico da microalga *Chlorella vulgaris*

CASI SANTOS DOS SANTOS^{1**}; ANNAMARIA DÓRIA S. VIDOTTI^{2*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC), Universidade Tecnológica Federal do Paraná—Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV), Brasil; ² Coordenação de Engenharia Química, Universidade Federal do Maranhão – Câmpus Bacanga (UFMA), Brasil.

E-mail: *annadoria@gmail.com, **casi.ufma@hotmail.com

As microalgas são uma classe de microrganismos produtores de uma complexa biomassa. Neste trabalho, avaliou-se o crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* em cultivo autotrófico em diferentes concentrações de nitrogênio. Foram ajustados modelos matemáticos (Logístico e Gompertz) na descrição do comportamento microalgal. Os experimentos foram realizados em três fotobiorreatores (C1, C2 e C3) com capacidades de 1L. Em cada fotobiorreator do tipo coluna de bolhas foi adicionado 700 mL de meio BBM modificado, com exceção da fonte de nitrato. Após, foram adicionados no ensaio C1 1/3 em volume do nitrato especificado para o meio BBM (0,23 ml), no ensaio C2 o volume do nitrato especificado (0,70 ml) e no ensaio C3 quatro vezes o volume de nitrato especificado (2,80 ml). A iluminação foi feita através de oito lâmpadas fluorescentes (11 W D.L.) e a temperatura foi mantida entre 25°C e 30°C. Os cultivos iniciaram com concentrações celulares em torno de 3×10^5 células/ml e foram cultivados durante 17 dias. Durante esse período, o crescimento da microalga foi verificado através de análises de concentração celular e de pH. O maior crescimento celular foi observado no ensaio C3, sendo $X_{max} = 1,45 \times 10^7$ cél/ml, seguido dos ensaios C2 e C1 que apresentaram resultados próximos $X_{max} = 1,09 \times 10^7$ cél/ml e $X_{max} = 1,08 \times 10^7$ cél/ml, respectivamente. Com base nos parâmetros cinéticos, observou-se que o ensaio C3 apresentou maiores valores de produtividade máxima $P_{max} = 4,63 \times 10^4$ cél/mlh e velocidade máxima específica de crescimento $\mu_{max} = 0,0183$ cél/h. O pH para os três ensaios se manteve em torno de 6 durante a fase lag e em torno de 10 na fase de estagnação. Os modelos matemáticos avaliados apresentaram capacidade razoável de descrição dos dados experimentais. Observou-se que o modelo Gompertz foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais, apresentando maior coeficiente de determinação (0,97) e erro padrão de predição próximo de zero. De acordo com os resultados, notou-se que a concentração de nitrogênio influencia significativamente no crescimento da microalga, sendo que o ensaio C3 apresentou maior crescimento celular dentro das condições avaliadas.

Palavras-chave: modelagem matemática, microalga, fotobiorreator, biomassa.

Efeitos da combinação de temozolomida e ditelureto de difenila em linhagens celulares de glioblastoma

JÉSSICA S. SOLDATELLI^{1**}; FERNANDA M. MUNARI¹; IURI M. DE OLIVEIRA²; MICHELLE DE S. LIMA²; ANDRÉ L. M. JUCHEM²; MARIANA R. ELY¹; JOÃO A. P. HENRIQUES^{1,2*}

¹ Laboratório de Genômico, Proteômica e Reparo de DNA, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, RS, Brazil; ² Departamento de Biofísica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail: *pegas.henriques@gmail.com, **jessicasoldatelli@gmail.com

Os glioblastomas multiformes são gliomas malignos caracterizados por baixa incidência, mas altas taxas de mortalidade. Apesar da responsividade inicial ao tratamento padrão realizado com o quimioterápico alquilante temozolomida (TMZ), poucos foram os avanços para o prognóstico dos pacientes nos últimos 10 anos. Isso deve-se ao fato desses tumores serem raramente passíveis de ressecção cirúrgica, apresentarem alta taxa de recorrência e resistência quimioterápica. Nesse cenário, a descoberta de novas substâncias que possam atuar com efeito aditivo ou sinérgico e aumentem a sensibilização de células tumorais ao tratamento, torna-se uma estratégia terapêutica no campo da oncologia. O ditelureto de difenila (DTDF) é um composto orgânico contendo telúrio que apresenta interessantes efeitos biológicos in vitro, como antioxidante, quimioprotetivo, citotóxico e antitumoral. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do DTDF e do quimioterápico TMZ, em regimes isolados e em associação. Para tal foram investigados seus efeitos citotóxicos, após exposição aguda e crônica, em culturas celulares de glioma não-resistente (M059J) e resistente à TMZ (GBM). No ensaio de viabilidade celular a TMZ apresentou citotoxicidade para as linhagens celulares testadas, com valor de IC50 maior na linhagem resistente do que quando comparado à linhagem não-resistente. Este dado foi confirmado pelo teste de duplicação cumulativa de população e, também, pela coloração com laranja de acridina, após o tratamento de 120 h, devido observar-se um aumento na frequência de células positivas para a formação de organelas vesiculares ácidas em ambas as linhagens, sendo predominantemente em células GBM. Além disso, foi observado que o tratamento associando DTDF e a TMZ apresentou uma maior citotoxicidade quando comparado aos tratamentos isolados, após 120 h de tratamento. Portanto, o DTDF sensibilizou as células ao tratamento com TMZ. Essa sensibilização ocorreu em níveis aproximados para ambas as linhagens, sendo os efeitos do DTDF independentes do perfil de resistência à TMZ. Em conjunto, os dados desse trabalho sugerem o uso do DTDF em associação à TMZ como uma estratégia para reduzir as doses de TMZ empregadas na clínica e diminuir efeitos colaterais aos pacientes em tratamento de glioma.

Palavras-chave: gliomas malignos, temozolomida, ditelureto de difenila, antitumoral.

Efeitos da rapamicina na expressão de genes associados ao envelhecimento ovariano

GIULIANA A. FERRONATO*; JOAO A. A. RINCÓN; DRIELE N. GARCIA; TATIANA D. SACCON; CARLOS C. DE BARROS; AUGUSTO SCHNEIDER**

Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

E-mail: *giulianaferronato@hotmail.com, **augustoschneider@gmail.com

A reserva ovariana é definida durante a vida fetal de mulheres e logo após o nascimento em camundongos, durante cada ciclo reprodutivo são recrutados oócitos que vão diminuindo o número de folículos presentes nos ovários. O envelhecimento ovariano está associado com o esgotamento desses folículos, e existe uma relação entre quantidade decrescente de folículos com diminuição da qualidade de oócitos. A rapamicina é um fármaco que vem sendo associado positivamente *in vitro* com melhorias na reprodução, por sua ação de regulação do metabolismo celular. O objetivo do estudo foi verificar o efeito da rapamicina na expressão de genes associados ao envelhecimento ovariano. Foram utilizados 24 camundongos fêmeas da linhagem C57BL/6 com idade de 30 dias, distribuídos em dois grupos de 12 animais cada. O grupo tratamento recebeu uma dose de rapamicina de 4mg/kg de peso corporal (InLab, São Luís, MA, Brasil), aplicada intraperitonealmente a cada dois dias durante 93 dias, e da mesma forma o grupo controle recebeu uma solução placebo feita apenas com os mesmos veículos da solução de rapamicina. Ao final do período de 93 dias, todos os animais foram eutanasiados e os ovários coletados. A extração de RNA do tecido ovariano, foi conduzida com reagente Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) associado a um sistema de purificação por coluna (Quiagen, Hilden, Alemanha), seguindo as recomendações do fabricante. As análises de expressão gênica foram realizadas conforme (Campos et al., *Theriogenology* 89:244-249, 2017). Foram analisados os genes *anti-Mullerian hormone (AMH)*, *forkhead box O3 (FOXO3a)* e *mechanistic target of rapamycin kinase (mTOR)*, utilizando como controle os genes endógenos *beta-2 microglobulin (B2M)* e *beta actin (ACTB)*. A análise estatística foi realizada no programa GraphPad Prism 5 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) utilizando o test t, sendo valores de $P < 0,05$ considerados significativos. A expressão relativa do gene *FOXO3a* foi maior no grupo tratamento ($P < 0,05$) do que no grupo controle, sugerindo um aumento na ativação de folículos primordiais, visto que esse gene participa nesse mecanismo, além de estar associado ao crescimento de oócitos. Entretanto, a expressão relativa dos genes *AMH* e *mTOR* não diferiu entre os grupos. Com isso, sugere-se que a rapamicina pode agir a nível ovariano, aumentando o recrutamento de oócitos, e consequentemente diminuindo sua quantidade no ovário.

Palavras-chave: insuficiência ovariana, AMH, FOXO3a, mTOR.

Efeitos dos diferentes métodos de microfabricação de transdutores magneto-elásticos na reprodutibilidade de um imunossensor

CAROLINE MENTI^{1**}; BRUNO SILVA²; YESLEI PAULINO DA SILVA¹; CRISTINA CHIES BIANCO¹; SANDRO TOMAZ MARTINS¹; CESAR AGUZZOLI¹; JOÃO ANTONIO PÊGAS HENRIQUES¹; RUBEM SOMMER²; MARIANA ROESCH ELY^{1*}

¹ Universidade de Caxias do Sul; ² Centro Brasileiro de Pesquisa em Física.

E-mail: *mrely@ucs.br; **caromenti@hotmail.com

Materiais magneto-elásticos apresentam várias vantagens na utilização como transdutores para desenvolvimento de dispositivos de biossensoriamento. Uma característica de especial interesse é a possibilidade de detecção *wireless* do sinal emitido utilizando bobinas de campo, sem a necessidade de contato do sistema de análise com a amostra. No entanto, a degradação do transdutor pelo contato com soluções utilizadas em técnicas biológicas dificulta sua utilização por interferir na reprodutibilidade e resposta do sinal. Neste estudo foram avaliadas a degradação, reprodutibilidade e eficiência de captura de antígenos para transdutores fabricados com a liga amorfa Metglas™ 2826 MB. Diferentes processos de microfabricação foram empregados na confecção dos sensores. As amostras passaram por diferentes etapas de polimento, nas quais avaliou-se sua influência sobre a condição topográfica e de rugosidade do sensor. Também foram avaliadas diferentes condições de deposição de ouro pela técnica de *sputtering*. As amostras foram expostas às soluções tampão utilizadas nas análises para avaliar a estabilidade do sinal captado pelo sensor e a evolução nas condições de superfície. Por fim, as diferentes amostras foram avaliadas por técnicas de quimioluminescência quanto a adsorção de anti-HRP na superfície do sensor e avaliação da variação de frequência na captura de antígenos utilizando nanopartículas comerciais funcionalizadas (Nanopartz®). A análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG) demonstrou diferentes distribuições de nanopartículas na superfície dos sensores. Os resultados demonstraram que os diferentes métodos de microfabricação influem no desempenho do sensor quanto a resistência à degradação e em seu desempenho de captura biológica. Esses resultados contribuem para padronização de técnicas de construção de imunossensores magneto-elásticos para a aplicação em biossensoriamento.

Palavras-chave: transdutores magneto-elásticos, imunossensores, microfabricação

Emprego da floculação para a separação de células CHO produtoras de um anticorpo monoclonal recombinante humanizado

RIMENYS J. CARVALHO^{*}; LEDA R. CASTILHO

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Laboratório de Engenharia de Cultivos Celulares (LECC), Programa de Engenharia Química, COPPE, Rio de Janeiro, RJ.

E-mail: ^{*}rjc@peq.coppe.ufrj.br

Agentes floculantes têm sido bastante utilizados na indústria química e de alimentos, assim como no tratamento de clarificação de água. Mais recentemente, estudos têm demonstrado a aplicação desses agentes na separação de células animais como alternativa de clarificação. Floculantes apresentam importantes vantagens, como baixo custo e simplicidade de processo. Por outro lado, alguns floculantes podem apresentar certa toxicidade, o que requer sua total remoção até o final do processo. Neste trabalho, os floculantes catiônicos quitosana e poli cloreto de dialildimetilamonio (PDADMAC) foram estudados e comparados para clarificação de suspensões de células CHO produtoras de um anticorpo monoclonal (mAb) humanizado, com o objetivo final de integração dos processos contínuos e semi-contínuos de produção e purificação, respectivamente. Células CHO-DP12 foram cultivadas por 4 dias em modo batelada em frascos agitados a 37°C e 185 rpm de agitação, utilizando o meio de cultivo quimicamente definido e livre de componentes de origem animal TC-LECC (Xell, Alemanha), chegando a 12 milhões de células/mL and 0,2 g/L de mAb. Após o cultivo, 20 mL de suspensão celular foram colocados em contato com os agentes floculantes em diferentes condições de pH e concentração de floculante por 30 min a 100 rpm e à temperatura ambiente. Em seguida, parou-se a agitação e a suspensão foi sedimentada por 90 min e a turbidez foi medida durante esse tempo a 600 nm. Quando quitosana foi utilizada, não foi observada floculação entre as concentrações de 0,01%-0,2% m/v (10 a 200 pg/CT - células totais). Para este agente floculante, a melhor condição foi 0,005% m/v (5 pg/CT) e pH 6,5, com 93,5% $\pm$ 1,1% de rendimento e 98,5% $\pm$ 1,3% de remoção de DNA. PDADMAC proporcionou recuperação acima de 90% na faixa de concentrações entre 22,5 e 90 pg/CT, com a concentração de 45 pg/CT resultando em 95,5% $\pm$ 2,4% de recuperação e 98,5% de remoção de DNA. Para ambos agentes, 30 min foram suficientes para sedimentar as células nas melhores condições definidas. Quitosana proporciona interação hidrofóbica além de iônica, o que pode explicar a melhor eficiência em concentração 9 vezes menor que PDADMAC. Além disso, diferentemente de PDADMAC, quitosana não apresenta citotoxicidade, o que pode ser interessante na produção de biofármacos.

Palavras-chave: anticorpo monoclonal, separação de células CHO, floculação.

Estabelecimento de protocolo de propagação de matrizes de *Quillaja brasiliensis* através de mini-estaquia

KELEN AROSSI^{1,2*}; ANNA CAROLINA ALVES YENDO¹; FERNANDA DE COSTA¹;
ARTHUR GERMANO FETT-NETO¹; GRACE GOSMANN²

¹ Laboratório de Fisiologia Vegetal, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil; ² Laboratório de Fitoquímica, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Faculdade de Farmácia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: *kelen.arossi@hotmail.com

Quillaja brasiliensis (A. St.-Hil. Et Tul.) Mart. (Quillajaceae) é uma árvore nativa do sul do Brasil, conhecida popularmente como pau-sabão, devido à capacidade espumógena persistente de suas cascas e folhas. Foi demonstrado que as frações de saponinas foliares de *Q. brasiliensis*, denominadas QB-80 e QB-90, apresentam pronunciada atividade adjuvante em vacinas experimentais contra *herpesvirus* bovino tipo 1 e tipo 5, poliovírus, vírus da diarreia viral bovina e vírus da raiva, de forma comparável ao adjuvante comercial Quil-A®, obtido de cascas de *Q. saponaria*. Apesar de os teores de saponinas encontrados nas folhas da espécie brasileira serem menores que os encontrados nas cascas da espécie chilena, a possibilidade de utilização de uma fonte renovável para extração do metabólito bioativo torna a espécie interessante, tanto ecológica quanto economicamente. O aumento dos teores de saponinas nas folhas pode ser conduzido a partir de procedimentos de elicitação por fatores de estresse pós-colheita, como exposição à radiação UV-C e à irradiância de luz vermelha em folhas destacadas de indivíduos jovens e adultos. A propagação de indivíduos elite superprodutores de saponinas por protocolo *in vitro* já estabelecido por jardins miniclonaes e mini-estaquia, assim como a otimização de rendimentos também já desenvolvida, podem contribuir para a equivalência ou até a superação dos teores de saponinas na árvore brasileira em comparação aos da espécie chilena. Para a avaliação da quantidade de mini-estacas emergentes das matrizes e seu enraizamento, foram selecionadas 38 plantas de 1 ano de idade, obtidas a partir de germinação *in vitro* de sementes. As mini-estacas obtidas foram mantidas em substrato (terra:vermiculita) com nutrição padrão em casa de vegetação. Foi obtida uma média de 5,78 mini-estacas por indivíduo, com taxa de enraizamento média de 87,15%. A utilização de minicepas e mini-estacas selecionadas cultivadas em jardins clonais é um fator crucial para obter uma coleta mais rápida e com teores basais mais elevados, assegurando a sustentabilidade do cultivo.

