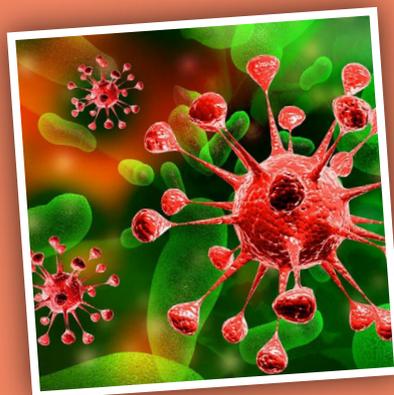


ISBN 978-85-8167-059-1



ANAIS



PPGBIOTEC

**I Mostra de Trabalhos do
Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia**

Claucia Fernanda Volken de Souza | (Coordenadora)
Márcia Inês Goettert, Lucélia Hoehne | (Organizadoras)

EDITORA
UNIVATES

Claucia Fernanda Volken de Souza

(Coordenadora)

Márcia Inês Goettert

Lucélia Hoehne

(Organizadoras)

Anais da I Mostra de Trabalhos do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec)

1ª edição



Lajeado, 2013



Centro Universitário UNIVATES

Reitor: Prof. Ms. Ney José Lazzari

Pró-Reitor de Pesquisa, Extensão e Pós-Graduação: Prof. Ms. Carlos Cândido da Silva Cyrne

Pró-Reitora de Ensino: Profa. Ms. Luciana Carvalho Fernandes

Pró-Reitor de Desenvolvimento Institucional: Prof. Ms. João Carlos Britto

Pró-Reitor Administrativo: Prof. Ms. Oto Roberto Moerschbaeher



Editora Univates

Coordenação e Revisão Final: Ivete Maria Hammes

Editoração: Bruno Henrique Braun e Marlon Alceu Cristófoli

Capa: Bruno Henrique Braun

Conselho Editorial da Univates Editora

Titulares

Augusto Alves

Beatris Francisca Chemin

Samuel Martim de Conto

Simone Morelo Dal Bosco

Suplentes

Ieda Maria Giongo

Rogério Schuck

Ari Künzel

Adriane Pozzobon

Avelino Tallini, 171 - Bairro Universitário - Lajeado - RS, Brasil

Fone: (51) 3714-7024 / Fone/Fax: (51) 3714-7000

editora@univates.br / <http://www.univates.br/editora>

M915 Mostra de Trabalhos do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
(1.: 2013 : Lajeado, RS)

Anais da I Mostra de Trabalhos do Programa de Pós-Graduação
em Biotecnologia, 19 de julho de 2013, Lajeado, RS / Cláucia Fernanda
Volken de Souza (Coord.) - Lajeado : Editora da Univates, 2013.

40 p.:

ISBN 978-85-8167-059-1

1. Biotecnologia 2. Mostra de Trabalhos 3. Anais I. Título

CDU: 57.08:631

Ficha catalográfica elaborada por Nalin Ferreira da Silveira CRB 10/2186

**As opiniões e os conceitos emitidos, bem como a exatidão,
adequação e procedência das citações e referências, são de
exclusiva responsabilidade dos autores.**

Anais da I Mostra de Trabalhos do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec)

REALIZAÇÃO

Centro Universitário UNIVATES

Programa de Pós Graduação em Biotecnologia

APOIO

Centro Universitário UNIVATES

COMISSÃO ORGANIZADORA

Claucia Fernanda Volken de Souza (Coordenadora)

Márcia Inês Goettert

Lucélia Hoehne

APRESENTAÇÃO

Por meio das áreas de concentração **BIOTECNOLOGIA AGROALIMENTAR** e **BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE**, o Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec) tem como objetivo formar recursos humanos qualificados, capazes de gerar e disseminar conhecimentos científicos e tecnológicos voltados à Biotecnologia nas áreas de produção de alimentos e saúde humana e animal, com uma visão integrada das perspectivas socioambientais e econômicas.

A área de **BIOTECNOLOGIA AGROALIMENTAR** visa a desenvolver projetos de pesquisa e aplicá-los na solução de problemas relacionados à produção primária e industrial de alimentos, com foco na formação de recursos humanos capazes de promover o avanço do conhecimento científico e tecnológico na área de alimentos. As linhas de pesquisa desta área são **BIOTECNOLOGIA NA PRODUÇÃO PRIMÁRIA DE ALIMENTOS** e **BIOTECNOLOGIA NA PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE ALIMENTOS**.

Já a área de **BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE** envolve estudos sobre processos fisiológicos e patológicos, buscando ampliar os conhecimentos acerca de doenças humanas e animais, além do desenvolvimento de tecnologias para auxílio, diagnóstico e tratamento. As linhas de pesquisa desta área são **DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS** e **ASPECTOS MOLECULARES EM PROCESSOS FISIOPATOLÓGICOS**.

Nesse contexto, a **I Mostra de Trabalhos do PPGBiotec** objetivou promover a divulgação dos resultados dos primeiros trabalhos de pesquisa que estão sendo desenvolvidos pelos alunos e professores do Programa. Os trabalhos foram selecionados pela Comissão Organizadora e apresentados na forma de pôsteres, além de uma breve explanação pelo aluno autor do trabalho, no espaço Arte B, no prédio 9 no dia 19 de julho de 2013, às 14h30 min, após a inauguração das instalações dos laboratórios de Biotecnologia localizados no terceiro andar do prédio 8, com a participação de professores e Reitoria da Univates.

Comissão organizadora

SUMÁRIO

Aplicação de soro de ricota na elaboração de bebida láctea fermentada funcional.....	8
Cláudia Schlabitz, Lucélia Hoehne, Cláucia Fernanda Volken de Souza	
Associação não significativa entre um polimorfismo no gene <i>IL-6</i> e perfil antropométrico em uma amostra de indivíduos saudáveis.....	10
Rafaela Mundstock de Azevedo Bastian, Luana Maria Wollinger, Crislene Aschebrock Sippel, Verônica Contini, Simone Morelo Dal Bosco, Júlia Pasqualini Genro	
Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de plantas nativas ou adaptadas do RS frente à <i>Listeria monocytogenes</i>	12
Greici Raquel Wildner, Eduardo Miranda Ethur	
Avaliação da influência de polimorfismos no gene <i>BDKRB2</i> e de fatores ambientais sobre variações nos níveis de pressão arterial em uma amostra de adultos saudáveis	14
Janine Giovanella, Camile Wunsch, Luana Maria Wollinger, Rafaela Mundstock de Azevedo Bastian, Crislene Aschebrock Sippel, Simone Morelo Dal Bosco, Júlia Pasqualini Genro, Verônica Contini	
Caracterização genotípica de <i>Escherichia coli</i> e <i>Klebsiella spp.</i>, isolados em um hospital do interior do Rio Grande do Sul	16
Johan Prediger; Adriane Pozzobon; Georgia Muccillo Dexheimer; Bruna Cristina Jordon; Henrique Sulzbach de Oliveira; João Pedro Kipper; Raul Antônio Sperotto; Luciana Weidlich	
Imobilização de β – galactosidase em suporte comercial Immobead 150	18
Ruan da Silva Rafael, Adriano Gennari, Daniel Lehn, Rafael Costa Rodrigues ² , Raul Antônio Sperotto, Cláucia Fernanda Volken de Souza	
Investigação do papel de polimorfismos na região cromossômica 9p21 em uma amostra de pacientes submetidos ao exame de cateterismo cardíaco	20
Kátia Gerhardt, Pricila Girardi, Fernanda Oliveira Diefenthaler, Camile Wunsch, Luciana Weidlich Marcelo Emylio Arndt, Verônica Contini	
Investigação do papel dos polimorfismos rs7903146 e rs12255372 do gene <i>TCF7L2</i> em marcadores bioquímicos de gravidade do Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) em uma amostra de indivíduos adultos com DM2.....	22
Cristiane dos Santos Costa, Crislene Aschebrock Sippel, Claudete Rempel, Simone Morelo Dal Bosco, Verônica Contini, Julia Pasqualini Genro	
Investigação do papel dos polimorfismos rs7903146 e rs12255372 do gene <i>TCF7L2</i> em parâmetros nutricionais e bioquímicos em uma amostra de indivíduos adultos saudáveis.....	24
Crislene Aschebrock Sippe, Luana Maria Wollinger, Rafaela Mundstock de Azevedo Bastian, Janine Giovanella, Verônica Contini, Julia Pasqualini Genro, Simone Morelo Dal Bosco	
Investigação do polimorfismo C936T do gene VEGF em pessoas com diabetes mellitus tipo 2: relação com polineuropatia distal diabética.....	26
Melissa M. Ghisleni; Bruna Jordon; Claudete Rempel; Júlia P. Genro; Vanderlei Biolchi; Adriane Pozzobon	

Investigação do polimorfismo rs9939609 do gene <i>FTO</i> em relação à obesidade	28
Adriana Regina Bitello, Jéssica Mazutti Penso, Crislene Aschebrock Sippel, Luana Maria Wollinger, Rafaela Bastian, Janine Giovanella, Cristiane Costa, Júlia Pasqualini Genro, Verônica Contini, Simone Morelo Dal Bosco	
Obtenção e estudo das propriedades funcionais de hidrolisados enzimáticos de minhoca (<i>Eusemia andrei</i>).....	30
Mariano Rodrigues, Lucélia Hoehne, Eduardo Miranda Ethur	
Produção de ácido láctico a partir do resíduo de isolado proteico de soja	32
Ruthineia da Luz Funke, Daniel Lehn, Simone Morelo Dal Bosco	
Produção enzimática de fungos filamentosos e a sua influência sobre ácaros praga e predadores (acari) da cultura da videira	34
Cláudia Andréia Gräff, Cláucia Fernanda Volken de Souza, Noeli Juarez Ferla	
Seleção de leveduras <i>Kluyveromyces spp.</i> para a produção de bioetanol a partir do soro de ricota.....	36
Élvio Leandro Burlani, Angélica Vincenzi, Mônica Jachetti Maciel, Daniel Lehn, Eniz Conceição Oliveira, Giandra Volpato, Júlia Elisabete Barden, Cláucia Fernanda Volken de Souza	
Variação na composição química de folhas de erva-mate e sua influência no enriquecimento de um produto farináceo com extrato da planta.....	38
Christiane Faccin, Letícia Rodrigues Vieira, Norton Dametto, Elisete Maria de Freitas	

Aplicação de soro de ricota na elaboração de bebida láctea fermentada funcional

Cláudia Schlabitz, Lucélia Hoehne, Cláucia Fernanda Volken de Souza¹

¹Univates

E-mail: cschlabitz@universo.univates.br

Palavras-chave: Bebida láctea. Alimento funcional. Probiótico. Antioxidante.

