

# ANAIS DO 1º INOVABIOTEC 2019

CONGRESSO DE INOVAÇÃO E BIOTECNOLOGIA

**16 A 19 DE JULHO**

[UNIVATES.BR/INOVABIOTEC](http://UNIVATES.BR/INOVABIOTEC)

[FACEBOOK.COM/INOVABIOTEC](https://FACEBOOK.COM/INOVABIOTEC)

[INOVABIOTEC@UNIVATES.BR](mailto:INOVABIOTEC@UNIVATES.BR)

Realização



EDITORA  
UNIVATES

Apoio



Ivan Cunha Bustamante Filho  
Eduardo Miranda Ethur  
Lucélia Hoehne  
João Antonio Pêgas Henriques  
Luis Fernando Saraiva Macedo Timmers  
Taiane Schneider  
Geovana Reichert Barin  
Adriano Gennari  
Giseli Buffon  
Sabrina Grando Cordeiro  
Ytan Andreine Schweizer  
Camila Rockenbach da Silva  
Ani Carolina Weber  
Gabriela Kuhn  
Manoela Pasini  
(Orgs.)

# ANAIS DO 1º CONGRESSO DE INOVAÇÃO E BIOTECNOLOGIA - INOVABIOTEC

1ª edição



EDITORA  
**UNIVATES**

Lajeado, 2019



DE ENSINO  
SUPERIOR  
NO VALE  
DO TAQUARI

**Universidade do Vale do Taquari - Univates**

**Reitor:** Prof. Me. Ney José Lazzari

**Vice-Reitor e Presidente da Fuvates:** Prof. Dr. Carlos Cândido da Silva Cyrne

**Pró-Reitora de Pesquisa, Extensão e Pós-Graduação:** Profa. Dra. Maria Madalena Dullius

**Pró-Reitora de Ensino:** Profa. Dra. Fernanda Storck Pinheiro

**Pró-Reitora de Desenvolvimento Institucional:** Profa. Dra. Júlia Elisabete Barden

**Pró-Reitor Administrativo:** Prof. Me. Oto Roberto Moerschbaecher



EDITORA  
**UNIVATES**

**Editora Univates**

**Coordenação:** Ana Paula Lisboa Monteiro

**Editoração e capa:** Glauber Röhrig e Marlon Alceu Cristófoli

**Conselho Editorial da Editora Univates**

**Titulares**

Alexandre André Feil

André Anjos da Silva

Fernanda Rocha da Trindade

João Miguel Back

Sônia Elisa Marchi Gonzatti

**Suplentes**

Fernanda Cristina Wiebusch Sindelar

Claudete Rempel

Adriane Pozzobon

Rogério José Schuck

Evandro Franzen

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

Fone: (51) 3714-7024 / Fone: (51) 3714-7000, R.: 5984

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

C749 Congresso de Inovação e Biotecnologia - InovaBiotec (1. : 2019 : Lajeado, RS)

Anais do 1º Congresso de Inovação e Biotecnologia - InovaBiotec, 16 a 19 de julho de 2019, Lajeado, RS / Ivan Cunha Bustamante Filho et al. (Org.) – Lajeado : Editora Univates, 2019.

123 p.

ISBN 978-85-8167-283-0

1. Inovação. 2. Biotecnologia. 3. Anais. I. Bustamante Filho, Ivan Cunha et al. II. Título.

CDU: 57.08

Catálogo na publicação (CIP) – Biblioteca da Univates  
Bibliotecária Andrieli Mara Lanferdini – CRB 10/2279

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

# 1º INOVABIOTEC 2019

CONGRESSO DE INOVAÇÃO E BIOTECNOLOGIA

UNIVATES.BR/INOVABIOTEC

FACEBOOK.COM/INOVABIOTEC

INOVABIOTEC@UNIVATES.BR

16 A 19  
DE JULHO

## Coordenação Geral

Dr. Ivan Cunha Bustamante Filho

## Comissão Organizadora

Dr. Ivan Cunha Bustamante Filho

Dr. Eduardo Miranda Ethur

Dra. Lucélia Hoehne

Dr. João Antonio Pêgas Henriques

Dr. Luis Fernando Saraiva Macedo

Timmers

Dra. Taiane Schneider

Geovana Reichert Barin

Adriano Gennari

Giseli Buffon

Sabrina Grandó Cordeiro

Ytan Andreine Schweizer

Camila Rockenbach da Silva

Ani Carolina Weber

Gabriela Kuhn

Manoela Pasini

## Comissão Científica

Dra. Elisete Maria de Freitas  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dr. Eduardo Miranda Ethur  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dr. Ivan Cunha Bustamante Filho  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dr. João Antonio Pêgas Henriques  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dra. Lucélia Hoehne  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dr. Raul Antonio Sperotto  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dra. Camille E. Granada  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dra. Cláucia Volken de Souza  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dr. Noeli Juarez Ferla  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dra. Márcia Inês Goettert  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dra. Daiane Heidrich  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dra. Verônica Contini  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dra. Ana Lucia Abujamra  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dr. Luis Fernando Saraiva Macedo  
Timmers  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dra. Júlia Elisabete Barden  
(Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dr. André Luiz Jeovanio da Silva  
(Instituto Nacional da Propriedade Industrial - INPI)

Dr. Valeriano Antonio Corbellini  
(Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC)

Dr. Rafael Caceres  
(Universidade Federal de Ciências da Saúde de  
Porto Alegre - UFCSPA)

Dra. Luciane Maria Colla  
(Universidade de Passo Fundo - UPF)

Dra. Geisa Paulino Caprini Evaristo  
(Fundação Oswaldo Cruz Noroeste - FIOCRUZ)

Dr. Cristiano Valin Bizzarro  
(Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande  
do Sul - PUCRS)

## Realização



DE ENSINO  
SUPERIOR  
NO VALE  
DO TAQUARI

## Apoio



## Apresentação

O InovaBiotec – Congresso de Inovação e Biotecnologia, promovido pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade do Vale do Taquari – Univates, Lajeado, RS, tem como objetivo oportunizar a troca de informações e discussão do cenário atual e futuro da Biotecnologia, tanto no aspecto regional como nacional e mundial. Os participantes tiveram a oportunidade de conhecer o que há de atual em diferentes tópicos da Biotecnologia, participando de forma ativa de discussões sobre pesquisa biotecnológica básica e aplicada.

O programa do evento buscou atender a diferentes demandas, do estudante de graduação ao empresário que busca conhecer oportunidade em bionegócios. Assim, o objetivo do InovaBiotec foi proporcionar um ambiente de ampla discussão e troca de informações sobre os mais diversos temas da biotecnologia atual e suas tendências, reunindo pesquisadores de todos os níveis (alunos de graduação e pós-graduação, pós-doutorandos, professores). Além de promover uma maior integração com o meio acadêmico o InovaBiotec, em colaboração com a Rede SulBiotec, proporcionou uma tarde de discussões sobre bionegócios e bioeconomia, buscando incentivar a aproximação do desenvolvimento de biotecnologias com ações empreendedoras, fomentando a criação de novos negócios, como por exemplo startups e spin-offs.

Durante o evento, que ocorreu ao longo dos dias 16, 17, 18 e 19 de julho de 2019, mais de 100 participantes assistiram a quinze palestras, seis minicursos, dois painéis de discussão, ministrados por pesquisadores convidados dos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul e ainda do Distrito Federal. Por fim, no InovaBiotec, seis resumos enviados foram selecionados para a apresentação de forma oral e 106 trabalhos foram apresentados na forma de pôsteres. Foram feitas premiações para a melhor apresentação oral, Menção Honrosa, e seis pôsteres premiados. Dessa forma, o evento obteve seu objetivo de proporcionar maior interação entre profissionais, empresas, estudantes, pesquisadores e demais interessados na área da biotecnologia, auxiliando na disseminação desta área que a cada dia se torna mais próxima a todos e que evolui ao nosso benefício.

*Comissão organizadora.*

## Agradecimentos

A Comissão Organizadora do 1º InovaBiotec - Congresso de Inovação e Biotecnologia agradece à Universidade do Vale do Taquari (Univates) pelo apoio e infraestrutura para a realização do evento, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo auxílio financeiro por meio do Edital AOE 02/2019, a Rede SulBiotec pela parceria na elaboração e divulgação do evento, as empresas ACTGene - Análises Moleculares e a Ludwig Biotecnologia pelo patrocínio, e aos pesquisadores por sua importante contribuição na avaliação dos resumos submetidos:

Dr. Ivan Cunha Bustamante Filho (Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dra. Cláucia Fernanda Volken de Souza (Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dra. Márcia Inês Goettert (Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dra. Daiane Heidrich (Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dr. Rafael Andrade Caceres (Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA)

Dr. Raul Antonio Sperotto (Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dr. Eduardo Miranda Ethur (Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dr. João Antonio Pêgas Henriques (Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dr. Luís Fernando Saraiva Macedo Timmers (Universidade do Vale do Taquari - Univates)

Dr. Alexandro Cagliari (Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS)

Dra. Joséli Schwambach (Universidade de Caxias do Sul - UCS)

Dra. Lucélia Hoehne (Universidade do Vale do Taquari - Univates)

## Sumário

### Biotecnologia Agroalimentar

Desenvolvimento de uma formulação de alimento probiótico à base de arroz .....	14
Bactérias ácido lácticas autóctones de leite in natura: isolamento de culturas e avaliação da atividade antimicrobiana no controle de Salmonella sp.....	15
Microencapsulamento de Lactobacillus pentosus ML-82 por spray drying utilizando como material de parede soros lácteos de diferentes espécies .....	16
Isolamento e identificação de bactérias ácido-lácticas do leite bovino proveniente da Fazenda São Bento, SP .....	17
Caracterização do resíduo da vinificação com vistas a utilização para a produção de xilooligossacarídeos .....	18
Obtenção de aminoácidos de cadeia ramificada do soro de queijo bubalino por meio de hidrólise enzimática .....	19
Quantificação e avaliação da bioacessibilidade in vitro de potássio na banana prata .....	20
Síntese de nanofibras de poli ácido láctico contendo óleo essencial de pimenta rosa (Schinus therebinthifolius Raddi).....	21
Caracterização de xilanase bruta e parcialmente purificada produzida por Aureobasidium pullulans utilizando farelo de arroz como substrato .....	22
Cellulase production by Rhizopus oryzae by solid state fermentation with agroindustrial residue.....	23
Obtenção Da Enzima $\beta$ -Galactosidase recombinante de Kluyveromyces marxianus utilizando soros lácteos como indutores.....	24
Acarofauna associada à varietal Rainha Itália (Vitis vinifera L.) no Vale do Taquari, Rio Grande do Sul.....	26
Utilização da enzima $\beta$ -galactosidase imobilizada em colágeno como biocatalisador em processos contínuos e em batelada.....	27
Efeito da hidrólise enzimática sobre os potenciais antioxidantes e a solubilidade da proteína isolada de soja .....	28
Avaliação da expressão da enzima $\beta$ -Galactosidase recombinante utilizando diferentes indutores.....	29
Growth of Brazilian Lactobacillus paracasei ATR6 in dairy by-products .....	31

Determinação das curvas de secagem de <i>Citrus reticulata</i> para obtenção de farinhas funcionais e bioativas.....	32
Eletrocoagulação como método de colheita para <i>Spirulina platensis</i> .....	33
Avaliação de diferentes condições de cultivo para a otimização da produção de ácidos graxos na microalga <i>Parachlorella kessleri</i> .....	34
Viabilidade de <i>Lactobacillus</i> spp. microencapsulados por extrusão com tecnologia de vibração.....	35
Inoculation of soil bacteria aiming to increase cold tolerance in rice plants.....	36
Clonagem do gene que codifica a $\beta$ -Galactosidase para purificação em uma etapa via domínio de ligação em celulose.....	37
Produção de Pectinases via cultivo fúngico de resíduo da industrialização de suco de cítrus orgânico .....	38
Incremento de parâmetros morfofisiológicos de plântulas de pepino inoculadas com duas espécies de <i>Trichoderma</i> .....	39
Caracterização e secagem de resíduo de fabricação de cerveja.....	40
Estudo da cinética e condições otimizadas para obtenção de etanol a partir da beterraba ( <i>Beta vulgaris</i> L.).....	41
Hidrólise enzimática de resíduo vinícola submetido a pré-tratamento ácido com e sem sonificação.....	42

## **Biotecnologia Ambiental**

Estudo da composição do meio de cultivo para produção de biossurfactantes bacterianos.....	44
Cultivo de microalgas em consórcio visando o acúmulo de carboidratos intracelulares.....	45
Avaliação do pré tratamento de inóculos em temperatura ambiente (~28°C) e mesofílica (35°C) na codigestão anaeróbica de dejetos suíno, bovino e aves.....	46
Avaliação de atividade enzimática em fungos ambientais.....	47
Desenvolvimento de um método rápido e de fácil implementação para o monitoramento do crescimento de microalgas em diferentes tratamentos culturais.....	48
Biodegradação de micropoluentes .....	49
Teste de suscetibilidade para a avaliação da degradação da amoxicilina.....	50
Verificação da qualidade microbiológica do ar em uma instituição de ensino no interior do Rio Grande do Sul.....	51

## Biotecnologia Animal

Atividade antimicrobiana de <i>Cymbopogon citratus</i> em bactérias de lesões cutâneas de cães.....	53
Influência dos fatores climáticos na produção e reprodução bovina .....	54
Avaliação do sistema reprodutor de camundongos expostos a efluentes de curtume .....	55
Employment of the 18s rRNA screening PCR technique in the detection of Equine Piroplasmosis, in horses of sports and military operations, of the Brazil .....	56
Estudo de genes de referência em Zebrafish ( <i>Danio rerio</i> ) transgênicos superexpressando o hormônio do crescimento.....	57
Expressão gênica de proteínas candidatas a marcadores moleculares em um modelo de degeneração testicular em suínos .....	58
Efeitos do efluente de curtume no sistema reprodutor em camundongos fêmeas Balb/cj .....	59