Palavras-chave: saponina, mini-estaquia, mini-cepa, enraizamento.

Esterificação de gordura animal via rota enzimática oriunda de subprodutos avícolas

ANA PAULA M. PERIN^{1**}; ISABELA S. SIMPLÍCIO¹; ANDRÉIA ANSCHAU²; PAULA F. MONTANHER²; MARIA GIOVANA B. PAGNONCELLI^{2*}

¹ Coordenadoria de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Dois Vizinhos, Brasil; ² Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Dois Vizinhos, Brasil.

E-mail: *giobinder@gmail.com, **anamiola54@gmail.com

A utilização de subprodutos de origem animal encontra-se no ápice de pesquisas desenvolvidas por instituições de ensino em conjunto com empresas, visando desenvolver tecnologia que minimizem impactos ambientais e assim ser capaz de produzir produtos vantajosos para a sociedade. A avicultura é responsável por gerar milhões de toneladas de tecido animal, entre esses resíduos se encontra a glândula pancreática, onde ocorre a excreção de enzimas no sistema digestório, na qual a lipase é a principal. As lipases são enzimas catalíticas responsáveis pela transformação de lipídios em ácidos graxos e glicerol. Esse processo recebe o nome de reação de esterificação. Através da reação de esterificação o presente trabalho visa produzir biodiesel via rota enzimática, além de otimizar a atividade lipolítica de subprodutos pancreáticos oriundos aves de abate. Para estabelecer os melhores valores de atividade enzimática e produção de ácido graxo, foi realizado o planejamento fatorial completo 2³, contendo três pontos centrais totalizando 11 ensaios para avaliar o pH, temperatura e diferentes substratos (gordura de frango, pâncreas de porco e azeite e oliva). A realização do planejamento experimental evidenciou dados significativos ($R^2 = 0,9714$) sobre o aumento da atividade enzimática. O ensaio que apresentou a maior atividade de 25,3 U/mL foi a pH 7,0, com gordura de frango. A temperatura não apresentou forte influência nos resultados. Para a etapa de esterificação foram utilizados os resultados obtidos pelo planejamento fatorial 2³ para trabalhar na região ótima da enzima extraída do pâncreas. Desta forma realizou-se o método titulométrico de neutralização para quantificação dos ácidos graxos livres presentes no meio reacional. As amostras foram testadas seguindo os mesmos parâmetros que se destacaram nos testes de atividade. Um novo fator foi incluído para verificar-se o tempo necessário de obter-se a máxima esterificação. A partir desses testes foi possível obter resultado significativo de 61,6 U/mL em três horas de reação a 40°C e dois mililitros de extrato enzimático.

Palavras-chave: atividade enzimática, biodiesel, lipases.

Estudo da produção de melanina pelo fungo endofítico *Diaporthe* sp.

LETÍCIA W. BASSAI*; ADRIANE B. P. MEDEIROS**

Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Federal do Paraná (UFPR).

E-mail: *leticiawb@gmail.com, **adrianebpm@ufpr.br

Os fungos endófitos são amplamente reconhecidos pela produção de metabólitos secundários de interesse industrial e alto valor agregado. Espécies de fungos que produzem pigmentos apresentam algumas vantagens na sobrevivência e colonização de ambientes, uma vez que a melanina pode conferir ao fungo proteção contra a radiação ultravioleta, ação de enzimas líticas, dissecação, altas temperaturas e outras condições ambientais adversas. A melanina é um pigmento fenólico, produzida pela oxidação da L-tirosina a partir da enzima tirosinase e reações de polimerização. Por apresentar atividade antioxidante esta desempenha diversos papéis biológicos, sendo a sua forma polimérica aplicada como biomaterial em biosensores e dispositivos fotovoltaicos, suas propriedades bioativas torna seu uso promissor no tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, na indústria de cosméticos como pigmento natural para coloração de cabelo, incorporação em formulações para proteção contra danos fotoinduzidos e agentes antienvhecimento. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi otimizar a produção e extração de melanina produzida pelo fungo endofítico *Diaporthe* sp.. A inibição do pigmento durante a biotransformação de D-limoneno foi investigada. Para a produção do pigmento foram testados diferentes meios de cultura. O pigmento foi produzido ao longo de 14 dias de cultivo. Diferentes metodologias de extração da melanina foram testadas e seu espectro de absorbância foi analisado, sendo o pico de absorção na região UV a 200 nm. A atividade da enzima tirosinase foi mensurada através da oxidação do substrato L-DOPA a 30°C, nos cultivos em fermentação submersa. O efeito do terpeno na produção do pigmento foi analisado qualitativamente durante cultivo em placas contendo PDA. A produção da melanina ocorreu no final da fermentação (a partir de 14 dias) sendo acentuada em meio Czapeck suplementado com 40µg/mL de CuSO₄ e 600µg/mL de L-tirosina. A atividade enzimática se mostrou reduzida na presença de 0,1% de D-limoneno no meio de cultivo. Logo, o fungo endófito *Diaporthe* sp. apresenta um grande potencial biotecnológico na produção de compostos bioativos pela produção de melanina e na capacidade de biotransformar limoneno que pode atuar inibindo a atividade da enzima tirosinase.

Palavras-chave: *Diaporthe* sp.. melanina, terpenos, compostos bioativos.

Estudo do comportamento cinético da fermentação láctica na elaboração de iogurte

ISABELLA SCHERER VAZ¹; LAÍS LOURDES PORTO²; MYLENA RETIXEN DO ROSÁRIO²; SABRINA ÁVILA RODRIGUES^{3*}

¹ Bolsista Iniciação Científica do Ensino Médio; ² Alunas do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos;

³ Professora Orientadora do Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Ponta Grossa – Ponta Grossa, Paraná.

E-mail: *sabrinaavila@utfpr.edu.br

Iogurte é o produto obtido através da fermentação láctica mediante ação de microrganismos específicos. Com a finalidade de atribuir características específicas ao produto é facultada a adição de ingredientes que possam conferir sabor, cor, aroma e textura. A adição de tais produtos pode ocorrer após o processo fermentativo ou antes deste. Os ingredientes adicionados na etapa pré-fermentação podem exercer influência sobre a cinética do processo fermentativo. Este trabalho tem por objetivo avaliar a influência da sacarose no comportamento cinético da fermentação láctica para obtenção de iogurte. A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Laticínios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa- PR. Para a preparação do iogurte foram elaboradas 3 amostras, (identificadas de L1, L2 e L3), cada amostra recebeu 12%, 6% e 0% de sacarose, respectivamente. Foram utilizados leite pasteurizado homogeneizado integral, sacarose, leite em pó integral e cultura láctea na forma de iogurte natural integral. A elaboração do produto consistiu em aquecer o leite já pasteurizado, junto com o leite em pó desnatado e sacarose nas amostras específicas, até uma temperatura de 85°C, por cerca de 15 minutos, logo após a mistura foi resfriada até 40°C. Posteriormente, foi feita a adição das culturas lácteas, homogeneização e incubação do produto à temperatura de 30°C por aproximadamente 10 horas. Amostras foram coletadas no início do processo e a cada 60 minutos de fermentação para acompanhamento do pH, realizada por leitura direta com pHmetro da marca Even PHS3E, análise de acidez titulável e atividade de água (Aw) em equipamento Aqualab 4TE. Com a adição da sacarose e leite em pó integral, aumenta-se o teor de sólidos e a concentração do leite. Com isso, a capacidade de retenção de água das proteínas do leite também aumentará, auxiliando na consistência e reduzindo a tendência de sinérese no produto final. O limite estabelecido pela legislação para adição de sacarose é de 10% a 12%, e para leite em pó de 2% a 4%. A acidez das amostras apresentou-se dentro do limite estabelecido pela legislação (0,6 a 1,5 g ác.láctico/100g). Não houve diferença significativa entre as amostras para pH e acidez, demonstrando a viabilidade da adição da sacarose na etapa pré-fermentação.

Palavras-chave: fermentação láctica, iogurte, cinética.

Expressão e caracterização de quimera constituída a partir de TolC de *Leptospira interrogans*

ANA CAROLINA K. PEDRA^{1**}; TIFFANY B. THUROW¹; MARA A. C. MAIA¹; NATASHA R. DE OLIVEIRA¹; ANDRÉ A. GRASSMAN²; ALAN J. A. MCBRIDE¹; ODIR A. DELLAGOSTIN^{1*}

¹ Núcleo de Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico; Universidade Federal de Pelotas; ² Department of Medicine and Department of Molecular Biology and Biophysics - University of Connecticut Health, USA.

E-mail: *odiarad@gmail.com, **caarolpedra@hotmail.com

A leptospirose é uma zoonose negligenciada prevalente principalmente em países subdesenvolvidos, assim considerada um problema de saúde pública. Causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira* spp., a doença é transmitida através do contato direto ou indireto com a urina de animais infectados. As vacinas já existentes são compostas de bactérias inteiras inativadas que induzem imunidade de curta duração e específica ao sorovar contido na preparação vacinal. Diante dessa limitação, o desenvolvimento de uma vacina multi-valente ainda representa um grande desafio. Através da vacinologia reversa e estrutural, nosso grupo de pesquisa identificou proteínas barril- β transmembrana (β b-OMP) presentes na membrana externa da *Leptospira* spp. e devido a sua localização são apontadas como potenciais alvos vacinais. Dentre tais proteínas podemos destacar a família das TolC, o componente de bombas de efluxo que está presente na membrana externa de bactérias didermes. Cinco proteínas de *Leptospira* spp. preditas como TolC foram selecionadas para a construção de uma quimera. O gene sintético foi clonado no vetor pAE de expressão, que foi utilizado para transformar a cepa de expressão *Escherichia coli* BL21 (DE3) por choque térmico. Após a transformação, seu crescimento foi monitorado e ao atingir a fase de exponencial, a expressão da proteína recombinante foi induzida pela adição de 0,5 mM de isopropil β -D-1-tiogalactopiranosídeo (IPTG). Após 3 h de indução, as células foram coletadas por centrifugação, solubilizadas em tampão de purificação de proteínas recombinantes e lisadas por sonicação. Após nova centrifugação, o *pellet* de células foi ressuscitado em tampão contendo ureia como agente desnaturante e novamente centrifugado. Ambos sobrenadantes foram avaliados em eletroforese em gel de acrilamida (SDS-PAGE) para identificar a solubilidade da proteína recombinante expressa. A quimera foi purificada por cromatografia de afinidade ao níquel. Após diálise contra tampão fosfato-salino (PBS), a proteína recombinante foi caracterizada por SDS-PAGE e Western blot utilizando anticorpo monoclonal anti-6xHis. A proteína recombinante foi expressa apresentando aproximadamente 44 kDa. A quimera foi eficientemente purificada e reconhecida pelo anti-6xHis no Western blot. A correta expressão heteróloga da quimera, alcançada por esse trabalho, permitirá futuras avaliações da sua capacidade imunoprotetora em modelo animal.

Palavras-chave: leptospirose, vacinologia estrutural, alvo vacinal.

Fermentação alcoólica utilizando fontes de carbono diferentes

GABRIELA KOVALESKI*; SABRINA ÁVILA RODRIGUES**

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, PR.

E-mail: *gabi95k@hotmail.com, **sabrinaavila@utfpr.edu.br

As leveduras exigem uma fonte de carbono elaborada, os açúcares fornecem a energia química e o esqueleto carbônico de suas estruturas celulares, constituídas principalmente por carbono, oxigênio e hidrogênio. Quando as fontes de carbono são diferentes, dependendo da levedura, a fisiologia da levedura pode variar alterando a sua taxa de crescimento. Esse trabalho tem como objetivo comparar o consumo de dois açúcares, sacarose e glicose, na fermentação alcoólica, para verificar a fisiologia da levedura em fontes de carbono diferentes. Foram realizadas duas fermentações com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, uma com a sacarose e outra com glicose, as duas foram mantidas a 32°C por 180 horas. Verificou-se a cada 12 horas os sólidos solúveis do meio de fermentação, utilizando uma escala numérica de índice de refração (Brix) em um refratômetro. Um grau Brix corresponde a 1 grama de açúcar por 100 gramas de solução. Através dos resultados observou-se a redução do grau Brix com o passar do tempo, mostrando o consumo dos dois açúcares pela levedura. Nas primeiras 48 horas a fermentação alcoólica mostrou-se tumultuosa, 66,66% de consumo para dos dois açúcares, ou seja, houve um consumo rápido do açúcar, juntamente com uma alta atividade da levedura. Depois de 72 horas de fermentação observou-se uma menor atividade das leveduras, mantendo-se constante até o final da fermentação, para os dois açúcares. O consumo final da sacarose nas 180 horas foi de 75,36% e da glicose de 75,93%. Foi possível verificar que apesar da utilização de fontes de carbono diferentes para a atividade da *Saccharomyces cerevisiae*, a sua fisiologia e cinética não foram alteradas.

Palavras-chave: *Sacharomyces cerevisiae*, glicose, sacarose, cinética.

Gestão da Coleção Microbiológica de Interesse Biotecnológico na UTFPR - Campus Ponta Grossa

LUCIANA DE ALMEIDA; MARIELY C. SANTOS; MARIANA M. F. DO NASCIMENTO;
LUCIANO M. MACEDO; JULIANA V. M. BITTENCOURT*

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR - Campus Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR.

E-mail: *julianavitoria@utfpr.edu.br

Tão importante quanto conservar o material biológico é acessá-lo de forma hábil, assim o gerenciamento de uma coleção de linhagens é importante para preservação e registro do material depositado. O objetivo desta pesquisa foi a instalação, padronização e gestão de uma coleção de culturas microbiológicas na UTFPR/Ponta Grossa com cadastro dos dados das linhagens na Rede Taxonline. O desenvolvimento do trabalho foi efetuado em 4 etapas, onde a princípio foi realizada uma pesquisa para estimar a quantidade de linhagens na UTFPR/PG, posteriormente as linhagens disponíveis foram depositadas e o sistema de gestão foi desenvolvido através de Termos de Depósito e de Retirada, Procedimentos Operacionais Padronizados (POP's) e de uma planilha de armazenamento de dados. O último passo foi o envio dos dados para a disposição na Rede Taxonline. A partir do levantamento realizado na UTFPR/PG estimou-se que 50% dos professores consultados, apresentam necessidade da existência de uma coleção para gerir e acessar culturas microbiológicas, onde também foram verificados quais os professores possuíam linhagens para depósito. Após a estruturação física do laboratório as linhagens foram coletadas e encaminhadas para o local e suas características identificadas e catalogadas em planilha eletrônica, ao final do trabalho foram depositados 149 micro-organismos, entre eles: 31 fungos, 55 leveduras e 63 bactérias. A coleção foi denominada como: Coleção Microbiológica de Interesse Biotecnológico da UTFPR/Ponta Grossa com a sigla: CMIB-UTFPR/PG. Para gestão da coleção foram desenvolvidos Termos de Depósito e de Retirada de Material Biológico e 7 POP's, para descrição das atividades da coleção. O último passo foi o encaminhamento dos dados de planilha com a caracterização dos micro-organismos aos gestores da Rede Taxonline oficializando a participação da CMIB na rede, e nos foi concedido os códigos das Coleções Microbiológicas da Rede Paranaense (CMRP) correspondente ao número oficial das linhagens microbiológicas na rede. O armazenamento e compartilhamento destas informações de maneira organizada e sistematizada auxiliará o desenvolvimento de pesquisas científicas dentro e fora da Instituição, auxiliando no melhoramento dos processos tanto nas áreas da saúde e fármacos, alimentos e bebidas, agricultura e meio ambiente.