Introdução

As indústrias de laticínios geram grande quantidade de resíduos, principalmente o soro de queijo e de ricota, que são altamente poluentes. Em busca de redução dos custos de tratamento do efluente, foram criados produtos que possibilitassem a utilização do soro. A elaboração de bebidas fermentadas tem sido uma alternativa para seu emprego. Por possuir alto teor de lactose, o soro de ricota é de fácil fermentação, sendo uma matéria-prima acessível para elaboração de bebidas fermentada¹.

Dessa forma, este trabalho objetiva desenvolver diferentes formulações de bebida láctea fermentada funcional utilizando soro de ricota *in natura* produzido em laticínios da região, prebióticos(s), probióticos(s) e antioxidante(s); determinar sua vida de prateleira através de análises físico-químicas e microbiológicas; estudar suas propriedades antioxidantes através de voltametria cíclica e frente ao radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH); e avaliar sua aceitação mediante análise sensorial.

Material e Métodos

As 11 formulações de bebida láctea serão produzidas de acordo com o planejamento experimental, conforme Figura 1.

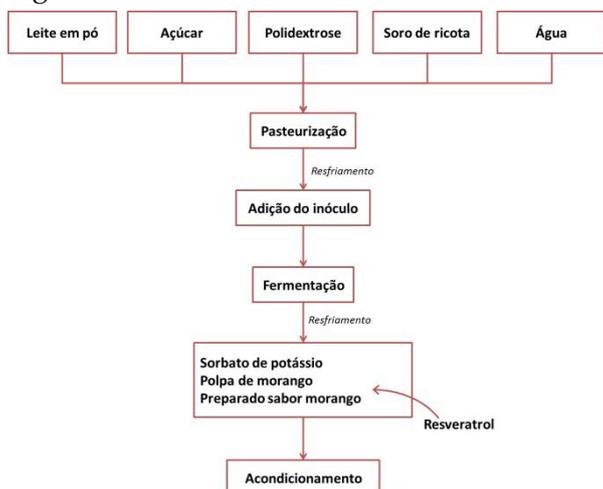


Figura 1: Fluxograma de fabricação da bebida láctea

As formulações serão submetidas a análises físico-químicas de pH, acidez, proteína, gordura, lactose, cinzas e minerais, perfil reológico e análises microbiológicas de coliformes a 36° e a 45°C e contagem dos grupos específicos de bactérias lácticas (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* e *S. termophilus*). As amostras serão armazenadas por 45 dias para a avaliação do *shelf life*.

Resultados preliminares

Testes iniciais indicaram que é possível a adição de soro de ricota até 70% na bebida láctea. O delineamento experimental possibilitará a avaliação do efeito das diferentes formulações sobre as características das amostras. Após a caracterização físico-química e microbiológica e análise sensorial das bebidas lácteas será possível definir a melhor concentração de cada um dos ingredientes e do soro de ricota de forma a produzir um produto agradável ao consumidor e de acordo com a legislação vigente² e determinar a atividade antioxidante desta bebida.

Resultados esperados

A partir das metodologias empregadas, espera-se possibilitar a utilização de soro de ricota na produção de bebidas lácteas funcionais que atendam aos requisitos dispostos na legislação e com qualidades sensoriais aceitas pelos provadores, e o desenvolvimento de uma metodologia para a determinação da atividade antioxidante em alimentos por voltametria cíclica.

¹ TEIXEIRA, Stella Magda Bitencourt. **Elaboração de bebida láctea fermentada utilizando soro de ricota**. 2002. 63 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

² BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 16, de 23 de agosto de 2005. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Bebida Láctea. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 23 de ago. 2005.

Agradecimentos

ABM Indústria de Suplementos Alimentares Ltda

Centro Universitário UNIVATES

Empresa Comercial Lacmax Ltda

Associação não significativa entre um polimorfismo no gene *IL-6* e perfil antropométrico em uma amostra de indivíduos saudáveis

Rafaela Mundstock de Azevedo Bastian¹, Luana Maria Wollinger¹, Crislene Aschebrock Sippel¹, Verônica Contini¹, Simone Morelo Dal Bosco¹, Júlia Pasqualini Genro¹

¹Univates

E-mail: rafabastian@hotmail.com

Palavras-chave: Gene *IL-6*. Gene *IL-6R*. Polimorfismo. Dieta. Obesidade.

Introdução

A obesidade é uma doença crônica de origem multifatorial e pode ser definida como um aumento no acúmulo de gordura corporal, porém o tecido adiposo não é apenas um órgão de estoque. Estudos têm demonstrado que o tecido adiposo branco tem papel como produtor de certas substâncias bioativas como as adiponectinas, dentre as quais a interleucina-6 (*IL-6*), com funções inflamatórias¹. A *IL-6* é uma citocina com importantes funções, tanto na imunorregulação quanto em eventos não-imunes, em uma variedade de tipos celulares e tecidos fora do sistema imune². Tem efeito pró-inflamatório, secretada por vários tipos de células, incluindo leucócitos e células endoteliais, tecido muscular e adiposo³. O gene da *IL-6* está localizado no cromossomo humano 1q21⁴, uma região que apresenta relação com dislipidemia, síndrome metabólica e diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). O estudo teve como objetivo investigar a relação entre a dieta e o polimorfismo rs2069845 do gene *IL6* sobre marcadores biológicos do metabolismo.

Material e Métodos

A amostra foi composta por 206 indivíduos. O perfil antropométrico e bioquímico dos indivíduos foram analisados. O polimorfismo rs2069845 do gene da *IL-6* foi genotipado por PCR em Tempo Real. Efeitos genéticos do alelo de risco (G) e os parâmetros antropométricos e bioquímicos dos sujeitos foram analisados por análise de variância ANOVA.

Resultados e discussão

A amostra foi composta por 158 (76,7%) mulheres e 48 (23,3%) homens. A idade média dos indivíduos foi de 25 anos (± 7). Os perfis antropométricos e bioquímicos foram classificados como normais. Homens e mulheres diferenciaram significativamente em peso ($p < 0,0001$), IMC ($p = 0,0001$), circunferência da cintura ($p < 0,0001$), percentual de gordura ($p < 0,0001$), glicose em jejum ($p < 0,0001$) e níveis de HDL-colesterol ($p < 0,0001$). A frequência dos alelos do polimorfismo do *IL-6* foi de 0,55 (A) e 0,45 (G). Não foram detectados efeitos significativos do alelo de risco (G) nos perfis antropométricos e bioquímicos.

Conclusão

Os resultados não suportam um papel significativo do polimorfismo rs2069845 do gene *IL-6* nos parâmetros antropométricos e bioquímicos de indivíduos saudáveis. No entanto, estudos adicionais são necessários, uma vez que o tamanho amostral ainda é pequeno e uma única variante no gene foi investigada.

¹ Fernandez-Sanches, A. et al. **International Journal of Molecular Sciences** 2011, 12.

² Ishihara, K. et al. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2002, 13.

³ Steemburgo, T. et al. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* 2009, 53.

⁴ Storlien, L. et al. **Diabetes** 1991, 40.

Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de plantas nativas ou adaptadas do RS frente à *Listeria monocytogenes*

Greici Raquel Wildner¹, Eduardo Miranda Ethur¹

¹Univates

E-mail: greiciraquel@yahoo.com.br

Palavras-chave: *Listeria monocytogenes*. Listeriose. Atividade antimicrobiana.

Introdução

A família Myrtaceae é bastante interessante do ponto de vista químico e farmacológico, e muitas espécies desta família são úteis ao homem. O gênero *Eugenia*, um dos maiores desta família e o gênero *Psidium*, a qual pertencem as plantas selecionadas para a realização deste trabalho, chama a atenção pelo seu potencial terapêutico¹. Atualmente as doenças transmitidas por alimentos são uma grande preocupação em todo o mundo, devido ao grande número de patógenos responsáveis por infecções entéricas graves, podendo-se citar *Listeria monocytogenes* como um dos mais importantes patógenos veiculados por alimentos². Conhecida como Listeriose, a doença é caracterizada por casos de gastroenterites, septicemia, meningite e meningoencefalite³.