## Biotecnologia em Saúde

Efeitos da interação entre o consumo de cafeína e variantes dos genes ADORA2A, DRD2 e AHR sobre desfechos comportamentais.....	61
Alterações da função hepática e renal associadas ao consumo de álcool .....	62
Potencial inovador do extrato de <i>Pleurotus albidus</i> como cardioprotetor .....	63
Análise de expressão diferencial de genes: uma solução computacional para identificação de biomarcadores em tumores gástricos em humanos.....	64
Avaliação do efeito antitumoral de uma Naftodiantrona e sua combinação a um inibidor seletivo de p38 MAPK em células de Hepatocarcinoma.....	65
Análogos de Curcumina: inibição da proliferação celular em linhagem 5637 de carcinoma de bexiga.....	66
Efeito antitumoral dos extratos brutos de Cianobactérias de sistema Hipersalino em células de Glioblastoma.....	67
Score de risco genético de 21 variantes para doença arterial coronariana.....	68
Atividade antifúngica de extratos de espécies nativas da família Myrtaceae frente a isolados clínicos dermatológicos.....	69
Effects of p38/MAPK inhibitors on glioma cells proliferation .....	70
EPSP sintase como um alvo alternativo para o desenvolvimento de fármacos para a hanseníase.....	71
JAK and p38 MAPK inhibitors regulate hepatocellular carcinoma viability and proliferation .....	72

Expressão do gene IDH2 em cultura de células KASUMI-1 tratadas com quimioterápicos clássicos e o agente desmetilante decitabina.....	73
Citocinas inflamatórias liberadas por macrófagos tratados com um inibidor de JAK3.....	74
Avaliação da atividade antibiofilme do extrato aquoso de <i>Eugenia anomala</i> contra <i>Listeria monocytogenes</i> .....	75
Genetic resistance to purine nucleoside phosphorylase inhibition in <i>Plasmodium falciparum</i> .....	76
Potencial biotecnológico de produtos naturais: associação de prebiótico com probiótico analisados em modelos experimentais in vitro.....	77
Investigação do consumo alimentar, parâmetros antropométricos e bioquímicos de adultos: implicações para a nutrigenética.....	78
Avaliação da atividade antibiofilme e antimicrobiana do óleo essencial de frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> frente a <i>Listeria monocytogenes</i> .....	79
Polimorfismos dos genes LEP e LEPR e sua relação com parâmetros antropométricos, bioquímicos e consumo de carboidratos em adultos.....	80
Relação entre componentes sanguíneos em pacientes diagnosticados com doenças onco-hematológicas.....	81
Perfil filogenético e epidemiologia molecular de cepas de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> entre a população privada de liberdade do Rio Grande do Sul.....	82
Estudo dos níveis de vitamina D e sua associação com polimorfismos genéticos e sintomas de ansiedade e depressão.....	83

## Biotecnologia Vegetal

Avaliação do efeito fitotóxico do extrato aquoso de <i>Pinus elliottii</i> sobre ervas invasoras de sistemas de cultivo agrícola.....	85
Tolerância ao frio em plantas de arroz através da inoculação de bactérias rizosféricas.....	86
Seleção de microrganismos de solos contaminados com cobre e seu efeito na promoção de crescimento de videiras.....	87
Respostas fisiológicas e moleculares em raízes de plantas de arroz submetidas à baixa temperatura.....	88
Presença de compostos orgânicos em plantas restritas ao pampa.....	89
Controle alternativo com óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i> : caracterização química, controle da podridão amarga em uvas e análise sensorial.....	90
Cinética de infestação do Percevejo-Do-Colmo ( <i>Tibraca limbativentris</i> - Heteroptera: Pentatomidae) em plantas de arroz baseada em danos visuais.....	91
Avaliação de Húmus Líquido (CHORUME) proveniente de vermicompostagem como fertilizante em tabaco do tipo virgínia.....	92

Germinação in vitro de <i>Coccocypselum lanceolatum</i> (Ruiz & Pav.) Pers. em diferentes concentrações de meio MS .....	93
Germinação in vitro de <i>Plantago tomentosa</i> Lam. em diferentes concentrações de meio MS.....	94
Óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i> no controle in vitro da requeima-das-folhas em <i>Vitis</i> spp. ....	95

## Biotecnologia Geral

Sequenciamento do 16S aplicado na identificação de uma nova cepa de <i>Bacillus</i> sp. com potencial agrícola .....	97
Fungi associated to agroindustrial substrates as sources of Cellulolytic Enzymes.....	98
Produção de glucanases por <i>Trichoderma</i> sp. e <i>Bacillus</i> sp. e suas aplicações biotecnológicas.....	99
Isolamento e caracterização de bactérias ácido lácticas com potencial Biotecnológico.....	100
<i>Bacillus Thuringiensis</i> : análises in vitro de receptores de proteínas cry.....	101
Utilização de ultrassom como ferramenta para intensificar a produção de esporos de <i>Beauveria bassiana</i> .....	102
Clusterização aplicada para sequências promotoras relacionadas aos fatores $\sigma$ alternativos de <i>Escherichia coli</i> : uma abordagem in silico.....	103
Caracterização química do resíduo pó de tabaco para emprego em bioprocessos .....	104
O uso de padrões moleculares para análise da identidade taxonômica das três espécies de <i>trichoderma</i> spp. no produto icb nutrisolo <i>trichoderma</i> .....	105
Pré-tratamento de casca de arroz com líquido iônico [C16MIM][Br] .....	106
Utilização de leveduras encapsuladas para elaboração de espumante pelo método champenoise.....	107
Extração de DNA Bacteriano: comparativo de kit comercial versus kit in house.....	108
Extração com fluido supercrítico de compostos antioxidantes produzidos pelo fungo <i>Diaporthe schini</i> .....	109
Concepção de linhagens de <i>Penicillium Echinulatum</i> Hiperprodutoras de coquetéis enzimáticos.....	110
Desenvolvimento e caracterização de um protótipo de escaneamento por bioimpedância elétrica (ebe) para diagnóstico da Mastite Bacteriana .....	111
Aproveitamento de levedura residual cervejeira como alternativa nutricional em meio de cultivo.....	112
Isolamento e identificação de leveduras selvagens não-convencionais.....	113
Estudos bioquímicos, biofísicos e estruturais de uma Feruloil-CoA sintetase e suas aplicações biotecnológicas.....	114

Reativação e Caracterização de Probióticos comerciais liofilizados .....	115
Avaliação da concentração inibitória mínima do extrato etanólico de própolis de abelhas nativas do RS frente à <i>Staphylococcus aureus</i> .....	116
Análise da Tetramerização da Proteína CD38 por meio de Docking Molecular.....	117
Obtenção de biomassa e lipídios pela levedura <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> ATCC 58901.....	118
Microbiologia forense de solos: aplicação de meta-ômicas na identificação de biomarcadores de geolocalização.....	119
Estudos estruturais da enzima Fosfolipase D de <i>Tetranychus Urticae</i> como alvo molecular para o desenvolvimento de novos acaricidas.....	120
Seleção bacteriana de 6 isolados de <i>Xanthomonas arboricola</i> pv <i>pruni</i> em comparação com cepa <i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>campestris</i> NRRL B-1459.....	121
Avaliação da expressão da enzima $\beta$ -galactosidase recombinante utilizando subprodutos da indústria de laticínios como indutores.....	122



# 1º INOVABIOTEC 2019

CONGRESSO DE INOVAÇÃO E BIOTECNOLOGIA

Resumos

## BIOTECNOLOGIA AGROALIMENTAR

## Desenvolvimento de uma formulação de alimento probiótico à base de arroz

Larissa do Prado Lopes<sup>1</sup>, C. R. Nespolo<sup>1</sup>, H. R. Appelt<sup>1</sup>, R. J. Roll<sup>1</sup>, M. E. A. Campos<sup>1</sup>, V. Y. F. Teixeira<sup>1</sup>, R. M. Castro<sup>1</sup>, D. M. Carvalho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA

**Resumo:** Os alimentos contendo probióticos têm efeitos benéficos à saúde como a regulação e normalização da microbiota intestinal, mas normalmente são derivados lácteos, que não podem ser consumidos por intolerantes à lactose e alérgicos às proteínas lácteas. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um produto alternativo à base de arroz contendo probióticos e avaliar as características do produto ao longo do armazenamento. Os microrganismos utilizados foram *actobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BioRich®). O arroz foi cozido, triturado em liquidificador com água fervida (1:1) e passado por uma peneira de malha de aço. A porção retida correspondeu a 42,86% e a que passou pela peneira foi 57,14%. A porção que passou pela peneira foi misturada com 6,2% de açúcar, essência de baunilha e os microrganismos, na proporção indicada pelo fabricante, ao atingir 40 a 45°C. A formulação foi envasada em recipientes plásticos com tampa, previamente higienizados, e o produto foi armazenado sob refrigeração a 7°C. As análises ocorreram aos 30 dias de armazenamento refrigerado e incluíram quantificação das bactérias lácticas, acidez titulável, pH e quantificação da sinesese ocorrida no produto. A contagem média de bactérias lácticas foi  $3,72 \pm 0,99$  log UFC/g, valor abaixo de 6 log UFC/g, que é o mínimo definido pela legislação brasileira para leites fermentados. Os valores médios de pH e acidez foram  $4,38 \pm 0,03$  e  $0,91 \pm 0,08\%$ , respectivamente, demonstrando que o produto desenvolveu acidez ao longo do armazenamento. A avaliação da sinesese demonstrou que  $12,80 \pm 1,26\%$  do líquido foi perdido, indicando a necessidade de adição de uma substância capaz de aumentar a retenção de líquido na formulação. Os resultados indicam a necessidade de adequação da formulação, através da adição de ágar para aumentar a retenção de líquido e de uma quantidade maior de microrganismos probióticos para alcançar o conteúdo presente nos probióticos lácteos. Será realizado o acompanhamento de vida útil do produto.

**Palavras-chave:** alimentos, probióticos, microbiota, microrganismos, lácteos.

# Bactérias ácido lácticas autóctones de leite in natura: isolamento de culturas e avaliação da atividade antimicrobiana no controle de *Salmonella* sp.

Ana Paula Morschbacher<sup>1</sup>, C. E. Granada<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** A indústria de ovos no Brasil representa uma importante atividade econômica, com tendência de crescimento por ser um alimento essencial na composição da dieta humana e considerado uma proteína de alto valor biológico. A produção em grande escala é exclusivamente em sistema industrial e o setor vem sofrendo restrições crescentes quanto à utilização de antibióticos durante o manejo e nutrição das aves, devido ao surgimento de culturas bacterianas resistentes que possam ser transmitidas ao homem. A salmonelose, doença causada por bactérias do gênero *Salmonella*, está intrinsecamente ligada à produção de ovos e é responsável por grande número de hospitalizações envolvendo consumidores no mundo todo. Atualmente, diversas pesquisas biotecnológicas vêm sendo realizadas buscando diferentes possibilidades no combate às infecções bacterianas das aves, e consequente contaminação dos ovos, pelo uso de antimicrobianos naturais produzidos por microrganismos. Neste cenário, surgem as bactérias ácido lácticas (BAL) como uma alternativa promissora devido a sua capacidade de produção de metabólitos primários e bacteriocinas, que são antimicrobianos de natureza proteica e uma alternativa ao uso de antibióticos. Esses compostos podem inibir o desenvolvimento e a ação de microrganismos patogênicos, tais como *Salmonella enteritidis* e *Salmonella typhimurium*, presentes em alimentos. Diante desta perspectiva, serão isoladas BAL autóctones de amostras de leite in natura provenientes de pequenos produtores da região do Vale do Taquari e será avaliado o potencial de inibição de crescimento de patógenos do gênero *Salmonella* sp por estes microrganismos. Espera-se identificar dez culturas de BAL com atividade antagonista, caracterizar a natureza proteica das substâncias antimicrobianas produzidas e promover a identificação molecular dessas culturas através de sequenciamento do gene 16S rRNA. A partir dos dados obtidos será possível selecionar uma cultura de BAL com maior atividade antimicrobiana em relação a microrganismos patogênicos visando à utilização na ração de aves poedeiras para minimização da contaminação final de ovos.

**Palavras-chave:** atividade antimicrobiana, BAL, *Salmonella* sp, ovos.

## Microencapsulamento de *Lactobacillus pentosus* ML-82 por spray drying utilizando como material de parede soros lácteos de diferentes espécies

Maiara Giroidi<sup>1</sup>, C.F.V. De Souza<sup>1</sup>, M.Goettert<sup>1</sup>, A.j.fuhr<sup>1</sup>, J.A.B.Soratto Da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** Bactérias lácticas são microrganismos encontrados na microbiota gastrintestinal humana, e muitas delas são classificadas como probióticas, pois conferem benefícios à saúde humana quando ingeridas em concentrações adequadas. No entanto, a administração oral dessas bactérias resulta em perda de viabilidade. Para minimizar os efeitos, o encapsulamento por spray drying é uma técnica utilizada na indústria de alimentos para proporcionar uma barreira física protetora contra esses ambientes adversos. Nesse contexto, os subprodutos lácteos são uma alternativa de material encapsulante, devido à composição e capacidade de proteção durante a secagem por spray drying, armazenamento e passagem pelo trato gastrintestinal simulado. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do microencapsulamento por spray drying de *Lactobacillus pentosus* ML-82 utilizando soro de queijo de diferentes origens e derivado do soro de queijo bovino como materiais de parede. O *L. pentosus* ML-82 é uma bactéria endógena isolada de leite in natura da região do Vale do Taquari. No microencapsulamento por spray drying, soro de queijo bovino e bubalino e o permeado de soro bovino foram utilizados como agentes encapsulantes do *L. pentosus* ML-82. Todos os materiais de parede utilizados promoveram a proteção do microrganismo contra altas temperaturas utilizadas no processo de encapsulamento, permanecendo com uma viabilidade superior a 10 log UFC/g. As microcápsulas foram armazenadas em temperatura de 25 °C por 90 dias. Após o período, apresentaram elevada viabilidade celular, sendo essa superior a 6 log UFC/g. Independentemente do material encapsulante utilizado, todas as microcápsulas apresentaram morfologias semelhantes, com tamanho entre 7,77 e 17,76 µm. O encapsulamento por spray drying e a utilização dos soros lácteos como materiais encapsulantes mostraram ser eficientes na proteção do microrganismo estudado durante o processo de encapsulamento e o armazenamento à temperatura de 25 °C. Sendo assim, são uma alternativa de aplicação, promovendo agregação de valor aos soros lácteos.