Palavras-chave: coleções microbiológicas, banco de dados, Rede Taxonline, micro-organismos.

Imobilização da enzima β -galactosidase de *Kluyveromyces lactis* em Immobead e estudo das propriedades texturais e catalíticas

ANA JÚLIA FÜHR^{1*}; ADRIANO GENNARI¹; FRANCIELLE H. MOBAYED¹; RUAN S. RAFAEL¹; ANDRÉ L. CATTO¹; EDILSON V. BENVENUTTI²; RAFAEL C. RODRIGUES²; RAUL A. SPEROTTO¹; GIANDRA VOLPATO³; CLÁUCIA F. V. DE SOUZA^{1**}

¹ Universidade do Vale do Taquari – Univates; ² Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS;

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – IFRS.

E-mail: *ana.fuhr@universo.univates.br; **claucia@univates.br.

A β -galactosidase é responsável pela hidrólise da lactose presente no leite e nos derivados lácteos. A enzima proveniente da levedura *Kluyveromyces lactis* (KL-Gal) apresenta uma estrutura tetramérica que pode se dissociar em subunidades, tornando-se um problema relevante quando empregada em escala industrial. Além disso, estes biocatalisadores apresentam um custo elevado e uma recuperação não viável economicamente após sua aplicação. Por isso, a imobilização enzimática surge como uma alternativa para superar estas limitações. A técnica de imobilização escolhida e o suporte empregado são de extrema importância para garantir maior eficiência ao processo. O Immobead 150 (Ibead) é um suporte epóxi que apresenta elevada resistência térmica e mecânica. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar as propriedades texturais e catalíticas da β -galactosidase de *K. lactis* imobilizada em Immobead. O suporte foi modificado com glutaraldeído 5% (v/v) (Ibead-Glu) ou com uma mistura ácida (3:1, v/v) de H_2SO_4 (1 mol/L) e HNO_3 (1 mol/L) (Ibead-Ac). Avaliou-se o processo de imobilização da KL-Gal no suporte sem modificação (Ibead) e submetido aos tratamentos (Ibead-Glu e Ibead-Ac). A imobilização foi realizada com cargas proteicas de 10 a 200 mg/g de suporte e avaliando o rendimento e a eficiência do processo. A caracterização textural dos derivados obtidos (Ibead-KL-Gal, Ibead-Ac-KL-Gal e Ibead-Glu-KL-Gal) foi feita a partir da técnica de Brunauer, Emmett e Teller (BET). Os ensaios de reusabilidade enzimática foram realizados em reações de hidrólise de 30 min, empregando quatro soluções de substratos lácteos: lactose, permeado de soro, soro de queijo e leite desnatado. Para cargas de até 100 mg/g de suporte não houve reduções significativas ($p \leq 0,05$) nos parâmetros de imobilização, sendo que os rendimentos para os três derivados foram maiores que 84%. Os derivados obtidos com esta carga proteica foram caracterizados em relação as suas propriedades texturais e catalíticas. A área superficial do suporte Ibead ($189 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) diminuiu após as modificações feitas com a mistura ácida ($148 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) e com glutaraldeído ($129 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) e os derivados Ibead-KL-Gal, Ibead-Ac-KL-Gal e Ibead-Glu-KL-Gal apresentaram valores de 17,1; 13,2 e $11,8 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente. A enzima demonstrou estabilidade nos ensaios de reusabilidade, sendo reutilizada 15 vezes em leite e soro, mantendo o grau de hidrólise da lactose dos substratos em aproximadamente 50%. Verificou-se que a KL-Gal tetramérica pode ser imobilizada no Immobead e os derivados apresentam estabilidade catalítica no processo de hidrólise da lactose.

Palavras-chave: glutaraldeído, solução ácida, reusabilidade.

Investigação da interação entre o consumo de cafeína e o rs2298383 (*ADORA2A*) sobre sintomas de ansiedade

FABIANE DRESCH^{1**}; LUISA CAPRA¹; KEMBERLY GODOY BASÉGIO²; MAGALI CONTE²; FERNANDO GODOY PEREIRA DAS NEVES¹; ALEXANDRE MARTINS¹; CAMILE WÜNSCH¹; JÚLIA PASQUALINI GENRO^{1,3}; VERÔNICA CONTINI^{1,2*}

¹Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade do Vale do Taquari – Univates, Lajeado, RS, Brasil; ²Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade do Vale do Taquari – Univates, Lajeado, RS, Brasil; ³Programa de Pós-Graduação em Biociência, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: *veronica.contini@gmail.com, **fabianedresch.nutri@gmail.com

Os efeitos comportamentais e fisiológicos da cafeína ocorrem por sua ação antagônica da adenosina, através do bloqueio dos receptores de adenosina A1 e A2A. Desta forma, a cafeína, ao impedir a ação da adenosina, estimula a atividade neural, contraindo os vasos sanguíneos e aumentando o estado de alerta. Sabe-se, no entanto, que os efeitos da cafeína, individualmente, podem estar relacionados com polimorfismos genéticos, entre eles, destacam-se variantes nos genes codificadores dos receptores de adenosina A1 (*ADORA1*) e A2A (*ADORA2A*). Avaliar a interação entre o consumo de cafeína e o polimorfismo rs2298383 do gene *ADORA2A* sobre sintomas de ansiedade. A amostra foi constituída por 150 indivíduos adultos, de ambos os sexos, recrutados entre a comunidade acadêmica da Universidade do Vale do Taquari – Univates. Todos os indivíduos incluídos no estudo assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (COEP/UNIVATES: 2.502.199). Os participantes foram submetidos a uma anamnese para a coleta de dados demográficos, hábitos alimentares, estilo de vida, estado de saúde auto avaliado e história clínica. Para estimar o consumo de cafeína foram utilizados dados de um questionário para uso de xantinas e estimulantes e os dados obtidos no recordatório alimentar de 24 horas. Para a análise dos sintomas de ansiedade utilizou-se o Inventário de Ansiedade de Beck. Foi também realizada uma coleta de sangue, para análises bioquímicas e extração de DNA. A extração de DNA foi realizada pelo método de *salting out* e o polimorfismo selecionado foi genotipado pelo sistema de discriminação alélica TaqMan. As frequências alélicas foram estimadas por contagem direta e o equilíbrio de Hardy-Weinberg e foi calculado pelo teste do qui-quadrado de Pearson. Há uma associação significativa entre o consumo de cafeína com os sintomas de ansiedade ($p=0,028$). Os indivíduos com sintomas moderados/graves de ansiedade tiveram um consumo maior de cafeína ($\geq 300\text{mg}$). Não foram observadas associações entre o polimorfismo rs2298383 com o consumo de cafeína ou com os sintomas de ansiedade. Espera-se aumentar o tamanho amostral e testar o efeito da interação entre o consumo de cafeína e o polimorfismo selecionado para conclusões mais robustas.

Palavras-chave: ADORA2A, nutrigenética, cafeína.

Isolamento de fungos filamentosos produtores de celulasas a partir de tocos de *Pinus sp.*

JOÃO EDUARDO LEVANDOSKI*; MAYARA SCHEFFER; PEDRO AFONSO FATORI MALDONADO; MARCIO SILVA**

Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

E-mail: *levandoski.eq@hotmail.com, **marcios@utfpr.ed.br

A silvicultura tem importância econômica mundial, envolvendo desde a indústria de papel e celulose até o uso da madeira para fabricação de móveis. Em reflorestamentos, tanto de *Eucalyptus sp.* quanto de *Pinus sp.*, são necessárias grandes áreas para o cultivo. Apesar da alta rentabilidade financeira, quando existe a intenção de outro uso do solo, por exemplo agricultura, há dificuldade na reutilização das áreas, pois os tocos restantes impedem a mecanização do terreno por vários anos. Existem várias formas de eliminar os tocos, a mais comum é a remoção mecânica que tem custo geralmente elevado, desestabiliza o solo, remove a camada mais fértil da terra e ainda aumenta as chances de erosão. Uma alternativa às abordagens tradicionais tem sido a destoca biológica, que faz o uso de microrganismos degradadores de compostos lignocelulósicos possibilitando uma degradação acelerada dos tocos, e ainda re-inserindo no solo parte dos nutrientes utilizados pela planta durante seu crescimento. Os microrganismos utilizados nas destocas biológicas podem ser obtidos através de bioprospecção, fungos do ambiente podem ser isolados levando em conta suas características de degradação de compostos lignocelulósicos. Foi realizada uma bioprospecção em uma floresta comercial de *Pinus sp.* utilizando tocos como fonte primária do material para isolamento. As amostras foram coletadas a partir de tocos cortados em um intervalo de 0 a 7 anos antecedendo a coleta. Foram coletadas amostras de três tocos por idades de corte. Em cada toco foram coletadas duas amostras em diferentes profundidades (0-2 cm e 10-12cm), totalizando 48 amostras. 55 mg de cada amostra, em forma de pó, foi inoculada em meio de cultura sólido contendo carboximetilcelulose (CMC). As cepas fúngicas com o fenótipo desejado foram identificadas pela hidrólise de CMC revelada pela coloração da cultura com vermelho congo. Repiques consecutivos das culturas, utilizando o mesmo meio seletivo, possibilitaram o isolamento de 15 fungos filamentosos com atividade celulolítica. Dentre estes, dois apresentaram índice enzimático superior a 1,5 para a degradação da celulose, o que os classifica como potenciais produtores de celulasas. Os fungos isolados serão utilizados em testes de fitopatogenicidade em *Pinus sp* e em experimentos de destoca biológica. A classificação sistemática dos fungos isolados será feita por sequenciamento de DNA.

Palavras-chave: fungos, celulasas, *Pinus sp*, bioprospecção.

Isolamento, identificação molecular e caracterização da atividade lipolítica de isolado bacteriano ambiental

LUISA L. SANTOS^{1*}; DÉBORA V. ENDT^{1**}; ROBERTA B. RODRIGUES^{2***}

¹ Universidade Estadual do Rio Grande do Sul; ² Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

E-mail: *lulautert.bio@gmail.com, **debora.vom.endt@gmail.com, ***rbussamara@gmail.com

Dentro do cenário biotecnológico atual, existe um interesse mundial em encontrar novas espécies de microrganismos que sejam produtoras de biomoléculas com potencial aplicação à indústria em geral, bem como otimizar processos de produção dessas biomoléculas a partir de microrganismos já conhecidos. Apesar de todos os esforços já alcançados, com o intuito de maximizar a síntese de lipase através do uso das cepas microbianas já conhecidas, a seleção de linhagens com atividade lipolítica significativa ainda é uma abordagem relevante, principalmente em países que apresentam uma grande biodiversidade como o Brasil. As lipases surgiram como um dos principais biocatalisadores com potencial comprovado de contribuir com a indústria multibilionária de enzimas, representando uma enzima-chave na indústria biotecnológica. Tendo em vista estes conceitos ambientais e econômicos, este estudo tem como objetivo otimizar a atividade de lipase produzida no caldo de cultivo de um isolado bacteriano ambiental, através da avaliação da influência de diferentes parâmetros de reação, além da identificação molecular. Os microrganismos testados neste trabalho foram isolados a partir de amostras de compostagem doméstica. A atividade lipolítica de cada um dos isolados foi determinada através da capacidade de hidrolisar o substrato p-nitrofenil palmitato (p-NPP). Foi feita a identificação molecular do isolado com maior atividade enzimática através da amplificação e sequenciamento de RNA ribossomal 16S. A otimização da atividade de lipase extracelular do isolado selecionado foi feita utilizando o mesmo substrato, variando a temperatura na faixa de 20 a 70 °C e o pH de 3 a 9. A identificação molecular do isolado CC2-17 revelou a espécie *Stenotrophomonas maltophilia*. A partir da superfície de resposta e curvas de contorno obtidas, verificou-se uma região ótima para a atividade enzimática em uma faixa de combinações de pH (4 a 7) e temperatura (30 a 50 °C). Através do modelo do comportamento da atividade obtido, foram calculados pH e temperatura ótimos da atividade enzimática 6,3 e 45,8 °C, respectivamente. O valor do coeficiente R² obtido foi de 0,878. Assim, assume-se que o modelo proposto é relevante.

Palavras-chave: bioprospecção, lipase, otimização, *Stenotrophomonas maltophilia*, identificação molecular.

Lignin distribution patterns during adventitious rooting in hard- and easy-to-root *Eucalyptus* species

JOHNATAN VILASBOA^{1**}; CIBELE T. DA COSTA¹; JORGE E. A. MARIATH²; ARTHUR G. FETT-NETO^{1*}

¹ Laboratory of Plant Physiology – Federal University of Rio Grande do Sul; ² Laboratory of Plant Anatomy – Federal University of Rio Grande do Sul.

E-mail: *fettneto@cbiot.ufrgs.br, **johnatan.vilasboa@gmail.com

Eucalyptus cultivation is a thriving economic activity that provides high-quality biomass to fundamental industrial sectors such as timber, energy, pulp and paper, preserving native forests that otherwise would serve to that purpose. Eucalypt propagation is mainly clonal and adventitious rooting (AR) is crucial for efficient production of mini-cuttings. However, several high quality clones for cellulose production show hard-to-root phenotype. *E. globulus* is AR recalcitrant and has low levels of lignin and lipids, which favor cellulose extraction, reducing overall process costs. In the model plant *Arabidopsis thaliana*, lignification patterns have been related to AR capacity. The current study takes an initial step towards comparatively analyzing lignin patterns in hard- (*E. globulus*) and easy-to-root (*E. grandis*) species. To that end, mini-cuttings were obtained from seedlings grown in MS medium for 60 days after germination. Mini-cuttings were transferred to a 96 h AR induction step in medium devoid of auxins or containing indole-3-acetic acid (IAA), followed by a 48 h AR formation step in IAA-free medium and with activated charcoal. Samples were collected immediately before transfer to AR induction medium and 48 h after transfer to AR formation medium. Mini-cuttings were separated in triplicates and either dried at 70±5 °C overnight for lignin quantification or stored under vacuum in Trump's fixative solution for histological analyses. Lignin content was determined by digestion of protein-free biomass with acetyl bromide followed by spectrophotometric reading at 280 nm. Sections of 15 µm from the basal portion of fixed mini-cuttings were obtained using Ranvier microtome and stained with toluidine blue or phloroglucinol. No significant differences were found between species or AR media regarding lignin quantification at this very early developmental stage. Conversely, anatomical analyses revealed distinct patterns of lignin distribution between species. Whereas *E. grandis* displayed a well-established rather lignified vascular cylinder, only a primary level of tetrarch xylem development could be observed in *E. globulus* seedlings of the same age, characterized by a more diffuse distribution of lignified cells and a vascular cylinder not as defined and circular as in *E. grandis*. Taken together, these data suggest that *E. globulus* displays lower vascular development and relative tissue lignification compared to *E. grandis*, which may influence AR capacity. (Support: CAPES and CNPq).