Material e Métodos

Para avaliação da atividade antioxidante, realizou-se ensaio espectrofotométrico baseado no princípio de redução do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH). Já a avaliação do potencial antimicrobiano, realizou-se através do ensaio da Concentração Inibitória Mínima (CIM), avaliada pela técnica de microdiluição em caldo, com posterior determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM), onde foram considerados os seguintes critérios: o crescimento do microrganismo no meio de cultura significa ação bacteriostática; e a ausência de crescimento do microrganismo no meio de cultura significa ação bactericida.

Resultados e discussão

Os resultados obtidos demonstram que em relação à atividade antioxidante, os decoctos demonstram uma atividade superior aos extratos etanólicos, exceto *Eugenia arenosa*, que demonstrou maior atividade frente ao extrato etanólico, conforme figura 1. Comparando com o ácido ascórbico (padrão), todos os extratos testados apresentaram IC 50% superior ao mesmo.

Quanto aos resultados preliminares obtidos na atividade antimicrobiana, extratos etanólicos também apresentaram significativa superioridade em relação aos decoctos.

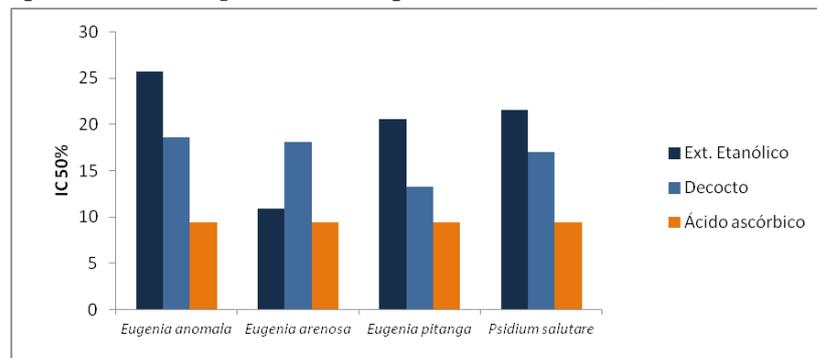


Figura: Valores de IC 50% para extratos etanólicos e decoctos comparando com o padrão ácido ascórbico.

Conclusão

Diante dos resultados preliminares, pode-se concluir que os extratos etanólicos estão apresentando melhores resultados frente à atividade antimicrobiana.

Quanto à atividade antioxidante pode-se concluir que todos os extratos testados apresentam boa atividade, porém os resultados de IC 50% se mostram superiores ao padrão ácido ascórbico.

¹ COLE, R. A.; HABER, W. A.; SETZER, W. N. **Biochemical Systematics and Ecology**. 35, 877-886, 2007.

² DESTRO, M. T. **Faculdade de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, 2006.

³ DUSSURGET, O.; PIZARRO-CERDA, J.; COSSART, P. **Annual Review of Microbiology**, v. 58, p. 587-610, 2004.

Agradecimentos

Ao Centro Universitário UNIVATES pelo apoio financeiro e a CAPES pela bolsa Prosup.

Avaliação da influência de polimorfismos no gene *BDKRB2* e de fatores ambientais sobre variações nos níveis de pressão arterial em uma amostra de adultos saudáveis

Janine Giovanella¹, Camile Wunsch¹, Luana Maria Wollinger¹, Rafaela Mundstock de Azevedo Bastian¹, Crislene Aschebrock Sippel¹, Simone Morelo Dal Bosco¹, Júlia Pasqualini Genro¹, Verônica Contini¹

¹Univates

E-mail: janineiovanella@hotmail.com

Palavras-chave: Hipertensão arterial. Bradicina. *BDKRB2*. Polimorfismos genéticos.

Introdução

A hipertensão arterial (HA) é uma doença multifatorial, influenciada por fatores genéticos e ambientais. Entre as moléculas regulatórias da pressão arterial (PA), destaca-se a bradicinina, por sua propriedade vasodilatadora, a qual age via receptor B2. Os polimorfismos mais estudados no gene do receptor B2 da bradicinina (*BDKRB2*) são o polimorfismo na região promotora (-58T/C, rs1799722) e o polimorfismo do tipo inserção/deleção (In/Del), localizado no 1º éxon, denominado -9/+9 (rs5810761). Estudos funcionais *in vitro* indicam que ambos os polimorfismos afetam a atividade transcricional do gene. Alguns estudos demonstraram a influência do alelo +9 do rs5810761 e do alelo C do rs1799722 na regulação da PA. O objetivo principal desse estudo é investigar a influência dos polimorfismos rs5810761 e rs1799722 do gene *BDKRB2* e de fatores ambientais (consumo de sódio e potássio) na variação dos níveis de PA em uma amostra de pacientes saudáveis.

Material e Métodos

A amostra foi composta por 158 adultos oriundos do Ambulatório de Nutrição do Centro Universitário UNIVATES. Foram avaliados parâmetros bioquímicos, PA e consumo alimentar. O DNA foi extraído a partir do sangue total, através da técnica descrita por Lahiri e Nurnberger (1991). O rs1799722 foi genotipado pela técnica de discriminação alélica TaqMan. As análises estatísticas foram realizadas com o Software o SPSS.

Resultados e discussão

Dentre os participantes, 77,2% foram do sexo feminino e a média de idade encontrada foi de 30,6 anos. Com base no recordatório alimentar se verificou que a média de consumo de sódio foi de 1998mg e de potássio foi 1806mg. A média encontrada nas aferições de pressão arterial, no decorrer da consulta, foi de 115,67 mmHg na pressão sistólica (normotenso <120 mmHg) e 71,83 mmHg na pressão diastólica (normotenso < 80 mmHg). A frequência alélica encontrada foi de 0,6 para o alelo C e de 0,4 para o alelo T. A distribuição das frequências genotípicas estão de acordo com o esperado para o Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Não foram detectadas associações significativas entre o polimorfismo investigado e as variações nos níveis de PA e no consumo de sódio e potássio (todos $p > 0,50$).

Conclusão

Nossos resultados não apoiam uma influência do polimorfismo rs1799722 do gene *BDKRB2* nos níveis de PA, pelo menos na presente amostra. Cabe ressaltar que se trata de uma amostra de normotensos e, portanto, não podemos excluir a influência do gene em uma população de hipertensos. Além disso, nosso tamanho amostral ainda é bastante limitado para conclusões mais robustas.

¹ ALVES, C. R.. 81 f. Dissertação de Mestrado em Ciências- Faculdade de Medicina da Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2009.

² BHUPATIRAJU, C. et al. **Clinical and Experiment Hypertension**. Vol.34 n. 03 , 2012.

³ LAHIRI, D. K.; NURNBERGERN JR, J. I. **Nucleic Acids Research**, Vol. 19, No. 19, june, 11, 1991.

⁴ LI, Y. et al. **Plos One**, vol. 7, 2012.

Agradecimentos

Agradeço a todos os membros do Projeto de pesquisa Nutrigenética, que fizeram com que este trabalho pudesse ser realizado.

Agradeço, também, a todos os participantes, sujeitos da pesquisa, que se dispuseram a colaborar com a mesma.

Caracterização genotípica de *Escherichia coli* e *Klebsiella spp.*, isolados em um hospital do interior do Rio Grande do Sul

Johan Prediger¹, Adriane Pozzobon¹, Georgia Muccillo Dexheimer¹, Bruna Cristina Jordon¹, Henrique Sulzbach de Oliveira¹, João Pedro Kipper¹, Raul Antônio Sperotto¹, Luciana Weidlich

¹ Univates

E-mail: johanprediger@bol.com.br

Palavras-chave: Multirresistência bacteriana. PCR. ESBL. Infecção hospitalar.

Introdução

A infecção hospitalar é uma das complicações mais frequentes que ocorrem nos doentes internados nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI), sendo que a ocorrência destas infecções leva um aumento do risco de mortalidade.¹ Com a introdução dos antibióticos nos tratamentos de microorganismos, os mesmos tiveram que buscar formas de resistência a essas drogas, e se mostraram muito capazes disso.² Nos últimos anos, as Enterobactérias se tornaram um dos principais patógenos, se tratando de Infecções Hospitalares. Uma das principais multirresistências ligadas a enterobactérias é a produção de enzimas Beta-lactamases de espectro estendido (ESBL), a qual é difundida entre as bactérias por meio de plasmídeos. São enzimas são enzimas capazes de hidrolisar cefalosporinas de terceira geração 10% a mais do que hidrolisam as benzilpenicilinas.³ A grande maioria das ESBL são derivadas das beta-lactamases dos tipos TEM e SHV. Outros tipos de ESBL são: CTX-M, OXA, PER, VEB, CME, TLA, SFO, GES e BES.⁴

Material e Métodos

Foram feitas coletas de *Escherichia coli* e *Klebsiella spp.* provindas de pacientes hospitalizados. O DNA dessas amostras foi extraído através de um kit comercial utilizado para a extração de DNA bacteriano. Para a caracterização molecular será realizada a reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando primers específicos para os genes TEM, SHV, CTX-M, CTX-M1, CTX-M2, CTX-M9, CTX-M8, CTX-M25. A visualização da PCR será feita por eletroforese em gel de agarose corado com brometo de etídio.

Resultados e discussão

Foram coletadas 60 amostras de *Escherichia coli* e *Klebsiella spp.* Destas amostras, 27 (45%) foram identificadas como produtoras de ESBL através do método de proximidade de discos, realizado pelo laboratório de análises clínicas responsável pelas identificações das bactérias. Posteriormente o teste de proximidade de discos será realizado novamente para uma avaliação em duplicata. Até o momento quatro genes foram caracterizados molecularmente através da PCR. O gene SHV (930 pares de bases) teve 33 (57%) amostras positivas, o gene TEM (867 pb) teve 43 (73%) amostras positivas, o gene CTX-M1 (415 pb) teve 20 (33%) amostras positivas e o gene CTX-M9 (205 pb) teve 15 (25%) amostras positivas. Os quatro genes restantes estão em processo de análise.