**Palavras-chave:** bactérias ácido-lácticas; encapsulamento; spray drying; armazenamento; trato gastrintestinal simulado; soros lácteos.

# Isolamento e identificação de bactérias ácido-lácticas do leite bovino proveniente da Fazenda São Bento, SP

Daniel Kuhn<sup>1</sup>, C. F. V. de Souza<sup>1</sup>, L. Hoehne<sup>1</sup>, M. J. Maciel<sup>1</sup>, S. Beux<sup>2</sup>, G. de P. Vieira<sup>1</sup>, G. R. Rama<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR - Câmpus Pato Branco,

**Resumo:** Bactérias ácido-lácticas (BAL) são microrganismos cujo principal produto da fermentação é o ácido láctico. São utilizadas na fabricação de queijos, além de outros produtos alimentícios, desempenhando um importante e essencial papel durante a fabricação e maturação, conferindo qualidades nutricionais e sensoriais ao produto. A produção de queijo se baseia na aplicação de BAL na forma de culturas iniciadoras definidas (denominadas starter), e de culturas importantes para o processo de maturação, responsáveis pelo desenvolvimento de aroma e sabor (denominadas não starter). Os fermentos lácteos comerciais são uma mistura de diferentes cepas padrões, utilizadas tradicionalmente para a fermentação de produtos lácteos. Ao empregar esses fermentos, as indústrias obtêm produtos com características sensoriais similares, sem oferecer desse modo um produto diferenciado. Uma coleção de bactérias lácticas originárias de um local específico pode possibilitar a obtenção de um produto com características sensoriais singulares. Com esse intuito, a empresa Milk, Education and Quality (MEQ) desenvolve um trabalho em sua fazenda produtora de leite, a Fazenda São Bento, aprimorando os processos e a qualidade do leite produzido, a fim de estabelecer uma produção de queijos com fermentos endógenos. O objetivo desse trabalho é isolar, identificar e caracterizar BAL do leite bovino proveniente da Fazenda São Bento. O isolamento está sendo realizado do leite cru, do leite pasteurizado e da cultura natural do leite (acidez de 10 - 12 °SH/50 mL). Após diluições seriadas em água peptonada, realiza-se o isolamento em ágar M17 (aerobiose, 48 h) e ágar Rogosa (anaerobiose, 72 h), incubados a 30 e 42 °C. De 10 a 15 colônias provenientes do ágar M17 e do ágar Rogosa são isoladas e purificadas com duas passagens sequenciais em ágar M17 e ágar MRS (de Man, Rogosa and Sharpe), respectivamente. As colônias Gram positivas e catalase negativas são encaminhadas para identificação através de Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS). Até o momento foram isolados e identificados 141 microrganismos, destes 91,1% são BAL. Os resultados indicam a presença de *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Leuconostoc lactis* e *Lactobacillus acidophilus* nas amostras do leite da Fazenda São Bento. Os microrganismos isolados e identificados apresentam potencial para uso como cultura láctica na elaboração de queijos.

**Palavras-chave:** Bactérias ácido-lácticas; isolamento; queijo;

# Caracterização do resíduo da vinificação com vistas a utilização para a produção de xilooligossacarídeos

Lais Lüdtke<sup>1</sup>, S. B. Silva<sup>1</sup>, N. C. Manica<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS

**Resumo:** O estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor de uvas do Brasil, sendo que o processo de produção de vinhos e sucos de uva gera quantidades significativas de resíduos. Esses resíduos constituídos principalmente por bagaço de vinificação e engaço da uva são potencialmente ricos em material lignocelulósico. Os xilooligossacarídeos (XOS) são oligômeros constituídos de 2 a 7 monômeros de xilose que podem ser obtidos a partir da fração hemicelulose de materiais lignocelulósicos. Os XOS são considerados prebióticos e apresentam aplicações na área de alimentos funcionais. O objetivo do trabalho foi caracterizar o bagaço proveniente do processo de vinificação de uva bordô (*Vitis labrusca*) com vistas a produção de xilooligossacarídeos via cultivo fúngico. O bagaço foi previamente desidratado em estufa de circulação de ar a temperatura de 65°C, por 9 horas. Após, o material passou por processo de moagem e caracterização granulométrica. Determinou-se a umidade do resíduo in natura e após a desidratação. Cinzas e proteína foram determinados segundo os métodos analíticos do Instituto Adolfo Lutz, sendo a proteína, pelo método Kjeldhal. O teor de açúcares redutores foi determinado pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico. Os resultados mostraram que o teor de umidade do bagaço in natura é 59,0%. Após a secagem, se obteve um teor de umidade de 8,23%, teor de proteína de 10,57%, cinzas de 5,31%, açúcares redutores de 4,82% e pH igual a 3,69. O teor de material lignocelulósico, determinado por diferença, é de aproximadamente 71 %. Quanto ao ensaio granulométrico do resíduo, os resultados mostram que 87% apresentam granulometria igual ou superior a 0,59 mm. A partir da caracterização realizada, verifica-se o potencial de uso do bagaço de vinificação para utilização em bioprocessos. O trabalho está em andamento e essas são etapas preliminares para posterior utilização dos resíduos da vinificação como substrato para o cultivo em estado sólido de *Pleurotus ostreatus* para produção de xilanases e xilooligossacarídeos. Estudos realizados por outros autores demonstraram o potencial do bagaço de uva branca para a produção de xilanases. No entanto, nenhum trabalho foi encontrado utilizando resíduos de uva bordô para produção de xilanases ou xilooligossacarídeos.

**Palavras-chave:** bagaço de vinificação, resíduo agroindustrial, material lignocelulósico, substrato para bioprocessos, xilooligossacarídeos.

## Obtenção de aminoácidos de cadeia ramificada do soro de queijo bubalino por meio de hidrólise enzimática

Lauren Mazutti Grando<sup>1</sup>, C. F. V. de Souza<sup>1</sup>, M. I. Goettert<sup>1</sup>, E. Bald<sup>1</sup>, M. Girolidi<sup>1</sup>, P. Fassina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** O soro de queijo de búfala hidrolisado pode ser fonte de aminoácidos de cadeia ramificada (*Branched Chain Amino Acids* - BCAA) (L-leucina, L-valina e L-isoleucina), de forma que a suplementação nutricional de desportistas pode ser uma alternativa de aproveitamento deste soro. Neste contexto, o objetivo desse trabalho é hidrolisar as proteínas do soro de queijo bubalino para a obtenção de um *Whey protein* (WP) com disponibilidade dos BCAA. O estudo é do tipo transversal, qualitativo e quantitativo. Para este, o soro foi fornecido por uma indústria de laticínios do Rio Grande do Sul e, primeiramente, foi nanofiltrado em processo de separação por membranas (PSM) para a concentração das proteínas. Em seguida, para avaliar a eficácia do PSM, foi analisada a composição centesimal dos soros *in natura* e concentrado quanto às proteínas totais (PTN), cinzas, umidade e gordura total (LIP), e carboidratos (HC) foram determinados por diferença. O concentrado proteico foi hidrolisado empregando cinco proteases comerciais (A, B, C, D e E) em diferentes concentrações enzimáticas, nas suas condições ótimas de temperatura e sem alteração do pH do soro, sendo este processo monitorado em diversos tempos. O hidrolisado escolhido foi aquele que apresentou a melhor condição de hidrólise, ou seja, maior concentração dos BCAA. Para tal avaliação foi utilizada a técnica qualitativa de cromatografia de camada delgada (CCD) e quantitativa de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O PSM por nanofiltração concentrou as proteínas do soro, apresentando  $8,77 \pm 1,10\%$  de HC;  $1,72 \pm 0,00\%$  de PTN;  $1,27 \pm 0,01\%$  de LIP;  $5,86 \pm 0,11\%$  de cinzas e  $82,96 \pm 0,31\%$  de umidade para o soro concentrado e  $1,60 \pm 0,10\%$  de HC;  $0,99 \pm 0,12\%$  de PTN;  $0,70 \pm 0,05\%$  de LIP;  $4,03 \pm 0,01\%$  de cinzas e  $92,69 \pm 0,04\%$  de umidade para o soro *in natura*. Na análise de CCD, os melhores resultados foram obtidos com a enzima B na concentração de 500 U/g proteína do soro em sua temperatura ótima de atividade enzimática (50 °C), no pH do soro de queijo bubalino (5,7) e no tempo de hidrólise de 24 h. Isso confirmou-se na CLAE, com maior presença de BCAA na mesma amostra. Foram obtidos os valores de  $476,79 \pm 2,17$  mg/L de valina;  $2946,25 \pm 29,34$  mg/L de isoleucina e  $463,35 \pm 3,05$  mg/L de leucina. O hidrolisado proteico do soro de queijo bubalino apresentou disponibilidade dos BCAA, indicando a possibilidade de uso como suplemento nutricional para atletas.

**Palavras-Chave:** Aminoácidos de cadeia ramificada. Suplemento. *Whey protein*.

## Quantificação e avaliação da bioacessibilidade in vitro de potássio na banana prata

Sabrina Grando Cordeiro<sup>1</sup>, C. F. V. Souza<sup>1</sup>, D. Kunzler<sup>1</sup>, G. Vettorello<sup>1</sup>, E. M. Ethur<sup>1</sup>, A. C. Weber<sup>1</sup>, L. Hoehne<sup>1</sup>, Y. A. Shweizer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** A ingestão correta de nutrientes é essencial para o bom funcionamento do metabolismo humano, uma vez que cada vez mais busca-se uma nutrição balanceada a fim de prevenir ou remediar possíveis doenças advindas da má alimentação e deficiência de nutrientes. Em geral, as frutas e hortaliças são uma opção para o consumo, já que são alimentos ricos em minerais, água, fibras, vitaminas e nutrientes. A banana prata (*Musa acuminata* 'Dwarf Cavendish'), por ser barata e de fácil obtenção, é uma das frutas mais consumidas no Brasil, e é conhecida por ser fonte de energia e de potássio (K), além de outros minerais. De acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (Taco), a cada 100 g de banana, 358 mg são de potássio. Esse micronutriente é essencial na alimentação humana, já que ele pode prevenir doenças cardiovasculares, doenças mentais, além de regular o metabolismo e auxiliar em dores musculares. No entanto, sabe-se que nem toda a parcela do alimento é metabolizada pelo organismo, e uma boa parte é excretada. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a concentração de potássio da fração bioacessível da banana prata. O experimento baseou-se na simulação de um sistema gastro-intestinal, por onde o alimento permanece por um período de tempo similar ao que fica no organismo, para posterior avaliação de minerais. O experimento foi conduzido macerando quantidades de banana prata até a homogeneidade. Após, uma alíquota de 5 g do alimento foi submetida à digestão, em contato com sais e enzimas que simulam a fase oral (saliva), fase intestinal (suco intestinal) e fase gástrica (suco gástrico), realizando controle de pH, temperatura e tempo de digestão, tal qual à humana. Após a digestão, uma centrifugação foi conduzida, a fim de coletar apenas o material líquido, para posterior avaliação de concentração do potássio através da técnica de fotometria de chama. Ainda, alíquotas de aproximadamente 0,5 g da banana também foram submetidas a digestão completa do alimento com o auxílio de um forno de microondas. Como resultados, verificou-se que a 82% da concentração total de potássio foi absorvida no organismo. Esses resultados podem auxiliar em dietas que necessitam repor minerais de forma mais adequada. Testes posteriores ainda serão feitos para avaliar demais minerais através da bioacessibilidade.

**Palavras-chave:** Bioacessibilidade, banana, potássio, minerais.

## Síntese de nanofibras de poli ácido láctico contendo óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus therebinthifolius* Raddi)

Milena Ramos Vaz Fontes<sup>1</sup>, A. R. G. Dias<sup>1</sup>, E. R. Zavareze<sup>1</sup>, L. M. Fonseca<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas - UFPel

**Resumo:** Nanofibras poliméricas produzidas pela técnica de electrospinning possuem potencial para aprisionar compostos bioativos provenientes de fontes naturais, como óleos essenciais, pois apresentam a vantagem de não envolver condições severas de temperatura e pressão. Esta capacidade pode ser aproveitada para aprimorar o desenvolvimento de embalagens alimentares, com o intuito de prolongar a vida de prateleira dos alimentos, visto que bioativos apresentam propriedades antimicrobianas e antioxidantes. Dentre os polímeros que podem ser utilizados, os biodegradáveis têm sido os mais procurados visando minimizar problemas ambientais. O poli ácido láctico (PLA) possui características desejáveis como durabilidade e biocompatibilidade, podendo substituir polímeros de fonte petroquímica. Desta forma, o objetivo deste estudo foi caracterizar morfologicamente as nanofibras de PLA contendo óleo essencial de pimenta rosa (OEPR). A mistura de solventes utilizada para a formação das soluções poliméricas foi clorofórmio:acetona (3:1), onde a concentração de PLA foi fixada em 8% (p/v), variando a concentração de OEPR em 10, 20 e 30% (p/v). Para a produção das nanofibras, as soluções foram agitadas durante 24 h e coletadas em uma seringa de 3 mL com agulha metálica de 0,7 mm de diâmetro. Os parâmetros utilizados no processo foram tensão de 20 kV no eletrodo positivo e 1 kV no eletrodo negativo, taxa de alimentação de 0,5 mL/h, distância horizontal de 30 cm entre a ponta da agulha na seringa e o coletor de alumínio, temperatura controlada a  $23 \pm 2$  °C e umidade relativa ajustada em 38-44%. Após a coleta das nanofibras, estas foram avaliadas morfologicamente e também quanto à distribuição de tamanho utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV). Os resultados mostraram que o diâmetro médio das nanofibras variou entre 167 e 314 nm, indicando que maiores concentrações de óleo tendem a reduzir o diâmetro das nanofibras. No entanto, essa afirmativa também propicia a formação de beads, que são compreendidos como alterações na estrutura, mas podem ser favoráveis dependendo da aplicação. De acordo com os dados apresentados, a síntese de nanofibras de PLA e OEPR foi bem sucedida, indicando futuras aplicações em embalagens alimentares.