Keywords: *Eucalyptus*, adventitious rooting, lignin, mini-cuttings, plant biotechnology.

Melhoramento de leveduras para as fermentações de cacau e café mediante seleção clonal

ELISÂNGELA DE S. M. MUYNARSK^{*}; GILBERTO V. DE M. PEREIRA^{**}; CARLOS R. SOCCOL^{***}

Universidade Federal do Paraná.

E-mail: ^{*}elisangela.souza@ufpr.br, ^{**}gilbertovinicius@gmail.com, ^{***}soccol@ufpr.br

Leveduras são microrganismos de grande importância econômica que apresentam peculiaridades as quais permitem o seu uso em diferentes segmentos industriais. Para alguns processos fermentativos tais como do cacau e café, ainda se faz necessário aprimorar linhagens que participam ativamente destes processos para obter um produto final considerado “diferenciado” e implementar culturas iniciadoras para controle do processo fermentativo e produção de bebidas com alto teor de compostos antioxidantes e aromáticos. β -glicosidases são enzimas com largo espectro de aplicações industriais e podem ser amplamente empregadas na indústria de alimentos e bebidas a fim de melhorar a qualidade de aroma, sabor, coloração e viscosidade do produto. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi melhorar linhagens de leveduras isolados dos processos fermentativos de cacau e café, pertencentes ao banco de culturas do Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da UFPR. As leveduras utilizadas, *Saccharmyces* sp. YC9.15, *Pichia fermentans* YC5.2, *Pichia Guilliermondii* YC1-2, *Pichia kudriavzevii* LPB07 e LPB06 foram mutadas mediante técnica de mutação por luz ultravioleta e aproximadamente cem mutantes de cada linhagem foram resgatados e avaliados quanto a atividade de β -galactosidase em meio contendo esculina e cloreto férrico. A atividade de β -galactosidase foi detectada em um leitor de ELISA, com leitura em 560 nm, pela formação de um precipitado escuro, característico da presença de esculetina, liberada pela hidrólise da esculina pela β -glicosidase, com o íon férrico. A partir da leitura foi observado um mutante da cepa YC1-2, com o dobro do valor e dois mutantes com valor superior a cepa original. No que se refere aos mutantes das linhagens LPB06, LPB07, YC9.15 e YC5-2 foram selecionados 6, 3, 3 e 4 mutantes respectivamente, que apresentaram valor superior a cepa original. Os mutantes selecionados serão testados quanto à eficiência de fermentação no cacau e café, e formação de compostos secundários por cromatografia gasosa de alta eficiência.

Palavras-chave: aroma, enzima, mutação, seleção.

Microtapping of *Pinus elliottii* Engelm as an alternative in prospecting resinose adjuvant pastes

JOÃO V. V. DUZ; MAGNUS R. KERBER; JULIANA L. GALVAN; JÚLIA WIECZOREK;
CAMILA F. O. JUNKES; ARTHUR G. FETT-NETO*

Plant Physiology Laboratory, Center for Biotechnology, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail: *fettneto@cbiot.ufrgs.br

Over millions of years of evolution conifers have developed physical and biochemical mechanisms to defend themselves against various environmental stresses. Resin, the main chemical defense in pines, is composed of a mixture of terpenes. It has been used since ancient times and still finds applications in various industrial sectors, including fine chemicals. Resin is obtained from bark wounding of adult trees and its production is increased using stimulant pastes containing inducing adjuvants of metabolic pathways involved in terpene biosynthesis. However, the identification of new adjuvants in forests requires long time and intense work. In this sense, microtapping may represent a rational option, using young plants of *Pinus elliottii* cultivated in greenhouse to test the effect of several adjuvants, so that only those most promising would be further tested in plantations of adult individuals. Adjuvants with known resin stimulatory effect in adult plants (ethylene, benzoic acid and potassium) and molecules involved in the transduction of defense signals (methyl jasmonate, salicylic acid and a previously untested potential activator of jasmonate, isoleucine) were evaluated in young plants. One-year-old plants responded only to stimuli from potent adjuvant pastes, not showing stimulation with pastes causing a median but significant increase in the adult forest plants. Basal stem parts, and therefore more lignified wound sites, produced more resin than apical points. In 2-year-old plants, the amount of resin was higher, but adjuvants capable of yielding medium-increment in adult resinosis also did not present statistical difference in microtapping resin yield. Generally, there was no statistical difference in resin yield between the points of injury. In 3-year-old plants, we found statistical difference in resin induction using different concentrations of methyl jasmonate, but not when salicylic acid was applied. In both experiments, young plants showed response to subsequent stimuli, in the same way as adult plants. Microtapping can be used for early identification of adjuvants with high resin induction capacity.

Keywords: adjuvant pastes, oleoresin, *Pinus elliottii*, young plants.

O laboratório de Bioquímica é para todos: formando pesquisadores inclusivos a partir de uma proposta acadêmico-aplicada em Libras

TATIANE MILITÃO DE SÁ^{*}; GILDETE DA SILVA AMORIM MENDES FRANCISCO^{**};
GUTEMBERG GOMES ALVES^{***}; SAULO CABRAL BOURGUIGNON^{****}

Universidade Federal Fluminense.

E-mail: ^{*}tatimili2@yahoo.com.br, ^{**}gildeteamorin@yahoo.com.br, ^{***}gutopepe@yahoo.com.br, ^{****}saulocb@globocom

O laboratório de bioquímica é um ambiente muito importante para o ensino de ciências, no qual podemos desenvolver atividades inovadoras e aulas experimentais fundamentais para que o aluno observe na prática aquilo que é ensinado na teoria, promovendo uma assimilação de conceitos e dando força às leis e enunciados do conhecimento acadêmico científico. O objetivo é apresentar uma proposta acadêmico-aplicada oferecida a graduandos dos cursos de Biologia e Química desenvolvida por meio de vídeo sinalizado em Libras. Para tal elaboramos uma aula de introdução em Língua Brasileira de Sinais, contendo vocabulário de vidrarias básicas e normas de segurança importantes para a convivência em um laboratório de Ciências voltado para atuação em sala de aula inclusiva com surdos do primeiro ano do ensino Médio. Os subsídios e os dados para tradução do vídeo foram obtidos em elaboração de roteiro, produzido após discussões e estudos em encontros semanais realizados na disciplina Libras I, no campus Gragoatá da Universidade Federal Fluminense, bem como pesquisas com sinais específicos utilizados em vídeos das provas do Exame Nacional do Ensino Médio - ENEM e dicionários, glossários de Libras. A iniciativa de utilizar vídeos nas aulas como uma proposta acadêmico-aplicada de forma contextualizada no processo de ensino-aprendizagem pode atender não só aos interesses dos futuros pesquisadores, mas também aos profissionais de ensino de Ciências. Entendemos que a pesquisa apresentada, indica fatores positivos para o ensino de Libras em Laboratórios de Ciências, sendo neste caso, preponderante para o planejamento dos professores da disciplina à prática com uso de vídeos sinalizados. A coleta dos dados e a participação dos alunos graduandos na elaboração e produção dos vídeos foi fundamental para o aprendizado. A proposta pode ser replicada em salas de aulas, aliadas a sequências didáticas de trabalhos contextualizados em outras práticas para que diferentes conteúdos sejam abordados de forma mais específica na educação com surdos, inseridos em nível Médio. Consideramos que a elaboração do vídeo e pesquisa dos sinais demanda melhor aprendizagem dos futuros profissionais no intuito de atender serviços com indivíduos surdos, ainda que minoria linguística no país e contribui na promoção de espaços inclusivos em laboratórios de escolas, empresas, indústrias e outros.

Palavras-chave: laboratório de bioquímica, ciências, Libras.

O tamanho das plantas de *Oryza* spp. pode influir na resposta de defesa a ácaros fitófagos?

GISELI BUFFON^{1*}; THAINÁ INÊS LAMB²; ÉDINA APARECIDA DOS REIS BLASI¹; RODRIGO GASTMANN²; JOSÉLI SCHWAMBACH³; FELIPE KLEIN RICACHENEVSKY⁴; MARA CRISTINA BARBOSA LOPES⁵; RAUL ANTONIO SPEROTTO^{1,2**}

¹ Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade do Vale do Taquari - Univates, Lajeado, RS; ² Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade do Vale do Taquari - Univates, Lajeado, RS; ³ Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS; ⁴ Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS; ⁵ IRGA (Instituto Rio-Grandense do Arroz), Cachoeirinha, RS.

E-mail: *gisi@universo.univates.br, **rasperotto@univates.br

Hormônios desempenham importantes funções, Giberelina (GA) regula processos essenciais no desenvolvimento das plantas (incluindo o alongamento de caules e folhas), enquanto o Jasmonato (JA) desempenha um papel dominante na defesa das plantas, especialmente no ataque de herbívoros. Sabe-se que GA e JA são antagonistas na regulação do crescimento das plantas e em resposta à defesa. Assim, o objetivo deste trabalho foi observar a resposta de plantas de arroz que possuem taxas de crescimentos distintos e verificar se isso afeta a resistência da planta à infestação do ácaro *Schizotetranychus oryzae*. Duas espécies de arroz selvagens (*Oryza barthii* e *Oryza glaberrima*) de alta estatura (aproximadamente 2 m) e dois cultivares de *Oryza sativa* (Nipponbare e f. *spontanea*) de baixa estatura foram avaliados. A metodologia foi composta por ensaios de avaliação de parâmetros agrônômicos e fisiológicos. Surpreendentemente, verificamos que as espécies selvagens apresentaram maior dano foliar, maior acúmulo de espécies reativas de oxigênio, maior taxa de morte celular e menor capacidade fotossintética. A infestação não alterou a altura das plantas, entretanto, diminuiu o número de filhotes, com exceção do cultivar Nipponbare, que não teve seu desenvolvimento afetado. Nossos dados mostram uma maior resistência/tolerância dos cultivares de *Oryza sativa*, principalmente do cultivar Nipponbare, que possui menor altura (aproximadamente 1 m) e possivelmente um menor acúmulo de GA e maior de JA, priorizando a defesa em relação ao crescimento. Mais estudos devem ser realizados para verificar a real influência desses fitohormônios no tamanho das plantas e nos níveis de resistência a herbívoros. Espera-se encontrar possíveis alvos para serem utilizados em futuros programas de melhoramento ou possíveis produtos à base de fitohormônios contra o ácaro, pois os agrotóxicos utilizados nos dias atuais são danosos ao meio ambiente e à saúde humana.

Palavras-chave: fisiologia vegetal, *Oryza sativa*, *Oryza barthii*, *Oryza glaberrima*.

Obtenção da exotoxina fosfolipase D de *Corynebacterium pseudotuberculosis* na forma não purificada e avaliação de segurança

GABRIEL BRENNER^{**}; RODRIGO B. DE PINHO; LUIZA D. MORON; MARA THAIS O. SILVA; NICOLE R. SCHOLL; RAQUEL N. DAS NEVES; SIBELE BORSUK^{*}

Laboratório de Biotecnologia Infecto-Parasitária, Biotecnologia-CDTec, Universidade Federal de Pelotas.

E-mail: ^{*}sibeleborsuk@gmail.com, ^{**}gabrielbrenner123@gmail.com

Corynebacterium pseudotuberculosis é o agente etiológico da linfadenite caseosa (LC), doença comum em pequenos ruminantes, causando abscessos em gânglios linfáticos. O tratamento para a LC é ineficaz, sendo a vacinação a melhor forma de controle e prevenção da doença. As vacinas comerciais possuem baixa eficácia e alto custo, exigindo a busca por novos alvos e formulações vacinais. A fosfolipase D (PLD) é uma potente exotoxina considerada o maior fator de virulência da bactéria, e que se mostra promissora em vacinas recombinantes. Visando o baixo custo, a utilização de bacterina recombinante de *Escherichia coli* é uma alternativa uma vez que dispensa etapas de purificação. O objetivo do estudo foi desenvolver uma bacterina recombinante de *E. coli* expressando a proteína rPLD de *C. pseudotuberculosis* e realizar testes de segurança, para posterior avaliação como vacina para LC. A cepa de *E. coli* BL21 (DE3) Strar foi transformada utilizando o plasmídeo pAE/*pld* previamente construído e posteriormente foi realizado um pré-inóculo em 50 mL de LB líquido contendo ampicilina a partir de uma colônia isolada, seguido pelo aumento de escala para 500 mL. Ao atingir DO₆₀₀ entre 0,4 e 0,6 foi realizada a indução com IPTG 1 mM por 3 horas. Após, foi realizada uma centrifugação e o pellet eluído em PBS e adicionado 0,2% v/v de formaldeído para a inativação da bactéria em shaker por 16 horas. Lavagens foram realizadas para a remoção do formaldeído remanescente. Foram plaqueados 100 µL da suspensão para confirmar a inativação da bactéria. Para confirmar a identidade da proteína e concentração foi realizado Western Blot e gel de SDS-PAGE, respectivamente com o anticorpo monoclonal anti-6his. A inativação do gene de resistência foi verificada por extração plasmidial e amplificação do gene por PCR. Uma alíquota da bacterina recombinante foi incubada por 30 dias para demonstrar a estabilidade da inativação. Como resultados, a expressão da proteína rPLD na forma de bacterina foi bem sucedida tendo sua identidade confirmada por Western Blot através de uma banda reativa no tamanho de 30kDa. Os testes de segurança demonstraram a inativação do gene de resistência visto que nenhuma colônia cresceu nas placas contendo ampicilina, apesar da amplificação do gene através de PCR ser possível. A estabilidade da inativação foi confirmada após 30 dias. O estudo demonstrou que a bacterina expressando a proteína rPLD foi obtida com sucesso e obteve bons resultados em testes de segurança, mostrando-se promissora para a avaliação em modelo murino.

Palavras-chave: linfadenite caseosa, bacterina recombinante, PLD.

Obtenção da proteína recombinante FadL de *Leptospira* spp. para o desenvolvimento de vacina recombinante contra leptospirose

TIFFANY THUROW BUNDE^{1*}; NATASHA RODRIGUES DE OLIVEIRA¹; MARA ANDRADE COLARES MAIA¹; ANA CAROLINA KURZ PEDRA¹; ANDRÉ ALEX GRASSMANN²; ALAN JOHN ALEXANDER MCBRIDE¹; ODIR ANTÔNIO DELLAGOSTIN^{1**}

¹ Núcleo de Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas; ² Department of Medicine and Department of Molecular Biology and Biophysics, University of Connecticut Health, EUA.