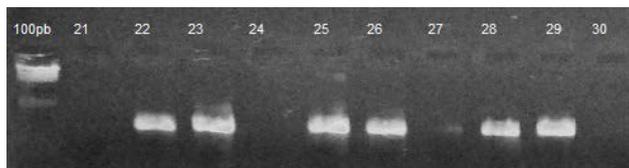


Figura 1: Gel de agarose corado com brometo de etídio, e a análise das bandas representativa do fragmento de 867 pb do gene TEM.

Conclusão

Os resultados têm uma grande importância epidemiológica, que visa identificar qual o gene mais frequente na região. Apesar disto identificamos uma grande diferença entre os métodos utilizados, a PCR identificou mais bactérias produtoras de ESBL, em comparação ao método de proximidade de discos. O método de proximidade de discos é realizado manualmente e possui uma margem de erro. Por outro lado, os genes identificados podem estar silenciados, ou seja, não estão sendo expressos pela bactéria.

¹ FLOROS J., ROUSSOS C., **RT magazine**. 32, 2001.

² O'BRIEN T.F., **Clinical Infectious Diseases**, 34 (3): 78-84, 2002.

³ PFALLER MA, SEGRETI J.. **Clin Infect Dis**; 42:S153-63, 2006.

⁴ BRADFORD PA., **Clin Microbiol Rev**; 14:933-51. Review, 2001.

Agradecimentos

Agradecemos a Univates, seus funcionários e professores por disponibilizar toda a estrutura necessária para a realização da pesquisa. Assim, também, agradecemos ao Hospital e ao Laboratório que abriram suas portas para os pesquisadores.

Imobilização de β – galactosidase em suporte comercial Immobead 150

Ruan da Silva Rafael¹, Adriano Gennari¹, Daniel Lehn¹, Rafael Costa Rodrigues²,

Raul Antônio Sperotto¹, Cláucia Fernanda Volken de Souza¹

¹Univates, ²Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

E-mail: ruan.rafael@brf-br.com

Palavras-chave: Imobilização enzimática. Suporte epóxi. β – galactosidase.

Introdução

A tecnologia enzimática surgiu como alternativa para substituição gradual de processos químicos em diversas áreas¹. As β – galactosidases são utilizadas na indústria de alimentos, sobretudo em produtos lácteos². Seu uso na forma livre limita a reutilização e gera impacto econômico devido ao alto custo de obtenção e purificação de enzimas³. O conceito de imobilização enzimática visa criar alternativas tecnológicas capazes de promover melhorias em sua estabilidade em condições extremas de processo, minimizar perda de atividade e permitir sua aplicação em sistemas contínuos⁴. Ligações covalentes entre grupamentos amina de enzimas e grupos ativos de suportes constituem um mecanismo usual de imobilização. Baseiam-se na ativação de grupamentos químicos de suportes que reagem com nucleófilos de proteínas⁴. Portanto, o presente trabalho objetiva estudar o processo de imobilização de β – galactosidase em suporte comercial através de técnicas que favoreçam a formação de ligações covalentes.

Material e Métodos

Um total de 0,5 g de suporte foram suspensos em 5 mL de solução enzimática de β – galactosidase de *Kluyveromyces lactis* contendo carga proteica de 5 mg em tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 7,0. O sistema foi mantido em agitação branda a 20° C. Amostras periódicas de sobrenadante e suspensão enzimática foram coletadas para quantificação da atividade enzimática, determinada através de acompanhamento espectrofotométrico (415 nm) da taxa de formação de orto-nitrofenol a 37° C.

Resultados e discussão

A atividade enzimática do sobrenadante apresentou queda ao longo do processo de imobilização, porém não houve variação na atividade enzimática do controle, indicando a ocorrência de migração de proteínas para o suporte. Após 60 horas de processo não foi observado aumento na atividade enzimática do suporte. O processo de imobilização enzimática em pH neutro favorece a formação de ligações unipontuais entre aminas terminais da enzima e grupos ativos do suporte. Nessas condições, ligações formadas pelas bases de Schiff são reversíveis afetando a eficiência do processo. Outra abordagem baseia-se em promover imobilização em duas etapas: pH neutro (formação de ligações unipontuais entre enzima e suporte) seguido de imobilização em pH básico, com o intuito de promover a formação de ligações multipontuais. Nestas condições, resíduos de grupamento amino de lisinas estão ativos, porém essa abordagem requer um maior número de operações unitárias e o consequente aumento no custo do processo.

Conclusão

O sobrenadante avaliado ao longo do ensaio apresentou queda gradual na atividade enzimática, indicando a formação de ligações entre proteína e suporte. Após 60 horas, o processo de imobilização enzimática apresentou cerca de 20% de eficiência. O processo de imobilização em pH neutro causa pouca influência na

atividade enzimática da β – galactosidase imobilizada, porém limita à formação de ligações unipontuais. Estratégias relacionadas com o tratamento prévio do suporte ou o uso de condições de pH e força iônica variados podem promover o aumento na eficiência de imobilização de enzimas em suportes contendo grupamentos epóxi.

¹ GUISAN, M. J. *Methods in Biotechnology* 2 2006, Humana Press, New Jersey, p. 15.

² VASILEVAA, N. et al. *International Journal of Biological Macromolecules* 2012, v. 51, p. 710-719.

³ OLIVEIRA, C. et al. *Biotechnology Advances* 2011, v. 29, p.600– 609.

⁴ JOCHEMS, P. et al. *Enzyme and Microbial Technology* 2011, v. 49, p. 580 – 588.

Agradecimentos

CAPES/PROSUP - Programa de Suporte à Pós-Graduação de Instituições de Ensino Particulares.

Investigação do papel de polimorfismos na região cromossômica 9p21 em uma amostra de pacientes submetidos ao exame de cateterismo cardíaco

Kátia Gerhardt¹, Pricila Girardi¹, Fernanda Oliveira Diefenthaler¹, Camile Wunsch¹,
Luciana Weidlich Marcelo Emylio Arndt², Verônica Contini¹

¹Univates

E-mail: katiagerhardt@hotmail.com

Palavras-chave: Doença coronariana. Aterosclerose. Polimorfismos. Região 9p21.

Introdução

Apesar da identificação de fatores de risco ambientais associados com a doença arterial coronariana (DAC), sabe-se também que os fatores genéticos desempenham um papel relevante no desenvolvimento da doença e suas complicações. Um exemplo de marcador genético é o locus cromossômico 9p21. Essa região cromossômica associada à DAC se estende ao longo de uma região superior a 100 kilobases, aonde os genes mais próximos são os CDKN2A e CDK2B, cujos produtos são proteínas reguladoras do ciclo celular, além de um gene de RNA, denominado ANRIL^{1,2}. Os polimorfismos investigados no presente estudo rs10757274 e rs1333049 localizados na região cromossômica 9p21, foram identificados por numerosos estudos de replicação e apontados como de susceptibilidade para DAC e IAM³. A importância do conhecimento dos polimorfismos que predisõem ou agravam a DAC, pode vir a ser um instrumento aliado para a prevenção primária, abordagem diagnóstica, tratamento e aconselhamento genético em cardiologia⁴.

Material e Métodos

Pacientes atendidos no Serviço de Hemodinâmica do Hospital Bruno Born, submetidos ao exame de cateterismo cardíaco. Após o consentimento dados serão coletadas através de um questionário e amostras de sangue para extração de DNA e a genotipagem pelo sistema taqman®. Frequências alélicas serão estimadas por contagem direta. Análises estatísticas serão realizadas com o software SPSS 18.0.

Resultados e discussão

A amostra estudada é composta por 390 pacientes, sendo 164 do sexo masculino (42,1%) e 226 do sexo feminino (57,9%), com idade média de 63,21 anos de idade. A frequência alélica observada na população para o polimorfismo rs1333049 é de 0,52 para o alelo C e de 0,48 para o alelo G, para o polimorfismo rs10757274 é de 0,47 para o alelo A e de 0,53 para o alelo G. Verificou-se que as frequências genotípicas encontram-se de acordo com o esperado para o Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Não foram encontradas associações significativas entre os polimorfismos e os valores bioquímicos analisados, dentre eles a pressão arterial sistólica, pressão diastólica, triglicerídeos, colesterol total, colesterol bom e glicose na população em estudo.

Conclusão

Sabe-se que os polimorfismos investigados neste estudo têm sido apontados por diversos estudos como fatores de risco para a DAC, alguns autores sugerem que os alelos de risco estariam mais fortemente associados em eventos de doença coronariana em pessoas jovens, do que com a doença cardíaca no geral. Porém, o estudo ainda não atingiu o valor amostral para obtermos dados conclusivos.

¹BORGES, Camila F. et al, **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, São Paulo, 2012.

²MENDONÇA, Isabel et al, **Revista Portuguesa de Cardiologia**, 2011; 30 (6): 575-591.

³SCHEFFOLD, T. et al, **Cardiovasc Disord**, 2011; 119.

⁴SÁ, Ana Carolina Marques, **Instituto de Ciências Biomédicas**, 2012.

Agradecimentos

À equipe do Serviço de Hemodinâmica do Hospital Bruno Born de Lajeado, além das bolsistas e voluntárias que colaboraram para que este trabalho pudesse ser realizado.