**Palavras-chave:** Bioativos, electrospinning, embalagens.

# Caracterização de xilanase bruta e parcialmente purificada produzida por *Aureobasidium pullulans* utilizando farelo de arroz como substrato

Tairine da Rosa Ribeiro<sup>1</sup>, S. J. Kalil<sup>1</sup>, L. G. G. da Silva<sup>1</sup>, T. Hübner<sup>1</sup>, G. V. Gautério<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande - FURG

**Resumo:** As xilanases são enzimas que catalisam a hidrólise das ligações  $\beta$ -1,4 da xilana, polissacarídeo principal que compõe a hemicelulose na parede celular vegetal. Estas enzimas são produzidas por micro-organismos utilizando biomassa lignocelulósica como fonte de xilana, podendo ser aplicadas na sua forma bruta ou purificada na indústria de papel e celulose, alimentícia, rações animais, têxtil e de biocombustíveis. Este trabalho teve como objetivo a caracterização de xilanase bruta e parcialmente purificada obtida em cultivo submerso por *Aureobasidium pullulans* CCT 1261, utilizando farelo de arroz como substrato. Para tal, a produção da enzima ocorreu em cultivo submerso utilizando 2% (m/v) de inóculo de levedura e meio estéril (150 mL) composto por (g/L) farelo de arroz (61,9), extrato de levedura (1,5) e  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (3,6) em pH 7,0. Os cultivos foram conduzidos em Erlenmeyers aletados (500 mL) à 28 °C e 150 rpm (agitação orbital) por 72 h. O extrato enzimático bruto foi obtido por centrifugação ( $4757 \times g$ , 30 min, 4 °C) e filtração do meio de cultivo. A purificação parcial do extrato foi realizada por precipitação fracionada de 0-30% a 30-60% de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  e posterior diálise. A atividade enzimática de endo- $\beta$ -1,4-xilanase e as proteínas solúveis foram determinadas em ambos os extratos. Os extratos bruto e purificado foram caracterizados quanto à sua temperatura (30 a 70 °C) e pH ótimos de atuação (3,5 a 8,0), e os parâmetros cinéticos como a constante de Michaelis-Menten ( $K_m$ ) e a velocidade máxima ( $V_{max}$ ) para o substrato xilana de madeira de faia (6 a 30 mg/mL) foram determinados pelo gráfico duplo-recíproco. Como resultados, a atividade de xilanase no extrato bruto foi de  $87,4 \pm 1,5$  U/mL e, após a purificação, de  $127,9 \pm 2,3$  U/mL. A precipitação fracionada resultou na purificação do extrato bruto em  $6,8 \pm 0,2$  vezes e recuperação de  $69,4 \pm 2,0\%$ . Os extratos apresentaram temperatura ótima de 50 °C e perda entre 73 a 97% da atividade enzimática na faixa de 60 a 70 °C, e pH ótimo em 4,5. No entanto, a atuação das enzimas bruta e purificada foi afetada negativamente entre pH 7,0 a 8,0, sendo registrada uma atividade residual de 5%. O extrato bruto apresentou menor  $K_m$  (31 mg/mL) e  $V_{max}$  (345 U/mL) em relação ao extrato purificado (130 mg/mL e 1667 U/mL, nesta ordem), demonstrando que o primeiro apresentou maior afinidade pelo substrato. Logo, conclui-se que a caracterização de ambos os extratos pode auxiliar no direcionamento destes para futuras aplicações.

**Palavras-chave:** Biomassa lignocelulósica, hemicelulases, levedura, parâmetros cinéticos.

# Cellulase production by *Rhizopus oryzae* by solid state fermentation with agroindustrial residue

Lucielen Oliveira dos Santos<sup>1</sup>, L. SALA<sup>1</sup>, S. S. COSTA<sup>1</sup>, P. G. P. SILVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande - FURG

**Resumo:** Obtaining industrial enzymes using biotechnological processes is a consolidated process, but this production must be use renewable raw materials to provide a low-cost process. Therefore, solid state fermentation (SSF) is a viable alternative, using agroindustrial waste to reduce environmental impacts and add value to by-products. In the southern region of Brazil, the rice industry generates agroindustrial residues such as rice husk and rice bran that have lignocellulosic material in their composition, demonstrating high potential as a culture medium for the cellulases production. This study aimed to produce cellulase from *Rhizopus oryzae* CCT 7560 by SSF using husk and bran rice as substrate. Microorganism to inoculum preparation was cultivated in PDA (potato dextrose agar) in Roux bottle for 7 d at 30 °C. The solids of culture medium contained 50% rice husk and 50% rice bran. A saline solution was added in medium. Two assays were done: (1) 50% of moisture; (2) 60% of moisture. SSF was carried out in a Erlenmeyer flask and started with  $4 \times 10^6$  spores g<sup>-1</sup> and total mass was 20 g. The cellulase activity was evaluated by release of reducing sugars in a reaction mixture containing enzymatic extract and carboximelticellulose 0.5% (w/v) in 50 mM citrate buffer (pH 4.8) at 50 °C for 10 min. One activity unit (U) was defined as the amount of reducing sugars released per minute. The reducing sugars released were determined by the 3,5 dinitrosalicylic method (DNS). The results showed that after 7 d the cellulase activity was  $0.75 \pm 0.11$  and  $0.81 \pm 0.02$  (U g<sup>-1</sup>) for the 60 and 50% moisture, respectively. According to the literature, the higher husk and bran content and lower initial moisture lead the higher cellulase activity. The rice husk and rice bran showed as potential substrate for production of cellulase enzyme via SSF. In conclusion, the lower the moisture (40%), the higher the enzymatic activity.

**Palavras-chave:** Cellulase activity, rice husk, rice bran.

# Obtenção Da Enzima $\beta$ -Galactosidase recombinante de *Kluyveromyces marxianus* utilizando soros lácteos como indutores

Francielle Herrmann Mobayed<sup>1</sup>, Claucia Fernanda Volken de Souza<sup>1</sup>, Giandra Volpato<sup>2</sup>, Jocelei Maria Chies<sup>3</sup>, Gaby Renard<sup>3</sup>, Victória Migliavacca<sup>4</sup>, Adriano Gennari<sup>1</sup>, Bruna Coelho de Andrade<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari, Univates

<sup>2</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul

<sup>3</sup>QuatroG Pesquisa & Desenvolvimento Ltda, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

<sup>4</sup>Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

**Resumo:** O soro de queijo e o permeado de soro contêm alta concentração de lactose e o descarte inadequado pode gerar impactos ambientais. A enzima  $\beta$ -galactosidase realiza a hidrólise da lactose e proporciona a obtenção de produtos com baixos teores ou isentos desse açúcar. Estudos empregando células recombinantes têm sido crescentes visando uma maior produção da proteína. O uso da *Escherichia coli* como microrganismo hospedeiro aprimora as técnicas utilizadas devido as características conhecidas e baixo custo. A indução dos microrganismos é conduzida com substâncias químicas, porém, a utilização de diferentes compostos pode proporcionar redução de custos. O objetivo desse trabalho foi avaliar a produção da  $\beta$ -galactosidase recombinante utilizando diferentes indutores. O crescimento celular foi realizado em meio de cultura Luria Bertani (LB) na presença de antibióticos (canamicina 50 mg/mL e cloranfenicol 34 mg/mL) em agitação orbital à 30 °C, 180 rpm por 48 h. Para a indução foram utilizadas soluções de lactose, soro de queijo e permeado de soro (1; 5; 10; 15 e 20 g/L de lactose). Como controle utilizou-se o isopropil- $\beta$ -D-1-tiogalactopiranósideo (IPTG) 0,05 mM. A análise de biomassa foi realizada por centrifugação (5000 rpm, 4 °C), seguida de lavagens com água destilada e secagem em estufa (60 °C, 48h). Para determinação de proteína utilizou-se o método de Bradford e a expressão da enzima foi analisada por eletroforese em gel de poliacrilamida. Na atividade enzimática foi utilizado o substrato ortho-Nitrophenyl- $\beta$ -galactoside (ONPG). O crescimento do microrganismo atingiu biomassa de 1,6 g/L em 48 h. Para a atividade enzimática, os maiores valores obtidos foram empregando o permeado de soro e a lactose (soluções com 20 g/L de lactose), sendo 119,56 e 171,97 U/mL respectivamente. Utilizando o soro de queijo (20 g/L de lactose), a atividade enzimática foi de 48,91 U/mL. No cultivo empregando o IPTG, foram obtidos resultados próximos a 90,21 U/mL. Para as análises de atividade específica as soluções de lactose e permeado de soro (soluções com 20 g/L de lactose), alcançaram valores de 77,11 e 71,46 U/

mgproteína, respectivamente. O soro de queijo e o IPTG apresentaram resultados de 38,47 e 30,71 U/mg, respectivamente. O permeado de soro pode ser utilizado como agente indutor da  $\beta$ -galactosidase recombinante de E. coli, pois apresenta resultados de produção da enzima semelhantes aos obtidos utilizando a solução de lactose e superiores ao IPTG.

**Palavras-chave:** Escherichia coli. Indução, Permeado de soro, Soro de queijo.

## Acarofauna associada à varietal Rainha Itália (*Vitis vinifera* L.) no Vale do Taquari, Rio Grande do Sul

Rita Tatiane Leão da Silva<sup>1</sup>, N. J. Ferla<sup>1</sup>, G. L. da Silva<sup>1</sup>, L. Johann<sup>1</sup>, C. F. Juchem<sup>1</sup>, M. Schüssler<sup>1</sup>, J. M. do Nascimento<sup>1</sup>, D. E. Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari, Univates

**Resumo:** Introdução: O estado Rio Grande do Sul é o maior produtor de uvas no país, destacando a Serra gaúcha que é a principal região produtora. Recentemente alguns municípios do centro-leste do Estado também vêm se destacando, sabendo disso foi constatado um aumento significativo da área cultivada observada no Vale do Taquari. A varietal Rainha Itália é a principal uva fina de mesa cultivada para ser consumida in natura. Assim como qualquer outra cultura plantada em escala comercial, pode sofrer com o ataque de doenças, herbívoros e ácaros fitófagos, aumentando a necessidade de estudos de levantamento de fauna para avaliar quais podem atingir o status de pragas relacionadas com esta cultura e seus potenciais controladores naturais. Objetivo: Identificar as famílias acarinas associadas à varietal Rainha Itália no Vale do Taquari, no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Metodologia: Foram avaliadas 4 localidades, nos municípios de Dois Lajeados (L1 e L2), Marques de Souza (L3) e Imigrante (L4). As amostragens foram realizadas mensalmente no período de março de 2017 a março de 2018, onde, vinte plantas de cada propriedade foram amostradas de forma aleatória, sendo escolhido um ramo/planta do qual foram coletadas três folhas, totalizando 60 folhas por área. As folhas de videira foram triadas, e os ácaros foram retirados para montagem em lâminas com meio de Hoyer e mantidas em estufa a uma temperatura entre 50 à 60°C por um período de 10 dias. A identificação das espécies foi realizada com auxílio de microscópio óptico com contraste de fases e chaves dicotômicas. Resultados: Foram identificados 5783 ácaros, pertencentes a 14 famílias. Destas, as mais representativas foram Tarsonemidae (3424), seguida de Tetranychidae (2469) e Phytoseiidae (2351). A propriedade L2 apresentou maior abundância acarina (2007) sendo a espécie mais abundante de fitófago *Tetranychus urticae* (Koch) com 994 indivíduos e o fitoseídeo *Amblyseius pravus* (Denmark) (50). Em L4 foram coletados 1288 ácaros, sendo a espécie mais abundante *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) com (401), seguida de *Euseius mesembrinus* (Dean) (300). Considerações finais: Desta forma, foi possível conhecer a acarofauna presente nessas quatro regiões, bem como seu possível impacto na varietal estudada. Esta pesquisa possibilita que futuramente novos estudos determinem ou não a aplicação de controle biológico nessas áreas, a fim de diminuir o uso de agroquímicos nocivos para a saúde.

**Palavras-chave:** Fitófagos. Inimigos naturais. Videira.

# Utilização da enzima $\beta$ -galactosidase imobilizada em colágeno como biocatalisador em processos contínuos e em batelada

Ana Júlia Führ<sup>1</sup>, C. F. V. De Souza<sup>1</sup>, G. Volpato<sup>2</sup>, R. C. Rodrigues<sup>3</sup>, F. H. Mobayed<sup>1</sup>, A. Gennari<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Instituto Federal do Rio Grande do Sul - IFRS

<sup>3</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

**Resumo:** A enzima  $\beta$ -galactosidase, também chamada de lactase, tem sido cada vez mais utilizada na indústria de laticínios. Apesar de apresentar excelente potencial para reações catalíticas, o uso desta proteína é limitado, pois geralmente apresenta alto custo e sua recuperação após a aplicação não é economicamente viável. O processo de imobilização de enzimas vem sendo empregado para superar essas limitações, uma vez que permite estabilizar a estrutura da enzima e, conseqüentemente, sua atividade catalítica por meio de uma ligação entre a enzima e um material sólido. Sendo assim, este estudo teve como objetivo avaliar as características catalíticas e a estabilidade operacional da enzima  $\beta$ -galactosidase tetramérica de *Kluyveromyces lactis* imobilizada em colágeno. O suporte foi submetido a quatro diferentes tratamentos, utilizando alumínio, glutaraldeído, ácido acético ou uma combinação das modificações com alumínio e glutaraldeído. Avaliou-se o efeito de diferentes cargas de enzima (10 a 200 mg de proteína/g de suporte) nos parâmetros de rendimento e eficiência da imobilização. Os quatro suportes modificados e a enzima nas formas solúvel e imobilizada foram estruturalmente estudados por meio de análises termogravimétricas, de calorimetria exploratória diferencial e de espectroscopia de infravermelho. A enzima imobilizada foi aplicada na hidrólise da lactose presente no leite e no soro de queijo por meio de processos em batelada e contínuo em reator de coluna de leito fixo. Verificou-se que não houve redução significativa ( $p < 0,05$ ) nos rendimentos de imobilização para todos os derivados e cargas de até 100 mg de proteína/g de suporte, com rendimentos de aproximadamente 70%. Todos os derivados após 17 ciclos de reuso na hidrólise da lactose presente no leite e no soro de queijo atingiram um percentual de hidrólise do açúcar de aproximadamente 50%, utilizando o processo em batelada. Já para a hidrólise em reator de coluna de leito fixo, percentuais de mais de 50% de hidrólise foram obtidos mesmo após 48 h de operação. A  $\beta$ -galactosidase de *K. lactis* imobilizada em colágeno manteve suas características catalíticas e apresentou boa estabilidade operacional nos processos de hidrólise, principalmente no processo contínuo em reator de leito fixo.