E-mail: *tiffany_bia@hotmail.com, **odirad@gmail.com

A leptospirose é uma importante zoonose de ocorrência mundial, causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira*. Sua transmissão ocorre pelo contato direto com a urina de animais infectados ou através de água e solo contaminados. Essa doença é um importante problema de saúde pública, já que anualmente são registrados mais de um milhão de casos graves em todo mundo. A vacinação é a medida de controle mais eficaz, no entanto, as bacterinas comerciais induzem proteção apenas contra os sorovares presentes na sua formulação e causam efeitos colaterais indesejáveis, o que limita a sua aplicação em humanos. Sendo assim, existe a necessidade do desenvolvimento de uma nova vacina contra leptospirose. Nosso grupo de pesquisa identificou novos potenciais alvos vacinais, utilizando uma abordagem de vacinologia reversa e estrutural. Foram identificadas diversas proteínas preditas como barril- β transmembrana expostas na superfície da bactéria (β b-OMP) e conservadas em *Leptospira* spp., destacando-se a β b-OMP FadL, funcionalmente anotada como uma transportadora de ácidos graxos. Proteínas desta classe realizam o transporte de compostos hidrofóbicos na membrana celular, que são importantes para a sobrevivência e patogênese da bactéria via mecanismo de difusão lateral. O gene sintético codificante para proteína rFadL (contendo apenas os fragmentos expostos na membrana externa da bactéria) foi sintetizado quimicamente, clonado em vetor pAE e utilizado para transformar a cepa de *E. coli* BL21(DE3) Star por choque térmico. A expressão da proteína recombinante foi induzida pela adição de isopropil β -D-1-tiogalactopiranosídeo (IPTG). Após centrifugação da cultura, as células foram ressuspensas em solução fosfato salina (PBS), lisadas por sonicação e solubilizadas em tampão contendo 6 M de guanidina. A proteína rFadL foi purificada por cromatografia de afinidade utilizando coluna de Níquel-Sefarose, seguido de diálise em concentrações decrescentes de N-lauroil sarcosina. A caracterização da proteína recombinante foi feita através de SDS-PAGE, seguido de *Western blot* utilizando anticorpo monoclonal anti-6xHis. A expressão da proteína rFadL em sistema heterólogo, bem como a solubilização em guanidina e purificação por cromatografia foi eficiente. O *Western blot* confirmou a presença de uma proteína recombinante com o tamanho esperado de 28 kDa. Atualmente nosso grupo de pesquisas está avaliando a capacidade imunoprotetora desta proteína recombinante em modelo animal.

Palavras-chave: expressão heteróloga, caracterização, barril- β transmembrana.

Obtenção de carvão ativado de bagaço de malte para adsorção de corante Remazol Alaranjado Bril 3R

RENATA CÂNDIDO ARAÚJO DE LIMA^{1**}; FERNANDA APARECIDA BROCCO BERTAN^{1***}; ANDRÉIA ANSCHAU^{1,2*}

¹ Coordenadoria de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Dois Vizinhos, Brasil; ² Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV), Brasil.

E-mail: *andreiaanschau@utfpr.edu.br, **renatalima@alunos.utfpr.edu.br, ***bertanfernanda@gmail.com

Os efluentes têxteis são altamente coloridos, devido à presença de corantes que não se fixam às fibras durante o processo de tingimento gerando grande quantidade de resíduos. A adsorção tem sido uma alternativa para o tratamento desses efluentes, utilizando carvão ativado proveniente de subprodutos industriais, as biomassas. O objetivo deste trabalho foi obter carvão ativado a partir do bagaço de malte e verificar a adsorção do corante Remazol Alaranjado Bril 3R. O bagaço de malte foi lavado, seco e moído, posteriormente carbonizado a 350°C por 1 h. A ativação química foi feita conforme Planejamento Fatorial Completo 2³ com três pontos centrais, tendo como variáveis a granulometria do bagaço (20, 40 e 60 mesh) e diferentes reagentes (ácido fosfórico, hidróxido de potássio e acetato de sódio) nas concentrações de 1, 2 e 3%. A ativação física foi feita após a ativação química, no qual o carvão foi levado à mufla a 200°C por 1 h. Os ensaios de adsorção foram realizados em triplicata e em cada erlenmeyer foi adicionado 0,2 g de carvão e 50 mL de solução de corante a 100 mg/L com pH ajustado para 6,65 conforme ponto de carga zero realizado anteriormente. Os frascos foram mantidos em Shaker a 160 rpm por 24 h a 25°C. As amostras foram analisadas em triplicata em espectrofotômetro a 292 nm. Para análise dos resultados, foi feita Análise de Variância ANOVA e Teste de Tukey a 95% de confiabilidade. Os ensaios com hidróxido de potássio não obtiveram resultados positivos devido a turbidez da solução impedindo a leitura. O ensaio com ácido fosfórico 3% e 60 mesh, apresentou maior remoção (52,7%) seguido do ensaio com ácido fosfórico 1% a 60 mesh (50,2%). O ensaio com acetato de sódio apresentou remoção de 27,9%. Ao comparar com o bagaço de malte *in natura*, pode-se observar que o carvão ativado apresentou uma maior eficiência, visto que a maior remoção atingida pela biomassa foi de apenas 5,2% em 10 h. Pode-se concluir que quanto menor a granulometria, maior foi a remoção do corante quando associado com a ativação em concentração maior de ácido fosfórico, enquanto a ativação com hidróxido de potássio não foi eficiente para o processo.

Palavras-chave: biossorção, efluentes têxteis, corantes reativos.

Obtenção de nanocelulose bacteriana através da fermentação de resíduos agroindustriais

LUCIANO M. MACEDO*; SHELEN P. THOMAZ; MARIANA M. F. NASCIMENTO; JULIANA V. M. BITTENCOURT

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, Brasil.

E-mail: *medina.pggebb@gmail.com

Indústrias de transformação e beneficiamento de produtos primários geram diariamente grandes volumes de resíduos lignocelulósicos, que por apresentarem elevada disponibilidade e custo reduzido possuem grande potencial para serem utilizados como matéria-prima voltada para a obtenção de nanocelulose. A nanocelulose é um polímero que possui elevado valor agregado e que pode ser obtida através do processamento físico-químico do resíduo agroindustrial, ou através de processos fermentativos realizados por microrganismos. O objetivo deste trabalho foi comparar a quantidade de nanocelulose obtida a partir de resíduos agroindustriais que possam fornecer nanocelulose tanto através de processos de hidrólise, quanto por processos fermentativos. Amostras de 1Kg de dois tipos de resíduos agroindustriais primários aqui denominados por A e B foram processadas fisicamente, proporcionando um rendimento de nanocelulose com padrão comercial de qualidade de respectivamente 4% e 2%. Posteriormente, testes fermentativos foram realizados com a mesma quantidade dos resíduos fazendo uso de grupos de bactérias grã-negativas existentes na coleção de microrganismos da UTFPR. Nestes testes, os melhores rendimentos em nanocelulose bacteriana com elevado grau de cristalinidade foram de 12% para o resíduo A e 18% para o resíduo B. Via de regra as propriedades das nanoceluloses purificadas a partir da hidrólise de resíduos lignocelulósicos são extremamente dependentes tanto das características da matéria-prima de origem quanto dos métodos de processamento pelos quais esta foi submetida, enquanto que as produzidas por microrganismos apresentam naturalmente elevado grau de pureza e homogeneidade. Apesar dos rendimentos e qualidade da nanocelulose obtida via fermentativa serem muito superiores, a viabilização destes processos em escala industrial são altamente dependentes da capacidade dos microrganismos se adaptarem ao meio de cultura disponível. Por estes motivos, inicialmente deve-se caracterizar os resíduos quanto aos teores de açúcares fermentescíveis e nutrientes específicos, visando determinar as complementações nutricionais necessárias, além de identificar a presença de elementos tóxicos capazes de inviabilizar a utilização de resíduos agroindustriais para a realização de processos fermentativos. A produção de nanocelulose bacteriana vêm de encontro com a busca por fontes alternativas de matérias-primas para reduzir o uso de polímeros derivados de petróleo, enquanto que a otimização de processos fermentativos para a produção de produtos com elevado valor agregado vem de encontro com o desenvolvimento econômico sustentável, capaz de gerar riquezas através do aprimoramento científico e desenvolvimento regional.

Palavras-chave: nanocelulose, processos fermentativos, resíduos agroindustriais, sustentabilidade.

Obtenção de plantas de arroz com níveis alterados de ferro nos grãos através de edição genômica

BETINA DEBASTIANI BENATO^{1*}; FELIPE DOS SANTOS MARASCHIN^{1**}

Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

E-mail: *betinadebastiani@gmail.com, **felipe.maraschin@ufrgs.br

Segundo a OMS, a deficiência de ferro é a causa mais comum de anemia no mundo, acometendo cerca de 1,62 bilhões de pessoas. No Brasil, aproximadamente 3 milhões de crianças menores de 5 anos apresentavam anemia em 2006. O RS é o maior produtor de arroz do país e possui caracteristicamente solos ácidos ricos em ferro. O pH baixo aumenta disponibilidade do ferro para as raízes e leva inclusive a sintomas de toxicidade nas plantas de arroz. Mesmo com a alta disponibilidade de ferro para as plantas, os grãos de arroz acumulam muito pouco deste mineral. Desta forma, é essencial elucidar os mecanismos que levam ao aporte de ferro para as sementes com vistas de viabilizar a biofortificação do arroz. Os genes OsVIT1 e OsVIT2 são altamente expressos em folhas bandeira e regulam o transporte de Fe e Zn através do tonoplasto até os vacúolos. Mutantes perda-de-função para cada um dos genes apresentaram acúmulo de Fe e Zn em sementes, tornando-os bons alvos para edição genética visando a biofortificação de arroz. Diante disso, o objetivo do presente trabalho é gerar mutante duplo, perda-de-função simultânea para os genes OsVIT1 e OsVIT2, utilizando a tecnologia de edição gênica mediada por CRISPR/Cas9. Para isso é necessário a construção de um plasmídeo contendo os cassetes para a expressão em células vegetais da enzima Cas9 e o sgRNA que guia o corte da enzima no genoma da planta. A seleção da sequência alvo do RNA guia foi baseada em um alinhamento dos genes OsVIT1 e OsVIT2 buscando-se uma região exclusiva e compartilhada entre os dois genes dentre todo o genoma do arroz. Desta forma foi sintetizado apenas um RNA guia para a edição de ambos genes. O RNA guia (sgRNA -VIT1/VIT2) foi inserido no vetor pH7Cas9U3pgRNA. Calos de arroz foram transformados utilizando *Agrobacterium tumefaciens* e se encontram em processo de seleção e regeneração. As plantas obtidas serão avaliadas quanto à presença das mutações nos locus de VIT1 e VIT2 e, se confirmadas, possibilitarão estudos pioneiros sobre os efeitos da perda de função simultânea destes genes na alocação de ferro para as sementes.

Palavras-chave: ferro, arroz, biofortificação, CRISPR.

Otimização da transformação genética de *Eucalyptus* por bombardeamento de partículas

BRYAN J. P. SOLIS^{1**}; LUÍSA M. RAMOS¹; PAULO A. K. X. M. SILVA³; GIANCARLO PASQUALI²; ELIANE R. SANTARÉM^{1*}; LEANDRO V. ASTARITA¹

¹ Pontífica Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Porto Alegre, RS.

² Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Biotecnologia, Porto Alegre, RS. ³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Porto Alegre, RS.

E-mail: *esantarem@pucrs.br, **bryan.solis@acad.pucrs.br

A utilização de micropartículas de tungstênio cobertas com DNA e submetidas a uma rápida descarga de alta pressão de gás hélio é o principal meio de introdução de genes em tecidos vegetais que independe da ação viral ou bacteriana e, portanto, não limitase ou depende da relação patógeno-hospedeiro, espécies e genótipos. A transformação genética de explantes de *Eucalyptus* mediada por agrobactérias é bastante ineficiente para a maioria das espécies e clones deste gênero arbóreo e, por isso, o estabelecimento de um protocolo eficiente por meio do acelerador de partículas “*Particle Inflow Gun*” para modificar geneticamente eucalipto é uma alternativa, embora também desafiador. Fatores como a substância utilizada para a lavagem e a ressuspensão de micropartículas, a concentração de micropartículas e de DNA plasmidial, assim como a distância percorrida pelas partículas, o tipo de tecido vegetal exposto ao bombardeamento, o número de disparos realizados no tecido vegetal e a utilização de um anteparo para dispersar as partículas foram considerados como limitantes para estabelecer um protocolo ideal. Assim, foram testados dois tratamentos com duas distâncias (A1~12 cm; A2~10 cm) e número de disparos (T1: um disparo; T2: dois disparos) distintos nos tecidos utilizados (segmentos nodais de eucalipto e calos de orquídea). Concentrações de tungstênio (50 mg em 500 µL de água estéril) e de DNA plasmidial contendo o gene *GUS* como repórter (em média 250 ng/µL por bombardeamento) foram utilizadas nos experimentos. Paralelamente, análise histológica dos tecidos bombardeados foi realizada. O bombardeamento de calos de orquídea como tecido controle com os tratamentos A2T1 e A2T2 resultou em células com expressão do gene repórter e esses tratamentos foram então aplicados em eucalipto. A análise histológica dos explantes de eucalipto demonstrou baixa frequência de partículas no tecido, com penetração apenas nas células mais superficiais dos explantes. Além disso, as partículas encontravam-se em grandes aglomerados, o que pode ter interferido na eficiência da expressão do gene introduzido. A ausência de expressão do gene *GUS* e o estudo histológico em tecidos de eucalipto levaram a modificações na metodologia como a retirada do anteparo, o aumento da concentração de DNA plasmidial, o aumento da pressão de disparo e a utilização de calos como explantes-alvo para a introdução do DNA. Esses testes estão em andamento para que seja estabelecido um protocolo mais eficiente de transformação.

Palavras-chave: eucalipto, transgenia, biobalística, expressão transiente.

Potenciais aplicações de nanopartículas magnéticas em biotecnologia: desafios e oportunidades

MARCEL MARTINS^{1,2*}; LUNA POLIDO¹; LUCIANA CARVALHEIRA¹; LIZANDRA ALVES¹; ADRIANA TEIXEIRA¹; PRISCILLA FINOTELLI^{2**}

¹ Magtech Soluções em Nanopartículas Magnéticas Ltda; ² Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

E-mail: *marcel.martins@magtechbrasil.com.br, **pfinotelli@gmail.com

As áreas de nanotecnologia e biotecnologia têm sido identificadas nos últimos anos como uma tendência mundial de avanço tecnológico. Estas áreas são classificadas como estratégicas principalmente no desenvolvimento de soluções inovadoras relacionadas à saúde humana. Neste contexto, uma inovação em evidência é o desenvolvimento de sistemas teranósticos, ou seja, que acumulam tanto a funcionalidade de diagnóstico quanto a de tratamento, facilitando procedimentos médicos e melhorando a eficiência e seletividade de aplicações tradicionais. Dentre estes sistemas, nanopartículas magnéticas de magnetita têm sido extensamente investigadas, tendo suas propriedades magnéticas vinculadas cada vez mais a aplicações biomédicas. Neste sentido destaca-se o efeito de contraste em imagens por ressonância magnética e a capacidade de liberação de calor quando submetidas a um campo magnético alternado. Portanto, estas partículas podem ser aplicadas no diagnóstico de doenças específicas e a hipertermia magnética do material pode ser aplicada para tratamento de câncer, por exemplo. Síntese de nanopartículas de magnetita (NPM) foi realizada pelo método de coprecipitação. As amostras foram caracterizadas por diferentes técnicas, dentre as quais se destacam, difração de raios-x (DRX), microscopia eletrônica de transmissão (MET), magnetização (SQUID) e hipertermia magnética. Além disso, foi avaliada a viabilidade de marcação celular de células mesenquimais pelas nanopartículas. As nanopartículas obtidas apresentaram boa estabilidade em solução aquosa, diâmetro médio de 12,0 nm, magnetização de saturação de 76,0 emu.g⁻¹ (a 300 K) e se demonstraram promissoras para internalização em células mesenquimais, bem como apresentaram taxa de liberação de calor, ao se aplicar um campo magnético alternado, compatível a aplicações biológicas. Em suma, a obtenção do sistema magnético nanoparticulado apresenta potencial de aplicações em marcação celular permitindo, diagnóstico por ressonância magnética; além de terapia oncológica, por hipertermia magnética. Vale resaltar que estes nanosistemas podem ser aprimorados por encapsulamento em polímeros (incremento de biocompatibilidade), adição de biomarcadores (incremento em seletividade) e combinação com drogas ou ativos (sinergia de efeitos).