Investigação do papel dos polimorfismos rs7903146 e rs12255372 do gene *TCF7L2* em marcadores bioquímicos de gravidade do Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DM2) em uma amostra de indivíduos adultos com DM2

Cristiane dos Santos Costa, Crislene Aschebrock Sippel, Claudete Rempel, Simone Morelo Dal Bosco, Verônica Contini, Julia Pasqualini Genro¹

¹Univates

E-mail: criscostafisio@hotmail.com.br

Palavras-chave: Diabetes. *TCF7L2*. Polimorfismo.

Introdução

O Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DM2) é uma doença metabólica complexa, resultante da contribuição de fatores ambientais e genéticos, caracterizando-se pela hiperglicemia. Os marcadores inflamatórios também desempenham um papel importante no desenvolvimento da doença¹. Estudos moleculares de associação tem sugerido que variantes do gene *transcription factor 7-like 2 (TCF7L2)* estão fortemente associadas à doença em diferentes populações^{2,3,4,5}. O objetivo deste estudo é verificar se os polimorfismos do gene *TCF7L2*, rs7903146 e o rs12255372, está associado aos níveis de glicose, hemoglobina glicada (Hb1AC) e proteína C reativa (PCR) em uma amostra de indivíduos adultos com DM2.

Material e Métodos

A amostra é composta por 61 indivíduos adultos com diagnóstico de DM2, provenientes do Programa SISHiperdia, e caracteriza-se como uma continuidade à pesquisa intitulada: "Identificação de fatores de risco em indivíduos diabéticos e hipertensos usuários e não usuários do fitoterápico *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca) cadastrados no Programa SIS Hiperdia/MS, de 2009 a 2010, na 16^o Coordenadoria Regional de Saúde/RS". Foram analisados alguns marcadores bioquímicos como glicose, hemoglobina glicada (HbA1C) e proteína C reativa (PCR) (Mindray BS120). As variantes rs7903146(C/T) e rs12255372(G/T) do gene *TCF7L2* foram genotipadas através de PCR em Tempo Real. Foi utilizado o teste ANOVA para analisar a associação entre as variantes genéticas e as características bioquímicas.

Resultados e discussão

Participaram da pesquisa 61 indivíduos, sendo que 43 (70,5%) eram mulheres e 18 (29,5%) homens. Verificou-se que as frequências do alelo T foi de 0,34 e 0,33, respectivamente, para o rs7903146 e rs12255372. As frequências genotípicas estão de acordo com o esperado para o Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Segundo Wilfred et al (2012)⁶ o alelo de risco T (rs7903146) está fortemente associado ao risco de DM2, principalmente em caucasianos. Estudos também demonstram que portadores do alelo de risco apresentam níveis aumentados de alguns marcadores inflamatórios, como Hb1AC e PCR^{1,7}. No entanto, em nosso estudo não foram detectadas associações significativas entre as variantes do estudo e as variáveis bioquímicas analisadas (glicose: rs7903146 p=0,92; rs12255372 p=0,96, Hb1AC: rs7903146 p=0,16; rs12255372 p=0,09 e PCR: rs7903146 p=0,50; rs12255372 p=0,39).

Conclusão

Estudos indicam que a presença do alelo T nestes polimorfismos pode influenciar no risco de desenvolvimento e gravidade da DM2. No entanto, neste estudo, o alelo T não foi associado aos desfechos bioquímicos nos

indivíduos com DM2. O fato de não observarmos nenhum resultado significativo pode estar associado ao tamanho da amostra, ressaltando que estes resultados são preliminares e uma amostra maior é esperada para a relevância nos resultados.

¹ Wang, X. et al, *Diabetes Care* 2013, v.36, 166-175.

² Alami, F. et al, *Genetics and Molecular Biology* 2012, v.35, 413-417.

³ Mihaescu, R. et al, *PlosCurrents* 2011, v.11.

⁴ Ciccacci, C. et al, *Acta Diabetol* 2012.

⁵ Alibegovic, A.C. et al, *Diabetes* 2010, v.59, 836-843.

⁶ Wilfred, I. et al, *Cell & Bioscience* 2012, v.02, 01-12.

⁷ Gautier, A. et al, *Diabetes* 2011, v.60, 2654-2663.

Investigação do papel dos polimorfismos rs7903146 e rs12255372 do gene *TCF7L2* em parâmetros nutricionais e bioquímicos em uma amostra de indivíduos adultos saudáveis

Crislene Aschebrock Sippe¹, Luana Maria Wollinger, Rafaela Mundstock de Azevedo Bastian, Janine Giovanella, Verônica Contini, Julia Pasqualini Genro, Simone Morelo Dal Bosco¹

¹Univates

E-mail: crislenea@universo.univates.br

Palavras-chave: TCF7L2. Polimorfismo. Nutrição.

Introdução

Diversos estudos têm demonstrado associações significativas entre variantes do gene *transcription factor 7-like 2* (TCF7L2) com o diabetes melito tipo 2 (DM2), nas mais diferentes etnias^{1,2,3,4}. Estudos recentes também sugerem sua influência em parâmetros nutricionais e bioquímicos^{5,6,7}. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de dois polimorfismos do gene TCF7L2 (rs7903146 e rs12255372) em desfechos relacionados à obesidade em uma amostra de indivíduos adultos saudáveis.

Material e Métodos

A amostra foi composta por 201 indivíduos adultos. Características antropométricas, bioquímicas e de consumo alimentar foram analisadas. Para o consumo alimentar foi utilizado o recordatório alimentar 24h (*DietWin* Profissional). As variantes rs7903146(C/T) e rs12255372(G/T) do gene *TCF7L2* foram genotipadas através de PCR-Tempo Real. O teste ANOVA foi utilizado para analisar a associação entre as variantes genéticas com as características antropométricas, bioquímicas e de consumo alimentar.

Resultados e discussão

Dos 201 participantes, 154 (76,6%) eram mulheres e 47 (23,4%) homens, com idade média de 25,6 anos ($\pm 6,8$). A frequência observada do alelo T foi de 0,54 em ambas variantes do gene *TCF7L2*. Não foram observadas associações significativas entre os polimorfismos avaliados e as variáveis antropométricas e bioquímicas. Phillips *et al* (2012)⁵ observaram maior gordura abdominal e índice de massa corporal (IMC) em indivíduos portadores do alelo T em comparação aos indivíduos com genótipo CC (rs7903146), conferindo um maior risco para a síndrome metabólica. Dados de outro estudo mostraram que os rs7903146 e rs12255372 estão significativamente associados com níveis elevados de triglicerídeos em famílias mexicanas⁶. Na análise do consumo alimentar, observamos um consumo significativamente menor de proteína entre os portadores do alelo T, em ambas variantes (rs7903146, $p=0,03$; rs12255372, $p=0,04$), porém, percentualmente acima do recomendado (>15% do valor energético total).

Conclusão

Pesquisas recentes sugerem que a presença do alelo T nas variantes genéticas do gene *TCF7L2* pode influenciar nos desfechos nutricionais e bioquímicos, conferindo um risco aumentado de desenvolvimento de síndrome metabólica. Em nosso estudo, contudo, a presença do alelo T não foi associada com desfechos relacionados à obesidade em indivíduos adultos. Porém, cabe ressaltar que os resultados de nossa pesquisa são preliminares e que um número maior de participantes é fundamental para confirmar estes achados.

¹ Grant, S.F. et al, *Nat Genet* 2006, v.38, 320-323.

² Alibegovic, A.C. et al, *Diabetes* 2010, v.59, 836-843.

³ Strawbridge, R.J. et al, *Diabetes* 2011, v.60, 2624-2634.

⁴ Ciccacci, C. et al, *Acta Diabetol* 2012, DOI 10.1007/s00592-012-0418-x.

⁵ Phillips, C.M. et al, *Journal of Nutritional Biochemistry* 2012, 23:239-244.

⁶ Huertas-Vazquez, A. et al, *Diabetologia* 2007, 51:62-69.

⁷ Warodomwichit, D. et al, *J. Nutr.* 2009, 139 :439-446.

Investigação do polimorfismo C936T do gene VEGF em pessoas com diabetes mellitus tipo 2: relação com polineuropatia distal diabética

Melissa M. Ghisleni¹, Bruna Jordon¹, Claudete Rempel¹, Júlia P. Genro¹, Vanderlei Biolchi², Adriane Pozzobon¹

¹Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - Univates

²Laboratório de Biologia Molecular, Endócrina e Tumoral; Departamento de Fisiologia - UFRGS

E-mail: melissagh@univates.br (Melissa M. Ghisleni)

Palavras-chave: Polimorfismo de único nucleotídeo. Diabetes mellitus. Neuropatia diabética.

Introdução

As microangiopatias, tipo de complicações crônicas do diabetes mellitus, constituem a disfunção dos pequenos vasos sanguíneos, tendo como manifestações clínicas a nefropatia, a retinopatia e a neuropatia¹.

São crescentes as evidências de que fatores de crescimento têm participação importante na modificação e na aceleração da lesão tecidual causada pela hiperglicemia. O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é sugerido como principal mediador da patogênese das complicações microvasculares do diabetes².

A pesquisa objetiva avaliar a relação entre o polimorfismo (SNP) C936T do VEGF e a polineuropatia distal diabética em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

Material e Métodos

Pesquisa descritiva e transversal, de caráter quantitativo, envolvendo 98 pessoas com DM2.

Dados coletados: dosagem de perfil lipídico, hemoglobina glicada e investigação do SNP C936T do VEGF.

A partir deste grupo, realizou-se avaliação de sinais e sintomas (Score de Sintomas Neuropáticos, ESN) de neuropatia diabética em 40 pessoas, e aplicação de entrevista.