**Palavras-chave:** Glutaraldeído, Reator de leito fixo, Hidrólise da lactose.

## Efeito da hidrólise enzimática sobre os potenciais antioxidantes e a solubilidade da proteína isolada de soja

Andréia Monique Lermen<sup>1</sup>, D. J. Daroit<sup>1</sup>, L. A. Finkler<sup>1</sup>, N. J. Clerici<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Fronteira Sul

**Resumo:** A hidrólise enzimática pode ser empregada no incremento das propriedades bioativas de proteínas alimentares, como a proteína isolada de soja (PIS). Capacidades antioxidantes são relevantes devido à ação deletéria de radicais livres e metais pró-oxidantes em sistemas biológicos e alimentares. Proteases microbianas são importantes enzimas em processos industriais. Neste sentido, há constante prospecção de microrganismos produtores de proteases adequadas a distintos processos hidrolíticos. Objetivou-se utilizar uma protease bacteriana para a hidrólise da PIS e caracterizar os hidrolisados quanto às atividades antioxidantes. A protease foi obtida através de cultivos submersos (30 °C, 125 rpm, 5 dias) com *Bacillus* sp. CL18 em meio de cultura contendo penas de frango como substrato orgânico. Após centrifugação dos cultivos, o sobrenadante foi coletado (protease bruta) e utilizado na hidrólise da PIS. Suspensões de PIS (5 g/L) em tampão Tris-HCl (0,1 M; pH 8,0) foram pré-aquecidas (50 °C; 10 min) e a hidrólise iniciada com a adição da protease (4% v/v; 3.700 U/mL). A hidrólise foi realizada a 50 °C por 0-360 min (t0-t360) e finalizada por fervura (15 min). Seguindo-se centrifugação, os sobrenadantes coletados foram denominados de hidrolisados de PIS. Os hidrolisados foram avaliados quanto à concentração de proteínas solúveis, atividades antioxidantes [captura dos radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), quelação de Fe<sup>2+</sup> (CQ), redução de Fe<sup>3+</sup> (A700)], e solubilidade (pH 2-10). A proteína solúvel em t0 (1,7 mg/mL) foi elevada para 2,2, 2,4 e 2,5 mg/mL em t15, t120 e t360, respectivamente. A captura do radical ABTS em t0 (24,5%) foi incrementada para 36,0% (t15) e 54,2% (t120), enquanto que a captura do radical DPPH foi elevada de 3,8% (t0) para 19,2% (t120). A CQ atingiu 83,3-92,8% em t120-t360, superior ao t0 (30,1%). A hidrólise também afetou positivamente o poder redutor, que partiu de 0,16 A700 (t0) e alcançou 0,24 e 0,27 A700 em t15 e t120, respectivamente. Em termos gerais, a hidrólise de PIS por 120 min resultou em atividades antioxidantes superiores. Após 120 min de hidrólise, incrementos de 85-120% na solubilidade foram observados na faixa de pH correspondente ao ponto isoelétrico da PIS (pH 4-5). A hidrólise pela protease de *Bacillus* sp. CL18 representa estratégia promissora para a obtenção de hidrolisados de PIS com capacidade antioxidante.

**Palavras-chave:** hidrólise enzimática, protease, proteínas alimentares, bioatividades.

# Avaliação da expressão da enzima $\beta$ -Galactosidase recombinante utilizando diferentes indutores

bruna Coelho de Andrade<sup>1</sup>, C. F. V. Souza<sup>1</sup>, G. Volpato<sup>2</sup>, G. Renard<sup>3</sup>, J. M. Chies<sup>4</sup>, J. C. Nunes<sup>2</sup>, M. L. V. Ferreira<sup>5</sup>, V. F. Migliavacca<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul - IFRS

<sup>3</sup>Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

<sup>4</sup>Quatro G Pesquisa & Desenvolvimento Ltda

<sup>5</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

<sup>6</sup>Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS

**Resumo:** A enzima  $\beta$ -galactosidase é utilizada na hidrólise enzimática da lactose e tem sido empregada na indústria de alimentos para preparar produtos lácteos com baixos teores de lactose e isentos de lactose. Os custos envolvidos na aplicação de enzimas nos processos industriais são elevados e com isso uma das alternativas que pode reduzir o valor do produto é a produção da enzima na forma recombinante, utilizando indutores de baixo custo para a expressão enzimática. O indutor Isopropyl  $\beta$ -D-1-thiogalactopyranoside (IPTG) é comumente utilizado para a expressão de proteínas recombinantes, porém esse indutor pode causar estresse às células devido a sua toxicidade, sendo indesejável na produção em larga escala. A utilização de outros indutores, como a lactose, torna-se uma alternativa, reduzindo os custos do processo e não apresentando toxicidade. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes indutores para a expressão da enzima  $\beta$ -galactosidase de *Kluyveromyces* sp. em *Escherichia coli*. A cepa *E. coli* BL21 (DE3) foi utilizada para expressar a enzima recombinante e os cultivos foram realizados em meio de cultura Luria-Bertani (LB), a 30°C, com agitação orbital de 180 rpm, por 27 horas. Foram utilizados o IPTG e a lactose como indutores em diferentes concentrações (0,05 e 0,5 mM de IPTG e 1, 10 e 20 g/L de lactose), realizando coletas ao longo dos cultivos (3, 6, 9, 24 e 27 horas após a indução). As células microbianas foram rompidas por sonicação (três pulsos de 10 segundos) e centrifugadas a 4°C, 13.000 rpm, 30 minutos. As frações solúvel e insolúvel foram separadas e analisadas individualmente. A expressão da  $\beta$ -galactosidase foi avaliada em ambas as frações, por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) (12%), e a atividade da enzima e a quantificação da proteína intracelular foram realizadas nas frações solúveis. A maior atividade enzimática específica foi  $39,13 \pm 2,30$  U/mgproteína utilizando 10 g/L de lactose após 27 horas da indução. Verificou-se que após 6 horas de indução, para as concentrações de 10 e 20 g/L de lactose, não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) nos valores de atividade enzimática.

Os menores valores de atividade específica foram encontrados quando o IPTG foi utilizado como indutor, em ambas as concentrações. Os resultados obtidos no trabalho demonstraram a possibilidade de utilização da lactose como indutor de baixo custo e baixa toxicidade para a expressão da  $\beta$ -galactosidase recombinante.

**Palavras-chave:** IPTG, Lactose, *Kluyveromyces sp.*, *Escherichia coli*.

## Growth of Brazilian *Lactobacillus paracasei* ATR6 in dairy by-products

Gabriela Rabaioli Rama<sup>1</sup>, C. F. V. de Souza<sup>1</sup>, M. J. Maciel<sup>1</sup>, S. Beux<sup>2</sup>, D. Kuhn<sup>1</sup>, G. R. Rama

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**Resumo:** Lactic acid bacteria (LAB) are microorganisms widely applied in the food industry as fermentation agents for vegetable, meat and dairy products. Endogenous bacteria are specific to a location, and since they provide particular characteristics, they are assessed in the production of typical products. Cheese whey (CW) and ricotta whey (RW) are by-products from the dairy industry that contain many nutrients from the original matrix (milk). In this sense, the aim of this work is to evaluate the ability of a Brazilian endogenous strain of *Lactobacillus paracasei* ATR6 to grow in CW and in RW, both statically and in agitated regime. Static incubation was carried out at 37 °C and agitated incubation was carried out in the same temperature at 250 rpm in orbital agitation incubator, namely shaker. Milk was used as a control medium. In this way, six different samples were analyzed: milk, cheese whey and ricotta whey in static incubator (MI, CWI and RWI); and the same media but in shaker (MS, CWS and RWS). Cell growth was assessed periodically by the drop-plate technique (0, 12, 24, 36 and 48 hours). The consumption of lactose throughout incubation was measured by the dinitrosalicylic acid method. Lastly, pH variation was measured using an electronic pHmeter. Statistics were applied using Analysis of Variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test. The growth of *Lb. paracasei* ATR6 showed no statistical difference ( $p \leq 0.05$ ) between media or incubation system. Growth profiles on milk, cheese whey and ricotta whey are similar. For the pH variation between the tested media, there are differences ( $p \leq 0.05$ ) in pH values depending on media and agitation, and after 48h the lowest values belong to CWI, CWS and RWI. However,  $\Delta\text{pH}$  (initial - final) was higher for MI, MS, CWI and CWS, reaching 2.72, 2.69, 2.79 and 2.67, respectively, while RWI and RWS samples achieved  $\Delta\text{pH}$  of 1.86 and 1.53, respectively. Final concentration of lactose was similar for MI, MS, CWI and CWS, but significantly ( $p \leq 0.05$ ) smaller for RW samples; in terms of lactose consumption, MS, CWI and CWS showed similar results. MS displayed the highest consumption (21 g/L), while RWI and RWS had the lowest (around 7 g/L). In this sense it is possible to conclude that CW and RW are adequate culture media for the growth of *Lb. paracasei* ATR6.

**Palavras-chave:** Lactic acid bacteria. Growth. By-products. Cheese whey. Ricotta whey.

# Determinação das curvas de secagem de *Citrus reticulata* para obtenção de farinhas funcionais e bioativas

Jamile Helena Marques<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Santa Cruz do Sul - Univates

**Resumo:** A mandarina (*Citrus reticulata*) é cultivada em todo o mundo. Por suas diversas propriedades, atrai investimentos de grandes empresas para obtenção do óleo essencial, empregado em diversos segmentos. A produção irregular gera frutos de baixa qualidade, usa-se a técnica de raleio manual, melhorando a qualidade da fruta para o mercado in natura. O produto obtido é usado para extração de óleos essenciais e o resíduo é descartado. Com rendimento baixo, necessita-se de grande quantidade da fruta para obtenção do óleo (1 tonelada de fruta produz 4kg de óleo essencial). O resíduo é utilizado na alimentação animal, mas possui benefícios econômicos e nutrientes, podendo ser usado na alimentação humana. Assim, o presente trabalho objetiva a determinação de curvas de secagem da mandarina para obter farinha com propriedades funcionais e bioativas, além de avaliar a capacidade de geração de renda da Agroindústria Familiar. Assim, foi feita uma seleção visual das mandarinas e após foram submersas em solução de hipoclorito de sódio por 10 minutos e descascadas. Separou-se em casca e polpa, obtendo o suco da polpa. A polpa sem o suco foi submetida a trituração úmida por 15 segundos. A casca foi congelada facilitando a trituração, pois reduz tamanho e aumenta superfície de contato. Foi obtida curvas de secagem em desidratadora à 40°C, retirando alíquotas de hora em hora. Após, foi feita a determinação de umidade, à 140°C por 20 min, com ensaios em triplicata. Com os resultados, determinou-se as curvas de secagem, a partir da RDC nº 272, da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), que preconiza umidade da farinha abaixo de 12% (g/100g). Para a casca o tempo obtido foi de 13 horas, com umidade média de 11,54%; para a polpa o tempo obtido foi de 20 horas, com umidade média de 10,26%. A partir disto, a polpa será moída, para definição da granulometria para elaboração da farinha. Como tendência mundial a agricultura orgânica teve seu crescimento impulsionado pelo interesse do consumidor pelos produtos orgânicos, alavancando a demanda e atenção dos produtores por novo potencial no mercado. Dado o exposto, com a utilização do resíduo da obtenção do óleo essencial da mandarina, além da produção de produtos que possuem nutrientes para introdução na alimentação humana, também visa o aumento da renda da Agroindústria Familiar do Vale do Rio Pardo.

**Palavras-chave:** Mandarina, Farinhas funcionais, Curvas de secagem.

## Eletrocoagulação como método de colheita para *Spirulina platensis*

Julia Roberta Lanzini<sup>1</sup>, M. Hemkemeier<sup>1</sup>, J. M. A. Nunes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Passo Fundo

**Resumo:** Atualmente o uso de novas fontes de matéria-prima vem sendo estudado para a produção de biocombustíveis. As microalgas tem se mostrado uma alternativa promissora por possuírem quantidades significativas de carboidratos, proteínas e lipídios. Além disso, uma das vantagens de seu uso é por não necessitarem de terras aráveis para o cultivo, não competindo com a produção de alimentos. Entretanto, as microalgas ainda são pouco utilizadas em escala industrial pela dificuldade de colheita, já que vivem em meio aquático e possuem células muito pequenas. Alguns métodos de colheita tem sido utilizados com a finalidade de obtenção de maior rendimento e o menor custo de produção de biomassa microalgal. Neste contexto, a eletrocoagulação se apresenta como uma alternativa para a colheita por possuir baixo custo de operação e altos rendimentos de colheita. Sendo o objetivo deste trabalho, avaliar se o processo eletroquímico é eficiente na separação de biomassa de *Spirulina platensis*. Para a execução do trabalho foram utilizados eletrodos de alumínio (ânodo e cátodo) a uma distância de 1 cm, os quais foram ligados a uma fonte de corrente contínua, estes eletrodos foram imersos em 1,5 L de cultivo ajustado a pH 4,0 (O ajuste foi realizado com solução de HCl 2N). A densidade de corrente (DC) utilizada foi de 40 A/m<sup>2</sup> e agitação de 400 rpm, e o experimento foi mantido por 20 minutos, que foi o tempo de total remoção. Através de método fotométrico foi medido o percentual de remoção da biomassa, onde foi alcançado 96% de rendimento. O consumo energético também foi medido ao longo do tempo de reação e foi obtido 0,03kWh/kg. Os resultados obtidos neste estudo mostraram que o processo de eletrocoagulação foi eficiente na separação da biomassa de *Spirulina platensis* e o consumo energético também se mostrou satisfatório, pois obteve-se um custo baixo de processo.