Palavras-chave: nanopartículas magnéticas, magnetita, teranóstico, ressonância magnética nuclear, hipertermia magnética.

Potencial antioxidante de hidrogel contendo (1→6)-β-D-glucana (Lasiodiplodana)

CANDIDA NISSOLA^{1**}; ANELI DE M. BARBOSA-DEKKER²; ROBERT F. H. DEKKER³; GABRIELLE C. CALEGARI⁴; MARCELO L. K. MARCHIORO⁴; VIDIANY A. Q. SANTOS⁴; MÁRIO A. A. DA CUNHA^{1,4*}

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Dois Vizinhos, PR – ² Universidade Estadual de Londrina – Departamento de Química, Londrina, PR; ³ Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Departamento de Engenharia Ambiental, Londrina, PR; ⁴ Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Departamento de Química, Pato Branco, PR.

E-mail: *mcunha@utfpr.edu.br, **candida.nissola@gmail.com

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um hidrogel cicatrizante contendo lasiodiplodana e avaliação de seu potencial antioxidante frente a diferentes protocolos analíticos. Lasiodiplodana é uma glucana extracelular do tipo (1→6)-β-D-glucana, que é produzida pelo ascomiceto *Lasiodiplodia theobromae* MMPI. Nas últimas décadas as β-glucanas têm recebido especial atenção por suas funcionalidades biológicas, que incluem atividade antitumoral, antiinflamatória, antioxidante, antimutagênica, hipocolesterolêmica, hipoglicêmica entre outras. O potencial antioxidante das β-glucanas associado a outras funcionalidades biológicas pode representar uma ferramenta terapêutica na prevenção do estresse oxidativo através da via tópica. Um hidrogel contendo 5% de lasiodiplodana (LAS) como princípio ativo foi formulado e a atividade antioxidante da formulação foi avaliada através da determinação da capacidade de captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), atividade de sequestro do radical hidroxila (OH•) e poder antioxidante redutor férrico (FRAP). O produto contendo LAS foi testado nas proporções de 7%, 10%, 12% e 15%. O hidrogel apresentou elevado potencial antioxidante frente ao radical hidroxila, sendo capaz de remover 60,7% do radical OH• na menor concentração avaliada (7%). Também foi verificada atividade antiradicalar do hidrogel contra o radical DPPH, o qual foi capaz de remover 13,6% deste radical, quando testado na concentração de 10%. Em relação a capacidade redutora sobre o íon férrico, não foi verificada uma atividade proeminente (1,44 mM de Sulfato Ferroso equivalente/mL, na concentração de 7%). O hidrogel contendo lasiodiplodana demonstrou habilidade antioxidante, o que associado a outras propriedades biológicas da LAS, já descritas na literatura científica, sugere que a lasiodiplodana apresenta potencial para ser usada como princípio ativo em formulações dermatocósméticas de uso tópico.

Palavras-chave: biopolímero, exopolissacarídeos, cicatrização, formulação farmacêutica.

Prevalência de *Mycoplasma hyopneumoniae* em amostras de tecido pulmonar coletadas no estado do Rio Grande do Sul

VIOLETTA D. PACCE^{**}; NATASHA R. DE OLIVEIRA; SÉRGIO JORGE; ODIR A. DELLAGOSTIN^{*}

Laboratório de Vacinologia, Núcleo de Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas.

E-mail: ^{*}odirad@gmail.com, ^{**}violettapacce@gmail.com

O *Mycoplasma hyopneumoniae* é o agente causador da Pneumonia Enzootica Suína (PES), doença mundialmente distribuída e altamente prevalente, que gera grandes perdas econômicas para a indústria suinícola. Nos animais infectados, a severidade dos sinais clínicos variam com a virulência da cepa, o número de microrganismos presentes, ocorrência de infecções secundárias e condições de manejo. A progressão da doença é caracterizada pela redução das taxas de conversão alimentar e o desenvolvimento de lesões pulmonares. O diagnóstico da PES é realizado principalmente através do método de ELISA, porém técnicas moleculares mais específicas e sensíveis também podem ser empregadas. Visto que há pouca informação sobre a epidemiologia da PES no sul do Brasil, o objetivo do presente trabalho foi determinar a prevalência de *M. hyopneumoniae* em amostras de pulmão suíno e avaliar o *score* de lesões pulmonares causadas pelas cepas locais. Um total de 120 amostras de pulmões de suínos oriundos de diferentes granjas do estado do Rio Grande do Sul foram coletadas em frigorífico, processadas e analisadas. O DNA foi extraído do tecido pulmonar com o kit Wizard[®] Genomic DNA Purification (Promega). *Nested*-PCR foi realizado com a utilização de dois pares de *primers* que amplificam regiões de 649 pb e 352 pb do gene do RNA ribossomal 16S de *M. hyopneumoniae*. Os pulmões foram inspecionados e lesões macroscópicas sugestivas de *M. hyopneumoniae* foram categorizadas de acordo com método previamente descrito (Hannan et al., 1982). Os resultados demonstraram 95,8% de amostras positivas para o patógeno através do *nested*-PCR. A inspeção pulmonar mostrou lesões sugestivas da PES em 60% das amostras. A detecção de amostras positivas no *nested*-PCR foi associada com a presença de lesões sugestivas ($P < 0,01$). A utilização de *nested*-PCR com a inspeção pulmonar mostrou-se uma ferramenta útil para o monitoramento da infecção e na diferenciação de animais convalescentes e portadores saudáveis. Os dados obtidos neste trabalho demonstram a alta prevalência da PES em granjas do RS. Futuramente, a caracterização genética das amostras positivas permitirá avaliar o perfil das cepas de *M. hyopneumoniae* circulantes nos animais abatidos no sul do país, o que permitirá orientar a implantação de medidas adequadas de controle da infecção.

Palavras-chave: Pneumonia Enzootica Suína, *nested*-PCR, lesões pulmonares.

Produção de 2,3-butanodiol a partir de simulação de hidrolisados lignocelulósicos: um estudo com *Enterobacter aerogenes*

PAULO H. TONIN^{*}; VICTORIA M. BASCHERA; CAROLINE ROSSI; MAURICIO M. DA SILVEIRA

Universidade de Caxias do Sul - UCS.

E-mail: ^{*}phtonin1@ucs.br

Hidrolisados de materiais lignocelulósicos são ricos em xilose e glicose. Estes açúcares podem ser fermentados a 2,3-butanodiol (2,3-BDO) por microrganismos como *Enterobacter aerogenes*. O 2,3-BDO é uma matéria-prima em potencial para a obtenção de produtos como butadieno, aditivos para combustíveis e agentes anticongelantes, entre outros. Este trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento celular e a produção de 2,3-BDO em cultivos de *E. aerogenes* ATCC13048 em meio contendo xilose e glicose em concentrações semelhantes às encontradas na fração rica em pentoses de hidrolisados lignocelulósicos. Os cultivos foram realizados utilizando-se 65 g/L de xilose e 10 g/L de glicose, em biorreator de bancada New Brunswick, modelo BioFlo/Celligen 115, a 37°C, pH 5,5, frequência de agitadores de 700 rpm e fluxo de ar de 2 L/minuto. Os açúcares foram quantificados por métodos colorimétricos e os produtos de fermentação por cromatografia em fase líquida de alto desempenho (HPLC). Nos cultivos, observou-se a ocorrência de diauxia, com a glicose sendo consumida preferencialmente. A concentração de 2,3-BDO alcançou 11 g/L e a de células 8,8 g/L. O rendimento em 2,3-BDO em relação ao máximo teórico (30,1%) pode ser considerado baixo, de acordo com estudos do próprio grupo de pesquisa com outros substratos, como glicerol e glicose, nas mesmas condições. Por outro lado, a conversão em biomassa atingiu níveis semelhantes aos previamente descritos com as outras fontes de carbono. O baixo rendimento em produto pode ter relação com as concentrações dos carboidratos usados. Por se tratar de um microrganismo anaeróbio facultativo, *E. aerogenes* apresenta uma fase de crescimento exponencial em presença de concentração de oxigênio dissolvido acima do seu valor crítico, seguindo-se uma etapa de fermentação, com produção de 2,3-BDO, sob limitação de oxigênio. No entanto, ao final da fase com alta concentração de oxigênio dissolvido, a glicose já havia se esgotado e a produção se deu essencialmente a partir da xilose. Considerando que, estequiometricamente, os máximos fatores de conversão de substrato em produto para a glicose e a xilose (0,50 g/g) e o glicerol (0,49 g/g) são próximos, os resultados sugerem que a xilose não é um substrato adequado para a formação de 2,3-BDO por *E. aerogenes*, ainda que permita um bom crescimento. Desta forma, a obtenção de 2,3-BDO com este microrganismo, poderia ser otimizada em cultivos em batelada alimentada, com a xilose sendo utilizada para o crescimento na primeira fase do processo, seguindo-se a alimentação com outro substrato para a formação do produto.

Palavras-chave: 2,3-butanodiol, *Enterobacter aerogenes*, xilose, glicose.

Produção de células H9c2 mutantes para o estudo da infecção por *Trypanossoma cruzi*

BRUNA EVELYN ROCHA CAMPOS^{1,2*}; RAFAEL LUIS KESSLER¹

¹Instituto Carlos Chagas, FIOCRUZ/PR; ²Universidade Tuiuti do Paraná.

E-mail: *brunaberc@gmail.com

O *Trypanossoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, possui um ciclo de vida bifásico alternando-se entre inseto vetor e hospedeiro mamífero. Pode ser encontrado nas formas amastigotas, epimastigotas, tripomastigotas metacíclicos e tripomastigotas sanguíneo. Acreditava-se que apenas a forma epimastigota não era capaz de infectar o hospedeiro mamífero. Uma descoberta recente mostrou que epimastigotas recém-diferenciados, a partir de tripomastigotas, denominados rdEpi, são infectivos às células de mamíferos, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Com isso surge a necessidade da compreensão de quais os mecanismos de infecção são utilizados por essa forma do parasita. Diversas moléculas estão envolvidas no processo de infecção por *T. cruzi*, dentre muitas podemos citar LAMP-1, EEA1 e Rab5 envolvidas na via endocítica, Actina e Tubulina presentes no citoesqueleto e, LC3 na via de autofagia. A localização celular de proteínas contendo etiquetas fluorescentes permite a visualização, por microscopia de fluorescência, do envolvimento de proteínas de interesse durante um evento celular, sendo importante utilizá-la na avaliação da infecção por rdEpi. A expressão de uma proteína fluorescente normalmente se dá pela utilização de vetores episomais, um método com curto tempo de duração, tendo então a necessidade de transfecção do transgene repetidas vezes. Para evitar esse processo exaustivo a melhor solução é a realização de uma transfecção com integração genômica do transgene, tornando-o estável, evitando assim repetidas transfecções. O objetivo do presente trabalho é obter células H9c2 mutantes expressando versões fluorescentes de proteínas de interesse para o estudo da infecção por rdEpi. Foram produzidos *primers* específicos para as proteínas previamente selecionadas, seguida da amplificação dos genes para inserção no vetor *donor*, transfecção em células H9c2 e padronização dos respectivos métodos. Os pares de *primers* produzidos foram eficazes para os genes de Beta Tubulina e Rab5, sendo necessário novo desenho de *primers* para os genes restantes. Vetores *donor* foram construídos com Beta Tubulina-GFP e Rab5-RFP. As concentrações 10, 5, 2,5 e 1,25 ug de vetor GFP foram transfectadas com PEI em 10⁵ células/poço onde a concentração de 1,25 ug foi a que obteve melhor resultado. O vetor Beta Tubulina-GFP foi transfectado porém não obteve-se resultado consideráveis, tendo então a necessidade do sequenciamento do vetor, que será avaliado. Os métodos estão em processo de padronização, visando obter a maior quantidade de células transfectadas, mantendo a sua integridade para a qualidade da nova linhagem celular.

Palavras-chave: rdEpi, mutação, proteínas fluorescentes, infecção parasitária.

Produção de hidromel com leveduras livres e encapsuladas

RENATO DAHER AUGUSTO STEFFEN¹; NILSON YUGO MATSUO¹; SABRINA ÁVILA RODRIGUES^{2*}

¹ Alunos do Curso de Engenharia Química; ² Professora Orientadora, Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR.

E-mail: *sabrinaavila@utfpr.edu.br

Hidromel é a bebida com graduação alcoólica de 4 a 14% (v/v), 20 °C, obtido pela fermentação alcoólica de solução de mel de abelha, sais nutrientes e água potável. A *Saccharomyces cerevisiae* utilizada no processo fermentativo pode apresentar-se de forma livre ou imobilizada de várias formas. Para este trabalho foram elaboradas duas formulações, a primeira com as células livres no meio fermentativo e a segunda com as células imobilizadas em alginato de sódio a fim de verificar a influência do processo na cinética da fermentação e na qualidade do produto final. Para a imobilização foi feito gotejamento de uma solução de alginato de sódio (2%) com as células de leveduras (80mL) em uma solução de cloreto de cálcio (2%) sob agitação constante. O mosto foi preparado pasteurizando a 60°C por 10min uma mistura de mel e água mineral a 25°Brix. O mosto foi imediatamente resfriado (25°C), adicionado de pólen (1,75%) e acondicionado no frascos para fermentação (7,5 litros volume fermentado). Um frascos foi inoculado com 80mL de solução de células livres e o outro com o preparado de 80mL de leveduras imobilizadas. Foram acoplados tubos para coleta de amostra e válvula airlock. As amostras foram incubadas (9-12°C) e amostras (5mL) foram coletadas duas vezes ao dia durante 34 dias, e após o registro da temperatura do processo enviadas para análise do teor de sólidos solúveis totais. Ao final do processo a amostra com células livres apresentou 13,6 °Brix e a com células imobilizadas 14°Brix. Foram adicionados chips de carvalho e as amostras seguiram para maturação por 120 dias a 5,5°C. Foi possível observar que as amostras apresentaram diferenças na velocidade do processo fermentativo e também nas características físicas e químicas do produto final tais como cor, sabor, presença de gás, sabor alcoólico e aroma.

Palavras-chave: fermentação alcoólica, hidromel, cinética.

Proposta de uma alternativa biotecnológica ao aproveitamento do efluente gerado na produção de farinha de mandioca

ODER HENRIQUE C. RODRIGUES^{1*}; RODOLFO MORESCO^{1**}; MARCELO MARASCHIN^{2***}

¹ Universidade do Vale do Itajaí – UNIVALI, Campus Itajaí, Itajaí, SC; ² Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Centro de Ciências Agrárias, Itacorubi, Florianópolis, SC.