A análise dos dados foi feita através do software Biostat 2009.

Resultados e discussão

Em relação ao genótipo do SNP C936T VEGF, 81,63% da amostra apresentaram o CC, 16,33% apresentaram o CT, e 2,04% apresentaram o TT. Das 40 pessoas avaliadas pelo ESN, 11 foram detectadas com sintomas graves, sendo 9 portadoras do genótipo homocigoto CC; 10 pessoas apresentaram sintomas moderados, também 9 com genótipo CC; e em 8 verificou-se sintomas leves, sendo o genótipo CC presente em 7 destas.

Pesquisas apontam o alelo T como associado a níveis plasmáticos mais elevados de VEGF. Sua maior frequência foi associada à retinopatia, porém não verificou-se associações com a prevalência de neuropatia na população diabética³.

Tabela 1 – Perfil da amostra de 98 pessoas com DM2

	Idade (anos)	IMC (kg/m ²)	CT (mg/dL)	TGC (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	A1C (%)
M	63,87	32,00	173,11	144,31	47,01	94,27	7,13
DP	9,63	6,61	37,43	72,76	12,14	33,64	1,27

M = média; DP = desvio padrão; IMC = índice de massa corporal; CT = colesterol total; TGC = triglicerídeos; HDL = lipoproteína de alta densidade; LDL = lipoproteína de baixa densidade; A1C = hemoglobina glicada

Conclusão

Na amostra estudada, observou-se maior frequência do alelo C do SNP C936T do gene VEGF entre pessoas com DM2. O alelo T não associou-se à presença de sintomas neuropáticos nesta população.

¹ SILVA, R.; COSTA, C. E. M. A hiperglicemia e os mecanismos envolvidos nas disfunções vasculares do Diabetes Mellitus. **Arquivos de Ciências da Saúde Unipar**, Umuarama, v. 12, n. 3, 2008.

² YANG, B.; CROSS, D. F.; OLLERENSHAW, M.; MILLWARD, B. A.; DEMAINE, A. G. Polymorphisms of the vascular endothelial growth factor and susceptibility to diabetic microvascular complications in patients with type 1 diabetes mellitus. **Journal of Diabetes and Its Complications**, New York, v.17, p. 1-6, 2003.

³ KIM, Hye W.; KO, GANG J.; KANG, Young S.; LEE, MI H.; SONG, Hye K.; KIM, Hyoung K.; CHA, Dae R. Role of the VEGF 936 C/T polymorphism in diabetic microvascular complications in type 2 diabetic patients. **Nephrology, Carlton**, v. 14, p. 681-88, 2009.

Investigação do polimorfismo rs9939609 do gene *FTO* em relação à obesidade

Adriana Regina Bitello, Jéssica Mazutti Penso, Crislene Aschebrock Sippel, Luana Maria Wollinger,
Rafaela Bastian, Janine Giovanella, Cristiane Costa, Júlia Pasqualini Genro, Verônica Contini,
Simone Morelo Dal Bosco¹
¹ Centro Universitário UNIVATES

E-mail: a.bitello@hotmail.com

Palavras-chave: *FTO*. Polimorfismo. Obesidade.

Introdução

A epidemia de obesidade é reconhecida como um dos mais importantes problemas de saúde pública¹. O gene *FTO* (*Fat Mass and Obesity Associated*), é um gene relacionado com massa gorda e aumento do índice de massa corporal (IMC), o polimorfismo mais estudado é rs 9939609 cuja a troca de base é A/T (adenina/timina)². Muitos estudos já demonstram associações positivas deste polimorfismo do gene *FTO* com a obesidade^{3,4,5,6}. O objetivo do estudo foi avaliar a influência do polimorfismo rs9939609 em relação à obesidade e IMC em uma amostra de indivíduos saudáveis.

Material e Métodos

A amostra foi composta por 157 indivíduos adultos saudáveis. Foi analisado o IMC usando os critérios de diagnóstico nutricional recomendados para a população adulta conforme Organização Mundial da Saúde (OMS)⁷. Para genotipagem do polimorfismo rs9939609 foi utilizado o ensaio de discriminação alélica *TaqMan* e a leitura com a técnica de PCR em Tempo Real. As frequências alélicas foram estimadas por contagem direta e o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W) foi verificado através do teste do qui-quadrado. A associação entre os genótipos e os valores de IMC foi avaliada através do teste t.

Resultados e discussão

Dos 157 participantes, 125 eram mulheres (79,61%) e 32 (20,38%) homens, com idade média de 25,7. O IMC médio para as mulheres foi de 23kg/m² e 25Kg/m² nos homens. A frequência alélica foi de 0,43 para o alelo A e 0,57 para o alelo T. As frequências genotípicas observadas estão de acordo com o esperado para o equilíbrio de H-W. Não foram observadas associações significativas entre o polimorfismo rs9939609 e o IMC. Em um estudo com 320 indivíduos nas Ilhas Oceânicas aproximadamente, 73% eram obesos (IMC \geq 30kg/m²) e não foi encontrada nenhuma relação com rs9939609. Os autores sugerem que talvez outro polimorfismo do gene *FTO* seja mais atuante nesta população⁸. Em outro estudo, em Gambia com 2.164 adultos, predominantemente magros (IMC < 25kg/m²). Nenhuma associação foi encontrada entre os alelos A ou T do rs9939609 e o IMC⁹.

Conclusão

Nossos resultados não sustentam a influência do polimorfismo rs9939609 do gene *FTO* em relação aos valores de IMC acima dos limites de peso ideal na amostra investigada. É válido ressaltar que os indivíduos incluídos no estudo são classificados como saudáveis, sendo 69% destes eutróficos.

¹ International Association for the Study of Obesity. **About Obesity**, 2012.

² Frayling T.M. et al, **Science** 2007;316 (5826):889.

³ Hunt S.C. et al, **Obesity** (Silver Spring). 2008;16(4):902-4.

⁴ Hota K.J. et al, **J. Hum Genet.** 2008; 53(6):546-53.

⁵ Yajnik CS. et al, **Diabetologia.** 2009;52(2):247-52.

⁶ Chang YC. et al, **Diabetes.** 2008;57(8):2245-52.

⁷ Organização Mundial da Saúde (OMS).1998.

⁸ Ohashi J, et al. **J Hum Genet** 2007;52(12):1031-1035

⁹ Hennig BJ, , et al. **BMC Med Genet** 2009;10(22):21-28.

Obtenção e estudo das propriedades funcionais de hidrolisados enzimáticos de minhoca (*Eusemia andrei*)

Mariano Rodrigues¹, Lucélia Hoehne¹, Eduardo Miranda Ethur¹

¹Univates

E-mail: gm.rodrigues@uol.com.br (Mariano Rodrigues)

Palavras-chave: Hidrólise. Minhocas. Enzimas.

Introdução

Hidrolisados são proteínas, que por ação química ou enzimática, são separadas em peptídeos de vários tamanhos¹, podendo ser utilizados de forma terapêutica e nutricional em pacientes com necessidades especiais, pois os mesmos permitem uma melhor utilização das proteínas². Já existem na literatura relatos da obtenção de hidrolisados a partir de frango³ e peixes^{4,5}, não havendo praticamente relatos a partir de minhocas. Dessa forma torna-se importante estudar novas matérias primas, como a minhoca, visto que as mesmas apresentam cerca de 70 % (base seca) em proteínas⁶. O objetivo deste trabalho é de obter hidrolisados enzimáticos a partir de minhocas Vermelha da Califórnia (*Eusemia andrei*), com o uso de proteases comerciais e realizar um estudo das propriedades funcionais do hidrolisado com maior grau de hidrólise.

Material e Métodos

Serão avaliados hidrolisados obtidos por minhocas, espécie (*Eusemia andrei*), usando as enzimas: Alcalase e Flavorzyme, sendo avaliados os parâmetros: temperatura, grau de agitação, pH, tempo de hidrólise, relação enzima/ substrato; a partir de um planejamento fatorial 2⁵, o qual gerou 45 condições para cada enzima. Com a melhor condição de hidrólise serão avaliadas as propriedades funcionais do hidrolisado e será verificado o seu perfil de aminoácidos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Resultados e discussão

Até o presente momento observou-se que a Alcalase é a enzima com melhor ação, originando produtos (figura 1) com maior grau de hidrólise. O estudo prossegue no sentido de se determinar a temperatura, pH, tempo, relação enzima/ substrato e agitação do meio que proporciona a hidrólise mais eficiente. Posteriormente serão realizados testes das propriedades funcionais do mesmo e do perfil de aminoácidos.



Figura1: Hidrolisados Enzimáticos de Minhoca

Conclusão

Com o presente trabalho concluiu-se, até o momento, que a enzima Alcalase proporciona a formação de hidrolisados enzimáticos de minhoca com elevado grau de hidrólise. Sendo assim, poderá ser ofertado, no futuro, um bioproduto a partir de uma nova fonte de proteínas que apresentam boas propriedades funcionais.

¹MARTINS, Vilásia Guimarães; COSTA, Jorge Alberto Vieira; PRENTICE-HERNANDEZ, Carlos. Hidrolisado protéico de pescado obtido por vias química e enzimática a partir de corvina (*Micropogonias furnieri*). Quím. Nova, São Paulo, v. 32, n. 1, 2009 .

²SGARBIERI, V.C. Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações. 1. Ed. São Paulo: Varela, 1996, 517 p.