**Palavras-chave:** microalga, eletrólise, biocombustíveis.

# Avaliação de diferentes condições de cultivo para a otimização da produção de ácidos graxos na microalga *Parachlorella kessleri*

J. L. Batista<sup>1</sup>, A. Cagliari<sup>1</sup>, A. Rieger<sup>2</sup>, R. Schneider<sup>2</sup>, M. Souza<sup>2</sup>, S. Tostes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS

<sup>2</sup>Universidade de Santa Cruz do Sul - Unisc

**Resumo:** As microalgas são organismos ricos em lipídios, carboidratos, proteínas, vitaminas e minerais. Destacam-se, principalmente, como importantes fontes de ácidos graxos poli-insaturados (Ômega3 e Ômega6). No entanto, para que o metabolismo celular direcione-se à produção de ácidos graxos insaturados, parâmetros que envolvem o cultivo das microalgas devem ser propícios, tais como temperatura, fotoperíodo, distribuição dos nutrientes no meio de cultivo, entre outros. Além disso, uma alta produção de ácidos graxos poli-insaturados requer um fino ajuste entre condições de cultivo que favoreçam alto acúmulo de lipídios no interior das células sem, no entanto, prejudicar a taxa de crescimento celular destes organismos. Dessa maneira, este trabalho teve como objetivo empregar diferentes condições de cultivo nas microalgas da espécie *Parachlorella kessleri* a fim de favorecer uma maior taxa de crescimento celular e maior concentração de ácidos graxos no interior das células. Para tanto, foram utilizadas condições de cultivo em meios com limitação de nitrogênio, com limitação de fósforo, com suplementação de água de coco, e com suplementação de CO<sub>2</sub>. A determinação da biomassa seca foi realizada através de centrifugação e liofilização. Para a quantificação de lipídios foi utilizado o método gravimétrico de Bligh e Dyer. Empregou-se análise de cromatografia gasosa para a caracterização dos ácidos graxos extraídos. Observou-se que o cultivo com maior teor de biomassa seca foi o ensaio com limitação de fósforo. Através da técnica de extração de lipídios, os cultivos mais favoráveis ao acúmulo de lipídios foram os ensaios com limitação de nitrogênio. Entretanto, por meio da análise de cromatografia gasosa, o ensaio com limitação de fósforo e suplementação com água de coco destacou-se mais por apresentar os maiores percentuais de ácidos poli-insaturados (Ácido Linoleico e Ácido Alfa-linolênico). Em conclusão, a limitação de nitrogênio no meio de cultivo das microalgas *Parachlorella kessleri* foi responsável pelo aumento do conteúdo de lipídios totais, enquanto que a limitação de fósforo associada a suplementação com água de coco direcionou o metabolismo celular das microalgas *Parachlorella kessleri* para a produção de ácidos graxos poli-insaturados.

**Palavras-chave:** microalgas, lipídios, ácidos graxos poli-insaturados.

## Viabilidade de *Lactobacillus* spp. microencapsulados por extrusão com tecnologia de vibração

Danieli Dallé<sup>1</sup>, C. F. V de Souza<sup>1</sup>, M. J. Maciel<sup>1</sup>, M. Fangmeier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** As bactérias lácticas realizam a fermentação láctea, são utilizadas em indústrias alimentícias e algumas são consideradas probióticas. Quando ingeridas nas quantidades recomendadas, conferem benefícios a saúde dos hospedeiros, devido ao seu potencial probiótico, contribuindo para a prevenção de doenças, por meio da estimulação e regulação do sistema imune. Entretanto, a viabilidade das bactérias probióticas pode ter interferência durante o processamento do alimento, armazenamento e passagem pelo trato gastrointestinal humano (TGI). Neste contexto, o microencapsulamento é uma tecnologia empregada para conferir proteção às células, por meio de um material de parede que as protege das ações adversas do meio. Os soros lácteos possuem propriedades tecnológicas que viabilizam seu emprego como constituintes do material de parede encapsulante. O objetivo foi avaliar a viabilidade celular de bactérias lácticas ao encapsulamento por extrusão com tecnologia de vibração e ao longo do armazenamento. As bactérias lácticas *Lactobacillus paracasei* ML33 e *Lactobacillus pentosus* ML82, endógenos da região do Vale do Taquari - RS, e *Lactobacillus plantarum* ATCC8014 foram microencapsuladas. Como materiais de parede foram utilizados os soros de queijo bovino (SBO) e bubalino (SBU), soro de queijo de ricota bovino (RBO) ou permeado de soro de queijo bovino (PBO), combinados com amido 1% (m/v) e alginato de sódio 1% (m/v), nas proporções 1:1:1, respectivamente. A viabilidade dos microrganismos foi determinada logo após o processo e após 15, 30 e 60 dias de armazenamento. Os resultados obtidos indicam que os diferentes soros proporcionaram efeito protetor aos microrganismos durante processo de encapsulamento e o período de armazenamento, destacando-se os SBO e SBU, que apresentaram viabilidade acima de 8,81 log UFC.mL<sup>-1</sup>. Durante o armazenamento por 30 dias, verificou-se ausência de crescimento de *L. pentosus* ML82 nas micropartículas de RBO e PBO. Porém, as taxas de sobrevivência para os demais microrganismos foram elevadas, sendo de 94,71% e 95,35% para o *L. paracasei* ML33 encapsulado com RBO e PBO, respectivamente, e de 96,01% e 93,91% para o *L. plantarum* ATCC8014 microencapsulado com RBO e PBO, respectivamente. Os soros lácteos forneceram proteção aos microrganismos avaliados, juntamente com o amido e o alginato de sódio, tendo SBO e SBU conferido maior proteção.

**Palavras-chave:** microencapsulamento, soros de queijo, probiótico, viabilidade.

## Inoculation of soil bacteria aiming to increase cold tolerance in rice plants

Eduardo Martins de Souza<sup>1</sup>, S. F. Carvalho<sup>1</sup>, V. Nyland<sup>1</sup>, A. S. Silva<sup>1</sup>, T. I. Lamb<sup>1</sup>, C. E. Granada<sup>1</sup>, R. A. Sperotto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** Rice is the food base for approximately half of the global population, and is therefore considered one of the most important foods. Paddy cultivation is limited by several environmental stressors, which tend to worsen with predictions of climate change. Added to this, in the near future, a great increase in the demand for food is expected. Therefore, innovative agricultural technologies capable of increasing food production without increasing agricultural frontiers are a challenge to be addressed. It is known that some microorganisms modulate the natural defenses of the plants, increasing the resistance against the predators. Similarly, it has been demonstrated that microorganisms can also confer plant tolerance to environmental stresses. However, research with rhizospheric bacteria inducing tolerance to climatic stress in rice plants is scarce. In response to this scenario, we evaluated the ability of some rhizospheric bacteria to increase the rice tolerance to low temperature stress. Cold stressed plants (4°C/12 h) inoculated with three bacterial isolates of paddy fields had a higher survival rate (85%, 69% and 63%) than uninoculated plants submitted to cold (33%), whereas plants inoculated with one of those bacterial isolates presented a survival rate (85%) statistically similar to the control condition (non-stressed plants without inoculation). When placed in greenhouse condition, inoculated plants presented higher panicle number per plant (1.04) than non-inoculated plants (0.40) at 150 days, suggesting that bacterial inoculation may anticipate the grain ripening. Together with other agronomic parameters, some physiological and molecular analyzes will be performed to better understand the effects of inoculation and the mechanisms involved in the induction of cold tolerance in rice promoted by the rhizospheric bacteria. These data will contribute to the improvement of agricultural inoculants and to the continuity of food supply during periods of climate change. Acknowledgments: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001, CNPq, FAPERGS and Univates.

**Palavras-chave:** *Oryza sativa*, Low temperature, Rhizosphere bacteria, Survival rate, Grain ripening.

## Clonagem do gene que codifica a $\beta$ -Galactosidase para purificação em uma etapa via domínio de ligação em celulose

Adriano Gennari<sup>1</sup>, Claucia Fernanda Volken de Souza<sup>1</sup>, Giandra Volpato<sup>2</sup>, Jocenei Maria Chies<sup>3</sup>, Gaby Renard<sup>3</sup>, Ana Júlia Führ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul - IFRS

<sup>3</sup>Quatro G Pesquisa & Desenvolvimento

**Resumo:** A  $\beta$ -galactosidase é responsável por catalisar a hidrólise da lactose presente em produtos de origem láctea. Entretanto, a aplicação destes biocatalisadores em processos industriais é limitada devido ao elevado custo e à dificuldade de recuperação ao final das catálises. Entre as ferramentas biotecnológicas que podem ser empregadas para superar essas dificuldades estão o aumento da atividade enzimática e a produção da enzima recombinante. Uma das técnicas de clonagem cada vez mais empregadas na engenharia genética é a inclusão de marcadores de afinidade. O domínio de ligação em celulose (Cellulose Binding Domain - CBD) é um destes biomarcadores, e possibilita a purificação de proteínas em uma única etapa por meio da ligação na celulose. O objetivo desse trabalho foi clonar o gene da  $\beta$ -galactosidase de *Kluyveromyces* sp. em *Escherichia coli*, utilizando um plasmídeo com o domínio CBD. A amplificação do gene da  $\beta$ -galactosidase foi realizada pela reação em cadeia da polimerase utilizando os primers delineados com o sítio de restrição da endonuclease Sall e XhoI. O gene foi inicialmente clonado no vetor pCR®-Blunt e eletroporado para *E. coli* (DH10B). Após o crescimento, foi realizada a extração do DNA plasmidial, purificação e digestão com as enzimas de restrição. O gene foi então subclonado no vetor de expressão pET-35b (+), o qual contém o CBD, e cepas de *E. coli* (DH10B) foram transformadas com o vetor. O DNA plasmidial das células recombinantes foi analisado por reação de digestão utilizando a enzima EcoRI. Toda a extensão do clone de interesse foi submetida ao sequenciamento automático utilizando primers específicos para o gene da  $\beta$ -galactosidase. As sequências foram analisadas utilizando o programa BLAST® (Basic Local Alignment Search Tool). Os clones recombinantes apresentaram quatro fragmentos de ~1750, 900, 330 e 100 pb, os quais estão de acordo com os tamanhos esperados. O DNA recombinante mostrou duas regiões de alinhamento. Na primeira, apresentou query cover de 49% e mais de 99% de identidade com o gene da proteína de ligação de celulose de *Clostridium cellulovorans*. A segunda região demonstrou um query cover de 24% e identidade de 95% com genes de duas  $\beta$ -galactosidas de *Kluyveromyces*. A partir disso, foi possível confirmar que o gene da enzima, contendo o CBD, foi clonado na *E. coli*, uma vez que a primeira região está relacionada com o domínio de ligação em celulose, presente no vetor pET-35b (+), e a segunda com o gene da enzima de interesse.

**Palavras-chave:** pET-35b (+), *Kluyveromyces*, *Escherichia coli*, *Clostridium cellulovorans*.

# Produção de Pectinases via cultivo fúngico de resíduo da industrialização de suco de citrus orgânico

Sandra Maria Petry da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Rio dos Sinos

**Resumo:** As pectinases são enzimas produzidas naturalmente por plantas, fungos filamentosos, leveduras e bactérias. As pectinases de origem fúngica são grandemente utilizadas na indústria de alimentos, sendo empregadas tradicionalmente na extração e clarificação de sucos de frutas em razão de sua especificidade e do seu potencial catalítico. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial de produção de pectinases através de cultivo fúngico do resíduo da industrialização do suco de citrus orgânico, utilizando linhagens fúngicas obtidas a partir de reservatórios ambientais e de coleções de culturas. A seleção das linhagens mais competentes na produção de pectinases foi baseada na presença de halos de degradação em meio de crescimento seletivo com visualização com solução de vermelho de rutênio. O cultivo em estado sólido utilizando polpa cítrica foi conduzido em Erlenmeyers por um período de 10 dias com temperatura de 28°C, sendo retiradas amostras a cada 24 h para dosagem da atividade pectinolítica. Neste trabalho, foram selecionadas a partir de reservatórios ambientais duas linhagens comprovadamente produtoras de pectinases: *Aspergillus* sp. e *Mucor* sp. Em cultivos de estado sólido sobre o substrato de polpa cítrica foi possível evidenciar a atividade de poligalacturonase, pectina liase e pectinesterase. No cultivo de *Aspergillus* sp. pode-se observar que os valores de maior atividade ocorreram para pectina liase com 1062,3 U/g de substrato e para a poligalacturonase com 3,07 U/g de substrato em 3 dias de cultivo e para pectinaesterase com 1130 U/g de substrato em 4 dias de cultivo. Para a linhagem de *Mucor* sp evidenciada a máxima produção de pectinesterase em 3 dias de cultivo com 1050 U/g de substrato. O estudo mostrou que através do cultivo da polpa cítrica pode-se obter extratos com elevada atividade pectinolítica, sendo esta uma alternativa de agregação de valor à cadeia produtiva da indústria cítrica orgânica.

**Palavras-chave:** Polpa cítrica. Pectinases. Substrato. Cultivo em estado sólido.

## Incremento de parâmetros morfofisiológicos de plântulas de pepino inoculadas com duas espécies de *Trichoderma*

Joséli Schwambach<sup>1</sup>, L.B. Andrade<sup>1</sup>, N.O. Amarante<sup>1</sup>, C. F. Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Caxias do Sul - UCS

**Resumo:** O pepino (*Cucumis sativus*), é uma hortaliça importante no agronegócio brasileiro. Seu fruto pode ser utilizado na alimentação assim como em formulações de cosméticos ou medicamentos por apresentar propriedades nutraceuticas. O microrganismo *Trichoderma* spp. tem sido relatado como agente de biocontrole de doenças de plantas em diversas culturas, no entanto há uma deficiência de informação quanto à ação efetiva desse fungo na promoção de crescimento e desenvolvimento de plantas na ausência de patógenos. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo verificar a ação de duas cepas do fungo *Trichoderma* spp. sobre plântulas de pepino. Para isso foram realizados três tratamentos: controle (apenas água); inóculo dos isolados de *Trichoderma harzianum* (T1A) e de *Trichoderma atroviride* (T19), ambos com aplicação de 1 mL de solução de  $1 \times 10^8$  conídios mL por vaso, separadamente. O experimento foi conduzido em sala de crescimento com fotoperíodo (16 h) e temperatura controlados ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), permanecendo por 28 dias a partir da semeadura. Foram realizadas três repetições com 10 sementes cada uma, totalizando 30 plântulas de pepino da cultivar híbrido pioneiro (Feltrin®) por tratamento. As sementes foram inoculadas em vasos plásticos com capacidade de 80 mL e o substrato utilizado foi o Carolina Soil® II previamente autoclavado a  $121^\circ\text{C}$  por 1 h e foram realizadas regas a cada dois dias. Os parâmetros avaliados foram comprimento de parte aérea e raiz, peso seco de parte aérea e raiz, clorofila (Clorofilog) e rendimento quântico da fotossíntese (Fluorpen). Como resultados obtidos verificou-se que à aplicação das cepas T1A e T19 influenciaram positivamente nos parâmetros comprimento de parte aérea, peso seco de parte aérea e de fotossíntese. Para a variável clorofila a aplicação dos isolados gerou um incremento, entretanto, apenas o T19 mostrou diferença estatística em relação ao controle. Já para o comprimento e o peso seco de raiz, a aplicação dos isolados não foi capaz de alterar a resposta em relação ao controle. Faz-se necessário novos testes com outras cultivares e utilizando outras cepas de *Trichoderma* e avaliar novos parâmetros que nos permitam entender melhor os mecanismos de ação desses fungos na promoção de crescimento e desenvolvimento vegetal.