E-mail: *oder_rodrigues@hotmail.com, **moresco@univali.br, ***mtocsy@gmail.com

A manipueira, efluente gerado durante o processo de beneficiamento de raízes de mandioca para a produção de farinha, tem sido apontada como responsável por graves impactos ambientais quando lançada no solo ou em cursos d'água, representando sério risco à saúde pública, às comunidades aquáticas e à manutenção da qualidade ambiental da atividade. Em busca da minimização desses impactos, este trabalho objetivou avaliar o crescimento *in vitro* da microalga *Haematococcus pluvialis* em meio de cultura suplementado com manipueira e determinar o potencial elicitor deste efluente na produção de astaxantina. O meio de cultura de *H. pluvialis* foi suplementado com três concentrações de manipueira (2,5%, 5% e 10% (v/v), para três amostras de efluentes coletados em diferentes municípios do Litoral-Sul de Santa Catarina. As amostras de efluentes foram previamente caracterizados quanto às suas propriedades físico-químicas. Ao longo do experimento foram monitorados: pH; turbidez; teor de clorofila *a* e densidade celular. O potencial elicitor do efluente sobre a biossíntese e acúmulo de astaxantina foi determinado via quantificação daquele pigmento por HPLC ao final do experimento. *H. pluvialis* apresentou maior acúmulo de biomassa quando exposta à manipueira oriunda dos municípios de Jaguaruna e Paulo Lopes, na concentração de 2,5%. As medidas de pH e clorofila *a* mostraram padrões de aumento e declínio correspondentes ao observado na densidade celular. Os conteúdos de astaxantina observados para os tratamentos revelaram o efeito estimulatório da manipueira sobre a biossíntese e acúmulo daquele carotenoide em células de *H. pluvialis*. Os teores de astaxantina detectados nos tratamentos com manipueiras oriundas dos municípios de Jaguaruna e Paulo Lopes, nas concentrações de 2,5% de efluente ($106,1 \pm 7 \mu\text{g/mL}$ e $112,5 \pm 29 \mu\text{g/mL}$, respectivamente) e 5% ($123,8 \pm 15 \mu\text{g/mL}$ e $87,0 \pm 15 \mu\text{g/mL}$, respectivamente) foram estatisticamente superiores ($p < 0.05$) ao controle ($36,6 \pm 4 \mu\text{g/mL}$). É possível afirmar que o aproveitamento da manipueira no cultivo de *H. pluvialis* se mostra uma importante alternativa biotecnológica à minimização dos danos causados por este efluente agroindustrial e à otimização da biossíntese/acúmulo de astaxantina, um pigmento de alto valor agregado.

Palavras-chave: manipueira, potencial elicitor, *Haematococcus pluvialis*.

Propriedades da solução de cloridrato de quitosana modificada com complexo de nano fosfato de cálcio

LUAN R. PAZ^{1**}; LUCIANO PIGHINELLI^{1*}; FERNANDO M. GUIMARÃES²; JÚLIA BROQUÁ¹; LUIZ F. P. KOLLING¹; MARZENA KMIEC¹; PAMELA PERSSON¹; CLÁUDIO M. LISBOA¹; PAULO S. R. DIAS¹; GIOVANI A. PIVA¹

¹ Universidade Luterana do Brasil – ULBRA, Laboratório Biomatter P&D e Inovação de Biomateriais da ULBRA, Canoas, RS, Brasil; ² Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: *pighinelli@gmail.com, **luanr.paz@ulbra.edu.br

As características químicas da quitosana, do β -trifosfato de cálcio (β -TCP) e da hidroxiapatita (HAp) indicam a possibilidade do desenvolvimento de biocompósito de quitosana modificado com nano cerâmica bicomponente como alternativa de biomaterial aplicado a medicina regenerativa e engenharia de tecidos. Para isso, procedeu-se a preparação da solução de cloridrato de quitosana com um teor de polímero de 2% (m/m) em uma solução de 2L com HCl a 0,9% (v/v). O processo de obtenção do sal ocorre através de agitação constante, por meio de misturador, à temperatura ambiente (25°C). Após, foram preparadas duas soluções, B e C, sendo que na solução B foi adicionado 2% (m/m) de β -TCP e na solução C 0,5% (m/m) de HAp. Posteriormente, obtivemos uma terceira solução, formada a partir da mistura das soluções B e C (blenda) na proporção de 2 para 1 (2 partes de B para 1 parte de C, em volume). Seguidamente, foram realizadas as análises de caracterização. O FTIR e MEV indicam que as morfologias dos pós de fosfatos de cálcio comerciais diferem em forma. Também mostrou que os mesmos têm grande capacidade de aglomeração. A análise de tamanho de partícula do β -TCP ficou entre 4.48 – 12.78 μm e da hidroxiapatita (Hap) entre 3.16 – 8.81 μm . No processo de preparação da blenda, misturando duas partes da solução B (contendo β -TCP) em uma parte da solução C (contendo HAp), observou-se uma redução do tamanho de partícula de ambos fosfatos de cálcio para tamanho nano, resultando numa solução de sal de cloridrato de quitosana/ β -TCP/HAp em nano partículas, gerando uma nano cerâmica bicomponente. As análises também indicam que a hidroxiapatita é menos solúvel que o β -TCP. A solução final (BC) apresentou o menor tamanho de partícula e maior estabilidade, na faixa de 12.8 a 58 nm, mostrando uma estabilidade da solução com um potencial zeta de $52,9 \pm 4.0$ mV. Desse modo, observou-se que, ao adicionar a solução de quitosana/ β -TCP na solução de quitosana/HAp os fosfatos de cálcio passaram de escala micro para nano, formando uma solução límpida e com uma grande estabilidade. Este trabalho mostrou um novo método de obtenção de soluções de cloridrato de quitosana modificadas com nano cerâmicas bicomponente e um método prático e fácil de se obter nano partículas de fosfatos de cálcio. Os métodos e produtos derivados tem um grande potencial para elaboração de scafoolds celulares usados em medicina regenerativa e engenharia de tecidos.

Palavras-chave: quitosana, sal de quitosana, nano fosfato de cálcio, biopolímero funcional, aplicações médicas.

***Quillaja brasiliensis* plant cell cultures: growth and saponin content**

YVE V. DA SILVA MAGEDANS^{**}; ANNA C. A. YENDO; ARTHUR G. FETT-NETO^{*}

Laboratory of Plant Physiology, Graduate Program in Botany (PPG BOTANICA), Bioscience Institute (IB) and Center for Biotechnology (CBiot), UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail: ^{*}fettнето@cbiot.ufrgs.br, ^{**}yve.silva@gmail.com

Quillaja brasiliensis Mart. (Quillajaceae) is a native species known as “soap tree”. The purified saponin fraction from its leaves dubbed QB-90 presents pronounced adjuvant activity in experimental vaccines. Reports show QB-90 immunoadjuvant activity is comparable to that of the commercial saponin adjuvant Quil-A, obtained from barks of the Chilean tree *Quillaja saponaria* Molina (Quillajaceae), with the advantage of displaying lower toxicity. As a contribution to the establishment of new sustainable sources of QB-90 and model systems to study its metabolism, this work aimed at defining procedures to develop *Q. brasiliensis* plant cell cultures yielding bioactive saponins. Calli formation was induced from explants inoculated in diluted MS medium supplied with multiple hormonal balances established with auxin and cytokinin combinations. Cultures were grown in darkness at controlled temperature. Five main cell lineages were defined based on explant origin and phenotypic characteristics, such as coloration and degree of friability. Growth curves were obtained on the basis of fresh and dry weight weekly evaluations for 28 days. Significant steady growth increases were recorded for cultures obtained from leaves, under all hormonal conditions. Cell cultures obtained from stem explants grew less, and growth occurred mostly between 7 and 21 days. Lyophilized cell biomass is under evaluation for presence and concentration of saponins using Thin Layer Chromatography (TLC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Data to date indicates that the procedures established were effective for developing *Q. brasiliensis* cell cultures yielding bioactive saponins. (Support: CNPq and CAPES).

Keywords: triterpene saponins, *Quillaja*, immunoadjuvant, cell culture.

Recursos Didáticos Bilíngue Para Pessoas Surdas: inovação para profissionais surdos da área de Biotecnologia

GILDETE DA SILVA AMORIM MENDES FRANCISCO^{*}; SAULO CABRAL BOURGUIGNON^{**}; FERNANDA SERPA CARDOSO^{***}

Universidade Federal Fluminense (UFF).

E-mail: ^{*}gildeteamorin@yahoo.com.br, ^{**}saulocb@globo.com, ^{***}fernandalabiomol@yahoo.com.br

A biossegurança é um forte aliado da biotecnologia para fornecer instrumentos que capacitam os profissionais a lidarem com situações nas quais seu bem-estar e sua saúde podem ser postos em risco. Assim, ela configura-se como uma temática atual, que vem preocupando consideravelmente os docentes, pesquisadores e jovens estudantes, por envolver questões relativas à promoção e prevenção da saúde humana, animal, vegetal e do ambiental, no trabalho que envolve substâncias química, processos físicos e biológicos. Acreditamos que a criação de um aplicativo online juntamente com um dicionário multimídia em rede acessível pela internet, facilitará e consolidará os conhecimentos adquiridos nos cursos pelos profissionais surdos. Por isso, estamos criando um grupo de trabalho para a construção desse material, com a tradução em Libras, que abordará em especial a Contenção, EPI e EPC contendo os sinais mais comumente utilizados pelos profissionais surdos do IOC e da Fiocruz e outras instituições com menor quantidade de funcionários surdos como a UFF. Também iremos publicar material didático de ciências biológicas, em Língua de Sinais, especialmente para capacitar esse público alvo.

Palavras-chave: biossegurança, surdos, Libras, materiais bilíngues, capacitação profissional.

Regeneração de mesocótilos de arroz da cv BR-IRGA 426 submetidos a diferentes tempos de infiltração a vácuo na transformação genética

ANA CLAUDIA O. FREITAS; JULIANA O. CARVALHO; LUCIANA BICCA DODE; AMILTON SEIXAS NETO; RAFAELA FORMOSO; LUCIANO DA S. PINTO*

Laboratório de Bioinformática e Proteômica; Biotecnologia – CDTec; UFPel.

E-mail: *dmpluc@gmail.com

A transformação genética mediada pela *Agrobacterium* pode ser realizada pela infiltração a vácuo em diferentes explantes do arroz, como por exemplo o mesocótilo. No entanto, o uso do vácuo por um período prolongado pode levar à hiperhidricidade e consequentemente comprometer a regeneração do explante. Logo, o objetivo deste trabalho é averiguar a regeneração de mesocótilos de arroz da cv. BR-IRGA 426 em diferentes tempos de exposição ao vácuo durante o processo de transformação. Para isso, as sementes da cv. BR-IRGA 426 foram descascadas e desinfestadas com álcool 70% por 1 min, $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 3% por 20 min e lavadas três vezes com água estéril. Após, as sementes foram inoculadas em meio MS estéril acrescido de sacarose (30 g L^{-1}), mio-inositol (100 mg L^{-1}), ágar (7 g L^{-1}) e ANA (2 mg L^{-1}) e mantidas no escuro por 3 dias a 25°C . Em seguida, os mesocótilos de 0,5 cm foram extraídos. Para a transformação, a cepa de *A. tumefaciens* contendo o vetor pH7WG2D::bvl foi cultivada em LB até uma DO_{600} de 0,7 e centrifugada a 5000 g por 10 min, sendo o pellet ressuspensionado em MS líquido estéril contendo 30 g L^{-1} de sacarose e $150 \mu\text{M}$ de acetoseringona. Os mesocótilos foram imersos na cultura bacteriana e a infiltração foi realizada a vácuo (400 mmHg) durante 0, 1, 2, 3 e 4 min. Os mesocótilos foram inoculados no meio de regeneração composto por MS estéril, sacarose (30 g L^{-1}), mio-inositol (100 mg L^{-1}), ágar (7 g L^{-1}) e BAP (3 mg L^{-1}). O delineamento experimental foi casualizado com cinco tratamentos, dois tempos de avaliação e 3 repetições, sendo cada repetição composta por dez mesocótilos. Como resultado, observou-se que o número de brotos formados (NB) aos 15 dias foi menor nos tratamentos T4 e T5, enquanto que o comprimento do broto primário (CB) não diferiu estatisticamente. Aos 30 dias, o menor CB foi observado no T5 assim como a maior porcentagem de mesocótilos que não regeneraram (16,7%), o que demonstra a influência do tempo de exposição do explante ao vácuo. No entanto, outras análises deverão ser realizadas uma vez que o vetor ou o próprio gene a ser integrado no genoma da planta podem estar interferindo nestes resultados.

Palavras-chave: infiltração, vácuo, transformação, mesocótilo, BR-IRGA 426.

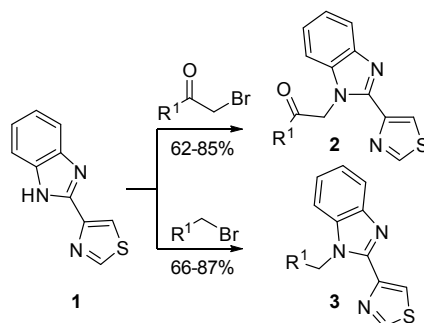
Síntese de tiazolil-1*H*-benzo[*d*]imidazóis utilizando energia de ultrassom

JOSIANE L. D. DA PAZ^{*}; ANA F. BORSOI; KENIA PISSINATE; CRISTIANO V. BIZARRO; LUIZ A. BASSO; PABLO MACHADO^{**}

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose (INCT-TB), Centro de Pesquisa em Biologia Molecular e Funcional (CPBMF), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: ^{*}josiane.delgado@acad.pucrs.br, ^{**}pablo.machado@pucrs.br

O ultrassom está inserido em quatro dos doze princípios da química verde ou química sustentável, são eles: economia atômica, síntese com reagentes de menor toxicidade, eficiência energética com um menor gasto de energia para realização das transformações químicas e segurança nos processos sintéticos visando a prevenção de acidentes. Por esta razão é considerado um procedimento interessante e uma alternativa ao método de aquecimento térmico convencional que utiliza maior quantidade de reagentes e reagentes e um maior tempo de reação. A catálise proporcionada pelas ondas ultrassônicas é proveniente do fenômeno físico baseado no processo de criar, aumentar e implodir bolhas de vapor e gases em um líquido, denominado de cavitação. Assim, no presente trabalho foi proposta a síntese de uma série de derivados do tiazolil-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**1**) utilizando energia de ultrassom com objetivo de desenvolver uma metodologia sintética em acordo com os preceitos da química sustentável.



Esquema 1. Reagentes e condições: *i*) = DMF, K₂CO₃, *ii*), 25 – 110 °C, 15-20 min.

Até o momento quatorze tiazolil-1*H*-benzo[*d*]imidazóis (**2** e **3**) foram obtidos. O procedimento sintético utilizou os agentes alquilantes na presença de carbonato de potássio como base, dimetilformamida como solvente e sonicação por 15 - 20 min (**Esquema 1**). O protocolo forneceu os compostos almejados com 62-87% de rendimento. A simplicidade de execução, o baixo custo dos reagentes e reagentes, tempos de reação diminutos, rendimentos satisfatórios e pureza dos produtos isolados tornam este processo altamente atraente. Além disso, a metodologia possibilitou a criação dos produtos sob condições brandas que facilitam o scale-up do protocolo sintético, se necessário.

Palavras-chave: tiazolil-1*H*-benzo[*d*]imidazol, ultrassom, síntese.