³KUROZAWA, L. E.; PARK, K. J.; HUBINGER, M. D. Influência das condições de processo na cinética de hidrólise enzimática de carne de frango. Ciência. Tecnologia Alimentos., Campinas, v. 29, n. 3, Sept. 2009 .

⁴SOUISSI, N. et al. Biochemical and functional properties. Food Technol and Biotechnol. v. 45 p. 187–194, 2007.

⁵BHASKAR, N. et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. Bioresource Technology., 2008. v.99, p. 335–343.

⁶PEREIRA, J. E. Minhocas- Manual prático sobre minhocultura. São Paulo: Nobel, 1997.

Agradecimentos

PROMIN

Univates

Produção de ácido láctico a partir do resíduo de isolado proteico de soja

Ruthineia da Luz Funke, Daniel Lehn, Simone Morelo Dal Bosco¹

¹Univates

E-mail: ruthi@universo.univates.br

Palavras-chave: *Lactobacillus*, Isolado proteico de soja, Ácido Láctico.

Introdução

O ácido láctico é um potente ácido orgânico, comercialmente importante, por ser utilizado nas indústrias alimentícias e química¹. Em torno de 90% de ácido láctico obtido, é elaborado por processos fermentativos das bactérias lácticas². O processo de obtenção do ácido láctico por síntese química, foi largamente substituído pelo processo fermentativo, baseado no cultivo anaeróbico de *Lactobacillus*, em escala industrial^{3,4}. O objetivo do estudo visa obter ácido láctico a partir do resíduo de isolado proteico de soja, com a utilização de micro-organismos *Lactobacillus agilis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus lactis* e *Lactobacillus casei*

Material e Métodos

Para o estudo em questão serão utilizadas 4 cepas de micro-organismos *Lactobacillus agilis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus casei* e incubados a 35°C por 120h sem agitação nas amostras. Foi incubado 10% dos inóculos, no resíduo de isolado proteico de soja esterilizado proveniente da planta de produção de Proteína Isolada de Soja da empresa Bremil. Técnicas de determinação da concentração de acidez total expressa em ácido láctico, quantificação de biomassa, pH, concentração de açúcares redutores totais e identificação das espécies de *Lactobacillus* por gram foram realizadas. As avaliações físico-químicas foram realizadas de 24 em 24 horas para verificar as modificações realizadas pelos micro-organismos no meio.

Resultados e discussão

Das amostras avaliadas de resíduo de isolado proteico de soja, tanto na condição centrifugada quanto não centrifugada, foram verificados aumentos gradativo da acidez durante os primeiros dias de fermentação e esse aumento foi considerável até o 5º dia, pela ação dos *Lactobacillus* dos gêneros *delbrueckii* e *casei*. Hofvendahl & Hagerdal, 2000, informa em estudos que *Lactobacillus casei* é o catalisador preferido quando há glicose, lactose e galactose, bem como quando há lactose, frutose, galactose e maltose o *Lactobacillus delbrueckii* é um ótimo catalisador. Nos resultados obtidos na quantificação de biomassa, demonstrou-se ser considerável a condição de acidificação e diminuição de pH do meio. Já para as linhagens de *Lactobacillus agilis* e *lactis* os resultados foram satisfatórias, somente nos dois primeiros dias, estabilizando nos dias seguintes avaliados. As espécies dos *Lactobacillus* foram identificadas pela análise de coloração de gram.

Conclusão

Estudos informam que os *Lactobacillus* possuem importante valor comercial para a indústria alimentícia, devido ao seu emprego na produção de produtos alimentícios, com a finalidade de melhorar a característica do produto, bem como biotransformá-lo. O presente trabalho apresenta indícios de ser promissor, podendo de fato resultar na obtenção de ácido láctico pela fermentação microbiana, utilizando o efluente do processo de produção de proteína isolada de soja como substrato.

¹ HOFVENDAHL & HAGERDAL, *Enzyme and Microbial Technology*, 87-107, 2000.

² CAPELLARI, J., *Ácidos orgânicos*, Joinville, SC, 2010.

³ ANDRADE, V. *et al*, *Ácidos orgânicos*, Belém, PA, 2009.

⁴ ANURADHA, R. *Simultaneous saccharification and fermentation of starch to lactic acid*, Bombay, India, 2009.

Produção enzimática de fungos filamentosos e a sua influência sobre ácaros praga e predadores (acari) da cultura da videira

Cláudia Andréia Gräff¹, Cláucia Fernanda Volken de Souza¹, Noeli Juarez Ferla¹

¹ Univates

E-mail: claudiagraff@univates.br

Palavras-chave: Controle biológico. *Panonychus ulmi*. *Metarhizium anisopliae*. *Paecilomyces fumosoroseus*.

Introdução

Nos últimos anos foram observadas em culturas de videiras infestações de *Panonychus ulmi* espécie até então relatada apenas em maçã na Serra Gaúcha. Os ácaros fitófagos causam atraso no desenvolvimento da planta ocasionando redução da produção da uva e conseqüentemente perdas econômicas. A presença do ácaro é percebida muitas vezes após a infestação, tendo em vista o reduzido tamanho, principalmente pelo bronzeamento das folhas. Uma das formas mais rápidas para o controle da praga tem sido o uso de produtos químicos. No entanto, esta alternativa acaba por eliminar inimigos naturais, deixando resíduos químicos nos frutos. Os fungos entomopatogênicos têm sido largamente relatados com sucesso pela literatura para o controle biológico de insetos e aracnídeos em diversas culturas e países.

Material e Métodos

Coletou-se os ácaros em folhas de videiras na Serra Gaúcha. Utilizou-se para os bioensaios em laboratório *Metarhizium anisopliae* CCT 4432 e *Paecilomyces fumosoroseus* CCT 5825 ambos da Coleção de Culturas André Tosello. Aplicou-se suspensões na concentração de 10^7 esporos/mL adaptando os métodos de aplicação direta¹ e da caminhada² nas arenas observadas diariamente. Os cadáveres foram isolados e desinfectados³, e após inoculados no meio ágar batata dextrose.

Resultados e discussão

As duas técnicas caracterizam-se pela aplicação direta da suspensão de esporos sobre os ácaros nas arenas e pela colocação dos ácaros para criação um dia após a pulverização das arenas respectivamente. Dois dias após a aplicação identificou-se presença de cadáveres em todas as arenas com exceção das arenas do controle. Ao final do 4º dia restavam, em média, 20% de indivíduos vivos nas arenas pulverizadas com *M. anisopliae*, não havendo diferença entre as duas técnicas. Já nas arenas pulverizadas com *P. fumosoroseus* obteve-se diferença entre as duas técnicas apresentando em média 37% e 25% de indivíduos vivos ao final do 4º dia. A figura 1 apresenta os resultados obtidos das triplicatas das arenas realizadas para os dois fungos e as duas técnicas.

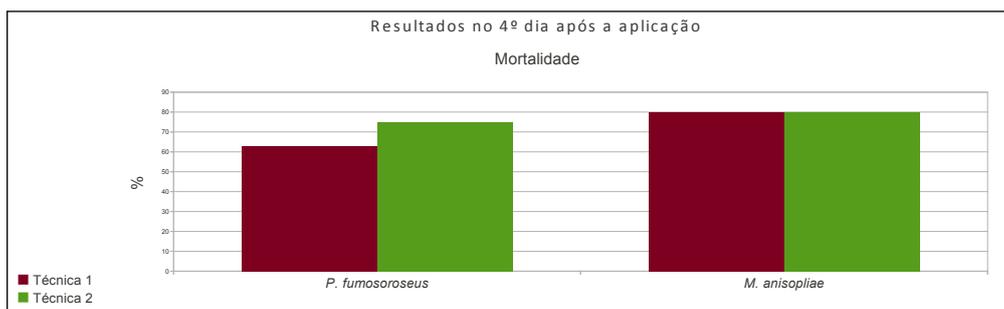


Figura 1: Mortalidade (%) após o 4º dia de aplicação dos fungos sobre *P. ulmi* em laboratório

Conclusão

Os resultados parciais obtidos em laboratório indicam que os fungos *M. anisopliae* e *P. fumosoroseus* tiveram ação sobre *P. ulmi* se comparado com o controle, sendo que o primeiro apresentou maior homogeneidade e eficiência em relação ao segundo. A continuidade da pesquisa avaliará também o efeito dos fungos utilizados neste trabalho sobre os principais predadores de *P. ulmi*.

¹ IRIGARAY, F. J. et al., *Biological Control* 2003, n° 26, p.168-173.

² PENG, C. et al. *Journal of Invertebrate Pathology* 2002, n° 81, p.185-195.

³ PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. *Edunisc*, 2004.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Univates e aos vitivinicultores pela disponibilização da coleta dos ácaros.

Seleção de leveduras *Kluyveromyces spp.* para a produção de bioetanol a partir do soro de ricota

Élvio Leandro Burlani¹, Angélica Vincenzi¹, Mônica Jachetti Maciel¹, Daniel Lehn¹, Eniz Conceição Oliveira¹, Giandra Volpato², Júlia Elisabete Barden¹, Cláucia Fernanda Volken de Souza¹

¹Univates, ²Instituto Federal de Educação – IFRS.

E-mail: eburlani@hotmail.com

Palavras-chave: *Kluyveromyces spp.*. Etanol. Soro de Ricota.