**Palavras-chave:** Promoção de crescimento, clorofila, fotossíntese.

## Caracterização e secagem de resíduo de fabricação de cerveja

CLAUDIA SCHLABITZ<sup>1</sup>, C. F. V. de Souza<sup>1</sup>, D. N. Lehn<sup>1</sup>, L. Pedralli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** A indústria cervejeira utiliza, em sua maioria, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* em seu processo de fabricação. Em geral, a concentração de levedura aumenta de três a seis vezes durante o processo produtivo, sendo filtrada juntamente com outros materiais insolúveis após a etapa de fermentação. Apenas parte dela é reutilizada, sendo a massa excedente descartada. A reutilização da biomassa residual tem sido estudada buscando retorno econômico e aliado à redução do possível impacto ambiental. Estudos têm sido conduzidos de forma a utilizar a biomassa seca como aditivo em ração animal em função de seu alto teor de proteínas, energia e micronutrientes (vitaminas do complexo B, selênio, zinco). Assim, este trabalho objetiva caracterizar a levedura residual da fabricação de três variedades de cerveja (Pilsen, IPA - India Pale Ale -, e de trigo) produzidas em uma cervejaria do Vale do Taquari, RS, Brasil, antes e após a secagem em secador tipo spray dryer e secador de bandejas. As amostras foram caracterizadas quanto aos teores de extrato seco, cinzas, proteínas, lipídios e carboidratos totais na forma úmida e serão submetidas às mesmas análises após as secagens. Ainda, será realizada quantificação de fibras. A viabilidade da levedura residual (LR) será avaliada através de plaqueamento em ágar batata. Os teores de extrato seco da LR úmida da cerveja Pilsen, de trigo e IPA foram, respectivamente, 15,28; 18,77 e 15,32 g.100 g<sup>-1</sup>. Os teores de cinzas, proteínas e carboidratos totais, em base seca, foram, respectivamente: LR da cerveja Pilsen 6,45; 53,13 e 40,41 g.100 g<sup>-1</sup>; LR da cerveja de trigo 5,02; 32,20 e 62,78 g.100 g<sup>-1</sup>; e LR da cerveja IPA 5,11; 36,09 e 58,80 g.100 g<sup>-1</sup>. A próxima etapa do estudo é a secagem da biomassa de levedura em secador tipo spray dryer e secador de bandejas, demonstrando o rendimento e características dos produtos obtidos em diferentes temperaturas e processos de secagem. São esperados resultados em base seca semelhantes aos já encontrados para proteínas e cinzas.

**Palavras-chave:** *Saccharomyces cerevisiae*, secagem, levedura de cerveja, resíduo.

## Estudo da cinética e condições otimizadas para obtenção de etanol a partir da beterraba (*Beta vulgaris* L.)

Cesar Vinicius Tonicio Riguetto<sup>1</sup>, A. Dettmer<sup>1</sup>, F.M. Gottardo<sup>1</sup>, D. D. C. Krein<sup>1</sup>, M. Rosseto<sup>1</sup>, J. A. Gonçalves<sup>2</sup>, R. A. Loss<sup>2</sup>, J. K. M. D. De Souza<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Passo Fundo - UPF

<sup>2</sup>Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT

**Resumo:** O etanol é um produto que pode ser obtido a partir de diversas matérias-primas, como cana-de-açúcar, milho e beterraba. Porém, a produção a partir de tuberosas ainda não é muito difundida no Brasil. A beterraba se destaca entre os vegetais, devido a sua composição nutricional e elevado teor de açúcar, sendo que as maiores produções encontram-se nas regiões sul e sudeste, por apresentarem climas amenos. Desta forma, visando melhor aproveitamento dessa tuberosa em um produto de maior valor agregado, o presente trabalho teve por objetivo a produção e caracterização do etanol obtido a partir beterraba. A matéria-prima foi processada para a extração do caldo (mosto da fermentação alcoólica). Para a preparação dos inóculos, o pH foi corrigido para 5,5 e o teor de sólidos solúveis para 25°Brix, onde realizou uma pré-ativação da levedura por 2h. Para a fermentação alcoólica, o suco de beterraba previamente esterilizado foi adicionado ao mosto pré-ativado. Foram realizadas cinéticas de fermentação alcoólica por 22 horas, cujos teores de sólidos iniciais foram de 15, 20 e 25°Brix. Para todos os ensaios o pH foi ajustado para 5,5. A condição que favoreceu o maior rendimento na produção de etanol a partir do mosto de beterraba, foi teor de sólidos solúveis inicial de 20°Brix e tempo de fermentação de 14 horas, com um teor alcoólico de 11,2°GL, rendimento de 55,31% e produtividade de 4,07 g/L.h. Nas cinéticas, ainda verificou-se que independente do teor inicial de sólidos, os rendimentos e eficiências não apresentaram diferenças acentuadas, porém, para a produtividade de produção de etanol aumentou a medida que o teor de sólidos iniciais também foi mais elevado. Em suma, conclui-se que foi possível obter condições otimizadas para obtenção de etanol a partir de beterraba, favorecendo estudos que visem alternativas para o aproveitamento dessa tuberosa de forma tecnológica, sendo assim, uma estratégia promissora para o mercado consumidor.

**Palavras-chave:** Tuberosa; Fermentação, *Saccharomyces cerevisiae*, Álcool etílico.

## Hidrólise enzimática de resíduo vinícola submetido a pré-tratamento ácido com e sem sonificação

Natália Coppi Manica<sup>1</sup>, S. B. Silva<sup>1</sup>, L. Lüdtke<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UNISINOS

**Resumo:** Grande parte da produção de uvas do Rio Grande do Sul é destinada à indústria vinícola, responsável pela geração de uma quantidade significativa de resíduos lignocelulósicos, especialmente na forma de bagaço de vinificação (casca e semente de uva). Os xilooligossacarídeos são oligômeros produzidos a partir da hidrólise da xilana, principal componente da hemicelulose em materiais lignocelulósicos, esses oligossacarídeos possuem aplicações na área farmacêutica e de alimentos. Sua produção se dá a partir das etapas de pré-tratamento do material para extração da xilana e posterior hidrólise enzimática por meio de xilanases. Até o momento, nenhum trabalho foi encontrado utilizando resíduos de uva bordô para produção de xilooligossacarídeos. O objetivo do presente trabalho foi comparar a eficiência da hidrólise enzimática do bagaço vinícola de uva bordô (*Vitis labrusca*) quando submetido a pré-tratamento ácido com e sem sonificação. O bagaço foi inicialmente desidratado em estufa com circulação de ar e submetido à moagem. Na sequência, o bagaço seco foi submetido a pré-tratamento ácido com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1M) na proporção de 1:10 (m/v) durante sete horas sob temperatura de 60 °C. No pré-tratamento com sonificação, as mesmas condições foram empregadas, porém na primeira hora foi aplicado um banho de ultrassom (40kHz e 130W). O material foi lavado com água destilada até pH neutro, filtrado e seco. Para a hidrólise enzimática, 3 g de amostra pré-tratada e 0,2 mL de enzima xilanase NS 22244 (NOVOZYMES®) foram adicionados a 100 mL de solução tampão acetato (50 mM, pH 5). A hidrólise enzimática ocorreu na temperatura de 50°C, sob agitação (100 rpm) por 24h. Para avaliar a eficiência do processo, foram coletadas amostras antes do pré-tratamento e durante a etapa de hidrólise para determinação do teor de açúcares redutores pelo método ácido 3,5-dinitrosalicílico. A concentração de açúcares redutores no resíduo desidratado foi de 52,0 mg/g amostra e, ao final da hidrólise, as concentrações foram 102 mg/g amostra e 76,7 mg/g amostra nos pré-tratamentos com e sem sonificação, respectivamente. Verifica-se, portanto, que o tratamento ácido associado à sonificação promove maior liberação de açúcares redutores após a hidrólise enzimática. Esse é um trabalho que se encontra em andamento e, posteriormente, pretende-se caracterizar e quantificar os açúcares liberados.

**Palavras-chave:** Xilanase, açúcares redutores, bagaço de uva, hidrólise enzimática, sonificação.



# 1º INOVABIOTEC 2019

CONGRESSO DE INOVAÇÃO E BIOTECNOLOGIA

Resumos

## BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL

## Estudo da composição do meio de cultivo para produção de biossurfactantes bacterianos

Bruna Strieder Machado<sup>1</sup>, L. M. Colla<sup>1</sup>, A. Decesaro<sup>1</sup>, T. S. Machado<sup>1</sup>, Â. C. Cappellaro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Passo Fundo - UPF

**Resumo:** Os surfactantes são moléculas de grande importância e versatilidade para a indústria farmacêutica, alimentícia e química, devido a sua polaridade distinta, com parte hidrofílica e hidrofóbica, capazes de proporcionar a interação entre água e óleo. Os biossurfactantes, são compostos produzidos através de microrganismos, e apresentam muitas vantagens em relação aos surfactantes sintéticos, com baixa toxicidade e alta biodegradabilidade, no entanto, seu custo de produção em larga escala ainda é elevado. Nesse contexto, os subprodutos e resíduos das agroindústrias podem ser utilizados como alternativas para reduzir tais custos, como os subprodutos da indústria do açúcar e do biodiesel. Dessa forma, objetivou-se avaliar a produção de biossurfactantes a partir de bactérias *Bacillus pumilus*, estudando-se tipo e concentração de fonte de nitrogênio (nitrato de sódio e sulfato de amônio) em meio contendo melaço como fonte de carbono simples e glicerol como indutor. A produção ocorreu por fermentação submersa, sendo retiradas alíquotas no tempo inicial, segundo e quarto dia para avaliar a tensão superficial do meio de cultivo e atividade emulsificante óleo em água (O/A) e água em óleo (A/O). A tensão superficial do ensaio contendo nitrato de sódio apresentou redução de 33,41% ao longo da fermentação, chegando ao valor de 31,19 mN/m ao final do quarto dia. Comparando ao ensaio realizado com sulfato de amônio, que apresentou redução de tensão superficial de apenas 10,24%, o tratamento utilizando nitrato de sódio mostrou-se mais eficiente neste aspecto. A atividade emulsificante não mostrou resultados significativos para ambos os tratamentos realizados. A bactéria *Bacillus pumilus* apresentou valores que indicam a produção de biossurfactantes, através da redução de tensão superficial em meio de cultivo alternativo contendo subprodutos da agroindústria, que minimizam os custos de produção desses biocompostos.

**Palavras-chave:** *Bacillus pumilus*, surfactante, melaço, glicerol

## Cultivo de microalgas em consórcio visando o acúmulo de carboidratos intracelulares

Mateus Torres Nazari<sup>1</sup>, L. M. Colla<sup>1</sup>, F. G. Magro<sup>1</sup>, J. Lorenzato<sup>1</sup>, J. Zamarchi<sup>1</sup>, A. Bergoli<sup>1</sup>, J. F. Freitag<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Passo Fundo - UPF

**Resumo:** As microalgas têm sido estudadas para a avaliação de efluentes, podendo a biomassa produzida ser utilizada na produção de bioetanol. Nos cultivos em consórcios pode haver competição por nutrientes do meio de cultivo, o que pode ocasionar a morte da microalga presente em menor concentração. Neste trabalho objetivou-se cultivar as microalgas *Spirulina platensis* e *Scenedesmus obliquus* em consórcio e avaliar a síntese de carboidratos intracelulares na biomassa resultante. Foram realizados ensaios com concentração inicial de biomassa em 0,2 g.L<sup>-1</sup>, com as microalgas presentes em diferentes proporções: 10% *Spirulina*, 90% *Scenedesmus*; 90% *Spirulina*, 10% *Scenedesmus*; 50% *Spirulina*, 50% *Scenedesmus*; 100% *Spirulina* e 100% *Scenedesmus*. Os cultivos foram realizados em duplicata em Erlenmeyers de 1 L com volume útil de 0,9 L mantidos em estufa a 30°C, com fotoperíodo de 12h claro/12h escuro em meio de cultivo Zarrouk 20%. A biomassa foi coletada no início da fase de declínio e caracterizada em relação aos teores de carboidratos (%) através de método fenol sulfúrico, sendo calculada a produtividade de carboidratos (g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>). Os resultados foram avaliados através de análise de variância e teste de Tukey foi utilizado para comparação de médias. As maiores concentrações de carboidratos foram obtidas nos ensaios com 10% *Scenedesmus* + 90% *Spirulina* (38,36 % ± 4,27); 100% de *Spirulina* (31,73 % ± 2,13) e 50% *Spirulina* +, 50% *Scenedesmus* (29,24 % ± 1,47) (p>0,05), sendo estes cultivos os realizados com as maiores concentrações de *Spirulina*. Quanto à produtividade em carboidratos, os ensaios com 100% *Spirulina* (0,039 g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>) e 10% *Scenedesmus* + 90% *Spirulina* (0,032 g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>) (p>0,05) apresentaram os maiores resultados. Concluiu-se que nos cultivos com predominância da microalga *Spirulina*, tanto controle quanto consórcio, houve maior síntese e acúmulo de carboidratos intracelulares.