Sistema de ajuste automático da osmorregulação em peixes eurialinos

AMANDA W.S. MARTINS^{1**}; EDUARDO N. DELLAGOSTIN¹; WILLIAM B. DOMINGUES¹; TONY L. SILVEIRA¹;
MARIANA H. REMIÃO¹; GABRIEL B. MARTINS²; RICARDO B. ROBALDO²; VINICIUS F. CAMPOS^{1*}

¹ Laboratório de Genômica Estrutural, CDTec, Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas;

² Laboratório de Fisiologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas

E-mail: *fariascampos@gmail.com, **amandawege98@gmail.com

A piscicultura no Brasil movimenta cerca de R\$ 5 bilhões/ano e gera 3,5 milhões de empregos no mercado interno, sendo a região Sul a maior produtora de peixes de cultivo do país. Nos últimos anos a pesquisa científica tem desempenhado importante papel na transferência de conhecimento gerado dentro do laboratório para os criadouros comerciais. As espécies eurialinas, que suportam ampla variação da salinidade da água, recebem maior atenção de criadores em regiões estuarinas, onde a água disponível para utilização na piscicultura apresenta variações constantes na salinidade. O cultivo destas espécies também é uma alternativa em criações continentais, onde são utilizadas águas salobras do subsolo. No entanto, estes animais não podem ser submetidos a grandes desafios osmóticos de forma imediata, fazendo-se necessário períodos de aclimação antes que os peixes de ambientes de água doce sejam transferidos a ambientes salinos, sob pena de redução da produtividade da criação ou mortalidade massiva dos mesmos. Devido a carência em se obter peixes devidamente aclimatados se torna necessário o desenvolvimento de um sistema automático que realize o ajuste de peixes eurialinos a ambientes hiper ou hiposmóticos, visando melhores condições de cultivo. Visto isso, a presente invenção tem como objetivo prover um sistema automatizado de ajuste gradual de osmorregulação em espécies eurialinas a ambientes com diferentes concentrações salinas. O sistema proposto pelo nosso grupo de pesquisa utiliza componentes encontrados em criações de organismos aquáticos. Resumidamente, o mesmo é composto por tanques de criação com recipientes contentores de sal marinho acoplados no seu interior. Conforme o nível da água no interior do tanque aumenta, devido ao acionamento de uma bomba hidráulica que transferirá água entre os tanques, os recipientes com sal são acionados e o sal é diluído, fazendo com que ocorra um ajuste gradual e controlado do teor de sal dissolvido no tanque. A partir deste sistema, foi possível realizar a aclimação de peixes-rei (*Odontesthes humensis*) selvagens em tanques de 1.000 L à salinidade de 10 ppm, permitindo a realização de experimentos laboratoriais pelo nosso grupo de pesquisa. A presente tecnologia de ajuste automático de osmorregulação encontra-se registrado na forma de Patente de Invenção e depositado no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), podendo vir a ser transferida para o setor comercial de cultivo de peixes.

Palavras-chave: aquicultura, piscicultura, salinidade, aclimação, espécies eurialinas.

Solubilidade de filmes de amido obtidos de tubérculos

EDUARDO DOS SANTOS MACEDO COSTA^{**}; LUCIANA BICCA DODE^{*}; PATRÍCIA DIAZ DE OLIVEIRA

Laboratório de Biopolímeros, Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas- UFPel.

E-mail: ^{*}lucianabicca@gmail.com, ^{**}eduardodossantosmacedocosta@gmail.com

O amido é o principal homopolissacarídeo de reserva em plantas, sendo formado por monômeros de D-Glicose unidos através de ligações alfa 1-4 ou alfa 1-6. Os grânulos de amido são formados pela associação de amilose e amilopectina e armazenados. Em solução aquosas de amido aquecidas na temperatura de gelatinização observa-se a transformação irreversível do amido granular em uma pasta viscosa devido a perda da organização molecular. Através do conhecimento destas propriedades, torna-se possível a obtenção de soluções filmogênicas e filmes biodegradáveis a base de amido, possíveis substitutos para polímeros sintéticos e que podem ser usados para diversas finalidades. O objetivo deste trabalho foi desenvolver filmes biodegradáveis de amido de batata doce e inhame e avaliar a solubilidade. Para o preparo das soluções os tubérculos tiveram o amido previamente gelatinizado e utilizou-se 30% da massa amilácea dos tubérculos e 4% de plastificante. As soluções foram mantidas a 95°C durante 30 minutos sob agitação. Após o resfriamento, foi realizado o *casting* das soluções em placas de petri plásticas, incubando-se a uma temperatura de 40°C durante 24h. Foram pesados 10 discos de 20mm de cada filme obtido para o ensaio de solubilidade em água. Cada disco foi depositado em um frasco de Erlenmeyer de 250ml e incubado sob agitação com 50ml de água destilada durante 24h a 25°C com 40 rpm. Os discos foram secos a 40°C em estufa durante 24h e seus pesos aferidos para determinar a porcentagem de massa perdida. As porcentagens de médias de massa perdida nos filmes de batata doce branca e inhame foram de 62,48% e 60,89%. Novos estudos para obtenção de filmes menos solúveis serão realizados com diferentes variedades de batata doce e concentrações de plastificante.

Palavras-chave: biopolímero, biodegradável, plastificante.

Tridimensional comparative anatomy of resin canals in low- and high-resin producing trees of *Pinus elliottii*

FRANCIELE A. NEIS; ANNA C. A. YENDO^{*}; MÁRCIA R. DE ALMEIDA; FERNANDA DE COSTA; ARTHUR G. FETT-NETO

Center for Biotechnology and Department of Botany, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail: ^{*}anna.yendo@gmail.com

In the wood of conifer stems, resin canals synthesize and store resin, one of the major defense mechanisms against herbivores and pathogens and a natural source of terpenes. Terpenes constitute the largest class of secondary metabolites, being used as raw material in various industries. The objective of this study was to verify the existence of correlation between number of canals, porosity, area and internal volume of these secretory ducts and resin production. To evaluate and quantify the three dimensional structure, we used microCT (X-ray Micro-CT Microtomography) scans. Wood cores were sampled from 12 slash pine trees (18 years old). The trees had been characterized in previous studies for resin production, being 6 of high and 6 of low yield. Three wood core samples (5 mm diameter x 18 mm length) were obtained from each tree at breast height and around the stem with an increment borer. Wood cores were soaked in 100% acetone and air-dried to extract any oleoresin residue before imaging. Images from microCT scans were analyzed using FIJI/ImageJ software. Numbers of axial resin canals were significantly higher in the high yield trees when compared to the low yield trees. In addition, the higher yield trees had a greater number of anastomosed canals, a greater frequency of longitudinal canals per core and a larger canal diameter. Besides providing basic information on the morphophysiological basis of resinosis, this study sheds light on how resin canal anatomy is related to resin production phenotypes of trees. Such data may be useful in genotype selection for clonal propagation and/or improvement by breeding (Support: LNNano - Brazilian Nanotechnology National Laboratory, CAPES, CNPq and Irani Celulose, Brazil).

Keywords: resin canal, terpene, secretory ducts, microCT scan.

Validação de proteínas e mecanismos moleculares envolvidos na resistência à cisplatina em células humanas de câncer de pulmão

NATHAN A. CADORE; BRUNA V. MENEGHETTI; CRISTINE DE S. DUTRA; KARINA M. MONTEIRO*

Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

E-mail: *karina@cbiot.ufrgs.br

O câncer de pulmão é o segundo tipo de câncer mais prevalente no mundo e a principal causa de mortes pela doença. O tratamento padrão para pacientes com câncer de pulmão consiste na quimioterapia com agentes como a cisplatina. Porém, a alta incidência de resistência tumoral à cisplatina limita o sucesso do tratamento. Diversos estudos têm utilizado modelos celulares para o entendimento de mecanismo moleculares envolvidos na resistência a cisplatina do câncer. Nesse trabalho foram desenvolvidas linhagens celulares com resistência adquirida à cisplatina (A549-RA), a partir da linhagem parental de adenocarcinoma de pulmão A549. A549-RA foram desenvolvidas a partir da exposição das células parentais a concentrações crescentes de cisplatina (0,1-0,5 μM) por 72 h cada. Ensaio de sulforonamida B foram realizados para comprovar a resistência das linhagens desenvolvidas. A linhagem A549-RA apresentou valor médio de GI_{50} (concentração de cisplatina necessária para inibição de 50% do crescimento) de aproximadamente 7 μM , enquanto as células A549 apresentaram GI_{50} de 2 μM . Os níveis de resistência apresentados sugerem que os modelos gerados são clinicamente relevantes, pois apresentam valores de GI_{50} de 3 a 5 vezes maiores que a linhagem sensível, resultados semelhantes ao encontrados em pacientes. Análises proteômicas do grupo identificaram diferença de expressão de proteínas associadas ao estresse oxidativo e estresse do retículo endoplasmático após tratamento com cisplatina como o gene P4HB. Assim, foi analisado o efeito de glutathiona reduzida (GSH) no crescimento das diferentes linhagens. 500 células foram semeadas em placas de 6 poços com a presença ou ausência de 4 mM de GSH no meio de cultura por 10 dia, posteriormente as células foram fixadas e coradas com solução de 6% glutaraldeído e 0,5% cristal violeta. Os ensaios clonogênicos demonstraram maior taxa de crescimento das A549 quando comparadas com A549-RA. Na presença de GSH, apenas uma linhagem resistente apresentou aumento no crescimento, sugerindo uma sobrecarga de espécies reativas de oxigênio que estaria influenciando no crescimento desta linhagem. Análises de respirometria de alta resolução estão sendo realizadas em OROBOROS Oxygraph-2K, onde dados preliminares indicam maior presença de espécies reativas de oxigênio e maior respiração ligada à produção de ATP, e, conseqüentemente maior fosforilação oxidativa nas linhagens resistentes à cisplatina. Os dados obtidos até o momento indicam que as linhagens resistentes utilizam preferencialmente outras formas de obtenção de ATP. Ensaio para analisar o impacto de maior concentração de L-glutamina e análise da diferença de expressão do gene P4HB estão sendo realizados.

Palavras-chave: adenocarcinoma, cisplatina, resistência, glutathiona, respirometria.

Viability of probiotic bacteria encapsulated with ricotta whey and proteic materials

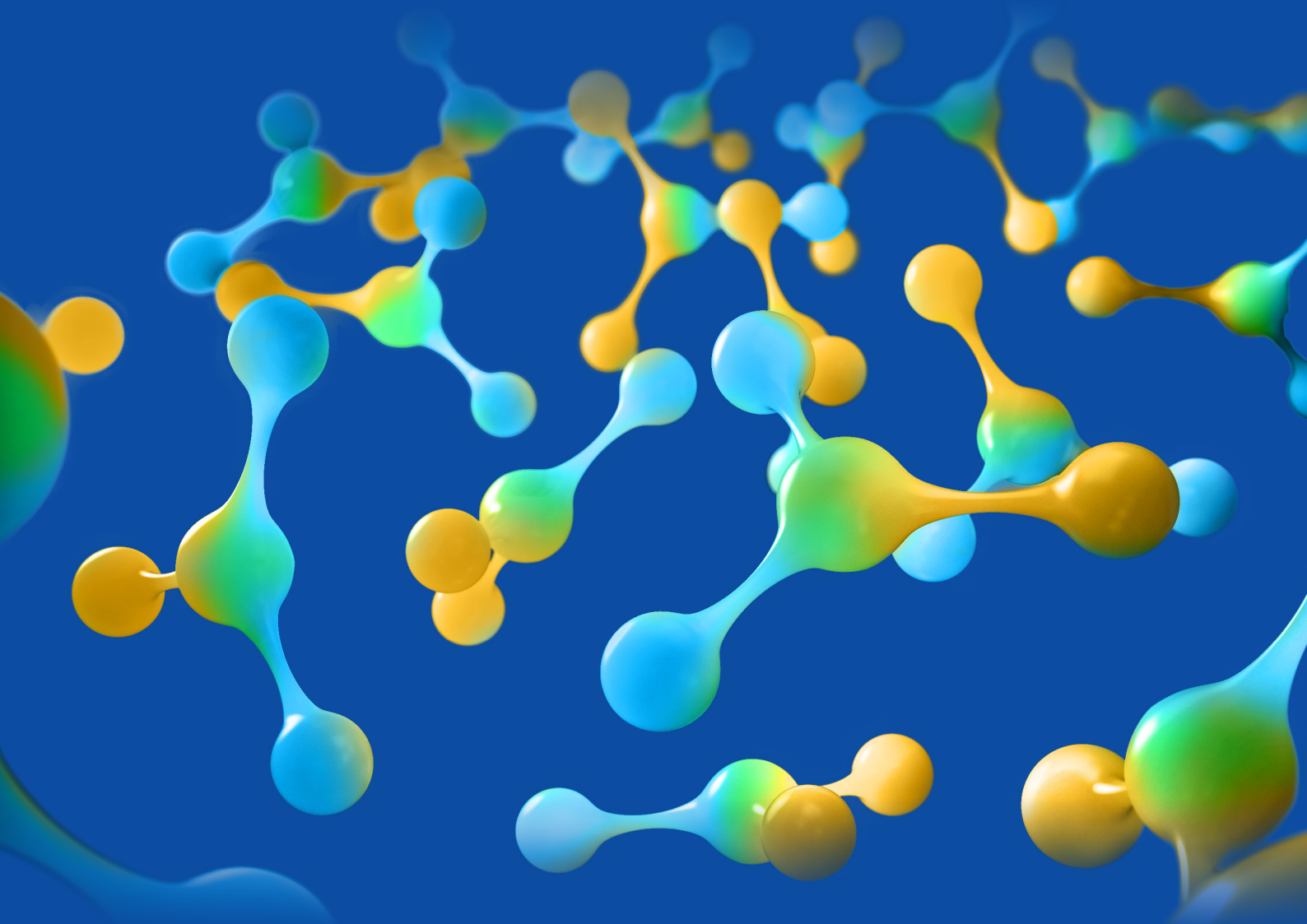
DANIELA DULLIUS; WENDELL DALL'AGNOL; GABRIELA RABAIOLI RAMA; CLAUCIA F. VOLKEN DE SOUZA*

*Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia,
Universidade do Vale do Taquari - Univates, Lajeado, RS, Brazil.*

E-mail: *claucia@univates.br

Foods with probiotic characteristics are those in which there is the addition of an adequate amount of microorganisms that promote health benefits to the consumer. Amongst these microorganisms are lactic acid bacteria (LAB), that can be sensible to adverse conditions of food processing such as oxygen exposure, high temperatures and acidity, as well as the gastrointestinal tract (GIT) conditions. In this sense, it is possible to use encapsulation techniques to induce the formation of a pellicule around the cells, protecting them and hence potentializing their survival to the factors aforementioned. Considering that ricotta whey, a residue from the production of ricotta cheese, is a material with high organic load, of hard treatment and thus extremely pollutive, alternatives for its reuse are made necessary. Furthermore, the objective of this work was to evaluate the efficiency of the encapsulation of the probiotic LAB *Lactobacillus acidophilus* (LA-5)[®] and *Bifidobacterium lactis* (BB-12)[®] through spray dryer technique using the ricotta whey supplemented with protein sources as wall material. These sources were gelatin and hydrolyzed collagen, and they were tested in the proportions of 9:1, 7:3 and 5:5 (% w/w), in order to verify which one allows a lesser reduction in the viability of the LAB after the encapsulation process. The proportion of 7:3 was chosen for LA-5 and 9:1 for BB-12, in which the reductions observed were of 0.46 and 1.26 log CFU/g, respectively. Using these selected wall materials, the LAB were once more encapsulated and, afterwards, tested regarding the survival to the process, to the storage at room temperature and to the simulated GIT. The reduction in the viability after the encapsulation process was of 8.13% for LA-5 and 13.55% for BB-12. After 30 days of storage, the reduction in the microbial concentration was of 7.33% and 3.42%, respectively. The survival rates to the GIT in 0 and 30 days were of 77.44 and 71.07% for LA-5, and 51.05 and 50.60% for BB-12. In the condition of the gastric tract (pH 2), the survival for the encapsulated LA-5 (89.81%) and BB-12 (95.83%) were expressively higher than the 54.78 and 57.27% observed in the same non-encapsulated microorganisms. Therefore, the ricotta whey combined with proteic materials is an encapsulating agent capable of protecting lactic acid bacteria from adverse conditions of the simulated GIT.

Keywords: lactic acid bacteria, spray drying, collagen, gelatin.



Congresso
SulBiotec2018
8 a 10 de agosto 2018 | Canela - RS



www.sulbiotec.com.br