Introdução

A ricota é obtida a partir da precipitação das proteínas do soro de queijo com o emprego de calor e ácidos orgânicos¹. Esse processo gera 6% de ricota e 94% de soro de ricota rico em lactose. O soro de ricota apresenta Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Demanda Química de Oxigênio (DQO) de 50.000 e 80.000 mg/L, respectivamente, em função de sua composição². O aproveitamento deste resíduo como meio de cultivo para a produção de diferentes biomoléculas pode ser alternativa promissora para as indústrias lácteas. A utilização do soro de ricota na produção de etanol pode ser viável devido à quantidade de lactose presente neste resíduo, que pode ser biotransformada através de processos fermentativos empregando leveduras³. O objetivo desse trabalho é avaliar o potencial de bioconversão da lactose, presente no soro de ricota, em etanol por diferentes cepas de levedura *Kluyveromyces spp.*.

Material e Métodos

Foram empregadas quatro cepas de *K. marxianus* e uma de *K. lactis*. Como meio de cultivo foi empregado soro de ricota autoclavado, a 121° C/20 min, e o não-autoclavado coletados em um laticínio no Vale do Taquari/RS. Os cultivos foram realizados a 34° C, pH 4,8, em *shaker* a 150 rpm, por 52 horas.

Periodicamente durante os bioprocessos das cinco leveduras foram coletadas amostras que foram submetidas às seguintes determinações: biomassa, pH, etanol, lactose, carbono total e nitrogênio total.

Resultados e discussão

As leveduras *K. marxianus*, cepas ATCC 46537 e ATCC 12424, empregando como meio de cultivo o soro de ricota autoclavado apresentaram maior produção de etanol. A máxima produção de etanol pela cepa ATCC 46537 ocorreu após 12 horas de cultivo, com uma produção de 15,75 g/L de etanol. Neste mesmo período a concentração de lactose foi de 7,8 g/L, conforme Figura 1. A maior concentração de biomassa, 4,87 g/L, foi obtida após 52 horas de cultivo. O pH ajustado em 4,8 não apresentou variações significativas durante as 12 primeiras horas de cultivo para essa levedura, porém após 20 horas o pH aumentou, estabilizando na faixa de aproximadamente 6,5.

A cepa ATCC 12424 apresentou em soro autoclavado produção de etanol de 14,20 g/L e concentração de lactose de 5,11 g/L após 20 horas de cultivo, e produção de biomassa de 4,76 g/L após aproximadamente 52 horas de cultivo. A cepa de *K. lactis* não apresentou resultados expressivos quanto a conversão da lactose de soro de ricota em etanol.

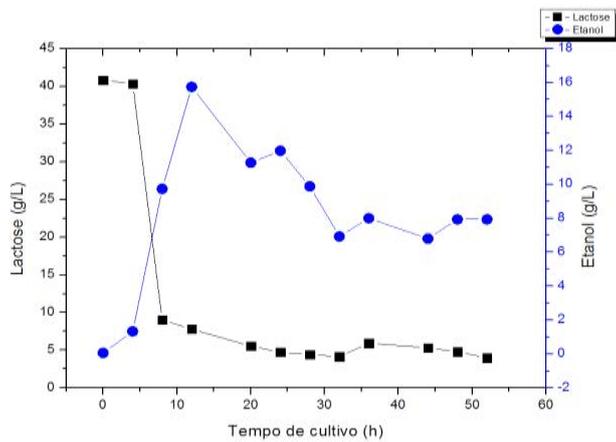


Figura 1. Variação dos teores de lactose e etanol da *Kluyveromyces marxianus* ATCC 46537 ao longo do cultivo em soro de ricota autoclavado.

Conclusão

Os resultados obtidos indicam que é possível obter etanol a partir da fermentação da lactose presente no soro de ricota com o emprego de leveduras da espécie *Kluyveromyces marxianus*. A cepa *Kluyveromyces marxianus* ATCC 46537 apresentou maior consumo de lactose que correspondeu a maior produção de etanol.

¹ Sansonetti, S. et al. *Bioresource Technology* 2011, v. 102, n. 16, p. 7513-7520.

² Sansonetti, S. et al. *Biomass and Bioenergy* 2009, v. 33, n.12, p. 1687-1692.

³ Ozmihci, S.; Kargi, F. *Biochemical Engineering Journal* 2008, v. 42, n. 2, p. 180-185.

Agradecimentos

As Empresas LACMAX e 4G pela doação do soro de ricota e disponibilização de infraestrutura para as análises, respectivamente. A FAPERGS pelo auxílio financeiro e a CAPES/PROSUP - Programa de Suporte à Pós-Graduação de Instituições de Ensino Particulares pela bolsa de estudos.

Variação na composição química de folhas de erva-mate e sua influência no enriquecimento de um produto farináceo com extrato da planta

Christiane Faccin¹, Letícia Rodrigues Vieira², Norton Dametto², Elisete Maria de Freitas³

¹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia; ²Bolsista de Iniciação Científica, Curso de Ciências Biológicas;

³Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia; Univates.

E-mail: chrisfaccin@hotmail.com

Palavras-chave: *Ilex paraguariensis*. Morfologia. Manejo.

Introdução

Ilex paraguariensis A.St.-Hil., conhecida como erva-mate, é uma espécie nativa com altas concentrações de metilxantinas, ácidos fenólicos, taninos e alcaloides¹. Apresenta importância ambiental, social e econômica, principalmente no Vale do Taquari/RS que é responsável por 51% da produção de erva-mate do Estado². O seu consumo na forma de chimarrão não está mais restrito às regiões produtoras e tem aumentado graças ao incremento populacional e à adesão de novas pessoas ao hábito³. A composição química diversificada a torna uma planta promissora para elaboração de produtos alimentícios³. Sua aplicação poderá definir um alimento antigo, como o pão, em um novo produto, agregando os benefícios da planta a este. Assim, o trabalho tem como objetivo, desenvolver um produto farináceo com extrato da erva e verificar se as variações morfológicas das folhas e a procedência das mudas da espécie refletem na composição química da erva e na qualidade do produto final desenvolvido.

Material e Métodos

Análises químicas de plantas de origem Argentina e nativa regional. Obtenção da área foliar de 10 indivíduos nativos de diferentes manejos (plantio e natural) com o programa ImageJ. Com base na semelhança na área foliar, os indivíduos foram agrupados para análises químicas. Testes com extratos aquosos nas concentrações 200, 300 e 400 g foram realizados para definir a concentração ideal para uso no produto farináceo a ser desenvolvido. O extrato será obtido do grupo com as melhores características.

Resultados e discussão

Resultados parciais das análises químicas para a erva-mate cancheada de origem Argentina e nativa indicam valores semelhantes dos parâmetros (Tabela 1). Os cálculos da área foliar mostraram diferenças entre os indivíduos nativos em plantios e mantidos na forma natural em meio à floresta (Tabela 2), conforme afirmam os produtores regionais. Com base nesses dados, foram formados três grupos para cada tipo de manejo. Para a erva nativa, o grupo 1 foi composto pelas plantas 2, 4 e 8; o grupo 2 com as 1, 3, 5, 6, 9 e 10 e, o grupo 3 pela planta 7. Os grupos com a erva nativa mantida em plantios foram: grupo 1 com a planta 1; grupo 2 pelas 2, 4, 7, 9 e 10 e grupo 3, composto pelas ervas 3, 5, 6 e 8. Para o extrato, definiu-se a proporção de 4:10, que obteve coloração mais intensa e maior concentração de erva. O extrato está sendo utilizado no desenvolvimento do farináceo que, mesmo aguardando os resultados das análises químicas, estão sendo testadas para definir a formulação e processamento do pão.

Análises	Nativa	Argentina
Umidade %	3,5	3,4
Cinzas, g/100g	6,8	7,1
Gordura, g/100g	5,3	4,5
Proteínas, g/100g	8,7	10,9

Tabela 1: Resultados parciais das análises químicas para erva cancheada nativa e de origem Argentina.

Planta	Área (cm ²)	
	Natural	Plantio
1	42,039	46,761
2	68,461	34,885
3	34,784	27,012
4	55,441	33,186
5	38,556	28,539
6	38,913	23,566
7	17,162	32,759
8	81,945	18,576
9	44,951	33,406
10	35,752	32,887

Tabela 2: Área foliar média dos indivíduos de erva-mate mantidos em diferentes manejos (plantio e natural).

Conclusão

Os resultados parciais apontam pequenas variações na composição química de plantas de diferentes origens. Há necessidade de mais estudos relativos às análises da composição química, antes do desenvolvimento do extrato aquoso e formulação do produto final. Os testes iniciais mostram que a concentração de 400 g por litro de água é a mais indicada para o uso no produto farináceo a ser produzido.

¹Vieira M.; Maraschin, M.; Pagliosa, C.; Podestá, Rossana; Amboni, R.; Amante, E.. Análise de compostos fenólicos, metilxantinas, tanino e atividade antioxidante de resíduo do processamento da erva-mate: uma nova fonte potencial de antioxidantes. International Workshop/ Advances in Cleaner Production, 2. São Paulo, 2009.

²EMBRAPA. Florestas. Cultivo da Erva-Mate. Sistemas de Produção, 1. Moacir José Sales Medrado, 2005. Versão Eletrônica. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Erva-mate/CultivodaErvaMate/>>. Acesso em: 20 fev. 2013.

³SINDIMATE. Seminário sobre a Indicação Geográfica da erva-mate da região do Pólo do Vale do Taquari, 2., 2013, Ilópolis, RS. Disponível em: <<http://www.sindimaters.org.br>>. Acesso em: 15 mar. 2013.



R. Avelino Tallini, 171 | Bairro Universitário | Lajeado | RS | Brasil
CEP 95900.000 | Cx. Postal 155 | Fone: (51) 3714.7000
www.univates.br | 0800 7 07 08 09