**Palavras-chave:** Bioetanol, *Spirulina platensis*, *Scenedesmus obliquus*, consórcio, carboidratos.

## Avaliação do pré tratamento de inóculos em temperatura ambiente (~28°C) e mesofílica (35°C) na codigestão anaeróbia de dejetos suíno, bovino e aves

Munique Marder<sup>1</sup>, C. E. Granada<sup>1</sup>, O. Konrad<sup>1</sup>, C. Hasan<sup>1</sup>, F. Bucker<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** Os microrganismos associados a reatores anaeróbios são sensíveis a alterações de temperatura. Uma mudança brusca pode provocar um desequilíbrio e afetar o desempenho da digestão anaeróbia, podendo até interromper o processo. No entanto, a aclimação prévia de um inóculo pode auxiliar na estabilidade do processo e melhorar a eficiência de conversão da matéria orgânica em biogás. Neste sentido, o presente estudo buscou avaliar o potencial bioquímico de biogás (PBB) e metano (PBM) da codigestão de dejetos suíno, bovino e aves na presença de inóculo previamente aclimatado em diferentes condições de temperatura: mesofílico (35°C) e ambiente (~28°C). Para este estudo foram realizados quatro tratamentos: I) Inóculo aclimatado em temperatura ambiente e codigestão; II) Somente codigestão ambiente; III) Inóculo aclimatado em temperatura mesofílica e codigestão; IV) Somente codigestão mesofílica. Os tratamentos I e II foram incubados à temperatura de ~28°C e IV e V à 35°C. As proporções de inóculo e codigestão foram determinadas com base na norma VDI 4630. Os dados obtidos de PBB e PBM foram submetidos a teste t de Student ( $p < 0,05$ ), utilizando o software Bioestat. Os resultados obtidos do PBB da codigestão na presença de inóculo previamente aclimatado foi de 395,45 (ambiente) e 406,21 mL.gSV<sup>-1</sup> (mesofílico), e o PPM foi de 239,60 (ambiente) e 236,98 mL.gSV<sup>-1</sup> (mesofílico). As análises estatísticas mostraram que não houve diferença significativa na eficiência de conversão da matéria orgânica em biogás e metano nas diferentes temperaturas ( $p < 0,05$ ). Na ausência de inóculo aclimatado, o PBB da codigestão nas temperaturas de ~28°C e 35°C, foi de 218,77 mL.gSV<sup>-1</sup> e 321,51 mL.gSV<sup>-1</sup>, respectivamente. O PBM foi de 116,55 e 194,26 mL.gSV<sup>-1</sup>, respectivamente. As análises estatísticas mostraram diferença significativa na eficiência de conversão da matéria orgânica em biogás e metano nos tratamentos somente com codigestão nas diferentes temperaturas ( $p > 0,05$ ). Contudo, conclui-se que a presença de inóculo previamente aclimatado interfere positivamente na eficiência de conversão da matéria orgânica em biogás e metano da codigestão de dejetos suínos, bovinos e aves nas diferentes temperaturas.

**Palavras-chave:** Codigestão anaeróbia, temperatura, inóculo aclimatado, Potencial Bioquímico de Biogás e Metano.

## Avaliação de atividade enzimática em fungos ambientais

Amanda Ianael Barth<sup>1</sup>, M. J. Maciel<sup>1</sup>, G. L. da Silva<sup>1</sup>, L. Johann<sup>1</sup>, D. Heidrich<sup>1</sup>, J.S. Varreira<sup>1</sup>, E. Guerini<sup>1</sup>, A. L. Stroher<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** Enzimas são proteínas que atuam como catalisadores biológicos no organismo dos seres vivos. As enzimas fúngicas são os produtos microbianos mais utilizados na indústria biotecnológica, indústrias farmacêuticas com produção de medicamentos, sendo muito utilizada no processamento e produção de alimentos, de detergentes biológicos, indústria têxtil e controle biológico. O objetivo deste trabalho foi avaliar cinco metodologias diferentes de produção enzimática, três de lipase, um de protease e uma de quitinase, para quatro gêneros de fungos *Acremonium*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, provenientes do solo do Bioma Pampa. Foram preparados meios de cultura específicos para cada metodologia, sendo que para lipases usou-se óleo de oliva, tween 80, tween 20 e margarina como fontes de lipídios. Para protease foi usado leite em pó como fonte de proteína e para quitinase a casca de camarão como fonte de quitina. Os quatro gêneros de fungos foram inoculados nesses meios e incubados em estufa a 28 °C por 5 a 10 dias. As reações enzimáticas foram observadas por meio do aparecimento de halo em torno das colônias. *Acremonium* apresentou atividade enzimática para todas metodologias de lipase, enquanto *Aspergillus* somente para uma, *Fusarium* apresentou atividade enzimática para protease e *Penicillium* para quitinase e todas metodologias de lipase. Os resultados desse trabalho coincidem com os de outras pesquisas que apontam *Penicillium* como produtor de lipase. A literatura destaca a eficácia do *Aspergillus* na produção de lipase e protease, mas como visto neste estudo o gênero apresentou atividade somente para uma das metodologias. *Acremonium* apresentou produção enzimática para as metodologias de lipases e protease, reafirmando o que foi encontrado em outros estudos. Contrariando resultados encontrados em outras pesquisas *Fusarium* não apresentou produção enzimática para lipase, mas sim, para protease. Esses experimentos foram testes pilotos frente às metodologias que serão empregadas para os demais gêneros isolados do solo do Bioma Pampa (cerca de 500 indivíduos). Esses fungos serão testados em diferentes concentrações (10<sup>8</sup>, 10<sup>6</sup> e 10<sup>4</sup> conídios/mL), frente aos ácaros *Tetranychus urticae* (fêmeas e ovos) e *Polyphagotarsonemus latus* (fêmeas). Concomitantemente será feita a identificação desses fungos por meio da biologia molecular.

**Palavras-chave:** Enzimas fúngicas, produção enzimática, controle biológico.

# Desenvolvimento de um método rápido e de fácil implementação para o monitoramento do crescimento de microalgas em diferentes tratamentos culturais

Alexandro Cagliari<sup>1</sup>, A. Rieger<sup>1</sup>, S. Tostes<sup>2</sup>, J.L. Batista<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Santa Cruz do Sul - Unisc

<sup>2</sup>Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS,

**Resumo:** As microalgas vêm sendo amplamente utilizadas biotecnologicamente, devido à sua importância nutricional, econômica e ecológica. Um aspecto crítico durante o delineamento experimental, sobretudo em condições contrastantes de cultivo, é o monitoramento do crescimento celular de microalgas. Existem várias metodologias utilizadas para monitorar o crescimento de microalgas, tais como análise de absorvância, análise de fluorescência, contagem de células e determinação da biomassa seca. No entanto, esses processos são, em geral, demorados, imprecisos e laboriosos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de uma nova metodologia simples e rápida que emprega análise de densidade óptica para monitorar o crescimento celular microalgal. Para tanto, foi utilizada a microalga da espécie *Parachlorella kessleri* como organismo-teste. O crescimento celular das microalgas sob diferentes condições de cultivo foi monitorado por análise espectrofotométrica de densidade óptica (D.O.) utilizando a leitora de microplacas SpectraMax M3. Foi gerada uma curva de calibração para normalizar os dados de D.O., considerando o número de células para esta espécie de microalga específica e para este modelo de leitora de microplacas. Observou-se durante a técnica que os valores de D.O. dos diferentes cultivos de microalgas obtiveram linearidade constante ao longo do tempo de incubação. A técnica apresentou inúmeras vantagens quando comparadas às atuais metodologias utilizadas: i) rápida, sendo realizada em poucos minutos, ii) permite monitorar inúmeras amostras/replicatas experimentais simultaneamente e iii) utiliza pequenas alíquotas dos cultivos (200µL) para as análises de crescimento. A técnica se mostrou extremamente eficiente para o monitoramento do crescimento celular de microalgas e apresenta grande potencial de utilização em ensaios biotecnológicos.

**Palavras-chave:** Microalgas, crescimento celular, densidade óptica.

## Biodegradação de micropoluentes

Gabriela Vettorello<sup>1</sup>, S. G. Cordeiro<sup>1</sup>, V. V. Brandt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** Micropoluentes são substâncias identificadas recentemente, devido à baixa concentração em que se encontram (ng-mg/L), dos quais ainda são pouco conhecidos os efeitos e permanência no meio ambiente. Entre estes compostos, destacam-se os agrotóxicos, fármacos e desreguladores endócrinos, que devido à sua estrutura orgânica estável necessitam de alternativas que possibilitem sua degradação, já que os sistemas convencionais de tratamento de água e efluentes não visa sua eliminação. Diversos estudos comprovam a eficácia da utilização de processos oxidativos avançados na degradação destes contaminantes, entretanto, a geração de produtos mais tóxicos do que a própria substância original também foi evidenciada em muitos casos. A biodegradação, por meio da exposição destes micropoluentes a micro-organismos específicos, é uma alternativa que vem sendo estudada nos últimos anos. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo a realização de uma revisão bibliográfica deste conteúdo, através de uma pesquisa na plataforma CAPES e Scielo, utilizando os termos “micropollutant biodegradation” em trabalhos publicados entre o período dos anos 2000 a 2019. Biodegradação é o termo recomendado para denominar uma biotransformação que leva à perda de determinadas propriedades químicas (biodegradação primária) ou a produtos totalmente reduzidos ou oxidados a dióxido de carbono e água (biodegradação final). Entre os micro-organismos utilizados para esta finalidade, são citadas algas, bactérias, fungos e enzimas. No processo de biodegradação, os organismos utilizam diversos mecanismos para transformar o contaminante em seu substrato, fonte de carbono ou energia. Alguns exemplos destas biotransformações incluem acetilação de aminoácidos, metilação de grupos hidroxila e reações de substituição e clivagem. Além da redução da concentração de micropoluentes no efluente final, a biomassa resultante também pode ser utilizada como fertilizante, devido à sua composição rica em nutrientes, que ocorre principalmente com a utilização de microalgas, que absorvem alguns dos contaminantes aos quais são expostas. Através do estudo realizado, verifica-se que a biodegradação é uma alternativa no tratamento de micropoluentes, que são substâncias de difícil remoção, e maiores estudos devem ser realizados com a finalidade de aprimorar sua utilização e avaliar a viabilização de sua implantação em estações de tratamento.

**Palavras-chave:** micropoluentes, biodegradação, água, microrganismos.

## Teste de suscetibilidade para a avaliação da degradação da amoxicilina

Ytan Andreine Schweizer<sup>1</sup>, C. Steffens<sup>1</sup>, E. M. Freitas<sup>1</sup>, G. Vettorello<sup>1</sup>, E. M. Ethur<sup>1</sup>, D. Heidrich<sup>1</sup>, L. Hoehne<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** A amoxicilina é um fármaco usado para tratar doenças de infecção bacteriana em humanos e animais. Porém, em concentrações baixas, pode ser considerado um micropoluinte, pois grande parte do fármaco ingerido é eliminado pelo organismo, podendo atingir o esgoto ou o solo. Como os tratamentos convencionais não degradam de forma correta este tipo de micropoluinte, é necessário o desenvolvimento de processos mais eficazes. Assim, tratamentos de efluentes que utilizam fotoxidação, como irradiação ultravioleta (UV), podem ser mais efetivos. No entanto, não basta degradar o fármaco, uma vez que seus metabólitos podem ser mais tóxicos do que a molécula original, sendo necessário analisar o potencial antimicrobiano pós-tratamento. Desse modo, o objetivo do trabalho foi avaliar a suscetibilidade da amoxicilina em solução aquosa após diferentes tempos de irradiação UV. Para isso, foram preparadas soluções de 512 µg/ml do fármaco, sendo inseridas em um reator em batelada (6,5 cm de diâmetro externo, 6,3 cm de diâmetro interno e 12 cm de altura), onde um tubo de quartzo foi acoplado ao centro do reator para que uma lâmpada de vapor de mercúrio de 125W fosse inserida, dentro do mesmo, para a obtenção da irradiação UV sob as amostras. As soluções foram testadas entre 0 a 480 minutos de irradiação, retirando alíquota a cada cinco minutos para avaliação do crescimento de microrganismos (análise de suscetibilidade). A bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 foi selecionada para o teste devido à presença desta espécie bacteriana nas águas dos rios. A avaliação da suscetibilidade da bactéria à amoxicilina pré e pós-tratamento fotoxidativo foi realizado seguindo o protocolo M100S do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para teste de microdiluição em caldo. A concentração inibitória mínima (CIM) foi considerada visualmente como a concentração que obteve 100% de inibição bacteriana e foram realizadas leituras das absorbâncias obtidas em 625 nm para avaliação do percentual de crescimento bacteriano nas concentrações do fármaco avaliadas. Como resultado, foi visto que o tempo necessário para tornar a molécula inativa nas concentrações de 4 a 32 µg/ml foi 120 minutos de exposição à luz UV. Porém, para a maior concentração testada (256 µg/ml), o tempo necessário para a degradação total foi 390 minutos. Assim, este método de irradiação se mostrou promissor como ferramenta de tratamento de águas contaminadas com amoxicilina em concentrações inferiores a 32 µg/ml.

**Palavras-chave:** Micropoluentes, *Staphylococcus aureus*, amoxicilina.

## Verificação da qualidade microbiológica do ar em uma instituição de ensino no interior do Rio Grande do Sul

Gisa Schmidt da Silva<sup>1</sup>, A. I. Barth<sup>2</sup>, A. L. Stroher<sup>2</sup>, E. Guerini<sup>2</sup>, D. Heidrich<sup>2</sup>, M. J. Maciel<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Escola Estadual de Ensino Básico Érico Veríssimo

<sup>2</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** Locais com baixa taxa de renovação de ar possuem quantidades grandes de microrganismos, oferecendo riscos à saúde humana. Este estudo teve como objetivo verificar a qualidade microbiológica do ar em vários locais e em diferentes estações do ano em uma instituição de ensino no interior do Rio Grande do Sul. As áreas das amostragens foram: ambiente externo e sala de aula com e sem circulação de pessoas, banheiro masculino e feminino e cozinha. As coletas foram/estão sendo feitas em triplicatas, usando o ágar Sabouraud para crescimento de fungos e o ágar Sangue para o crescimento de bactérias. Cada placa de Petri foi aberta durante quinze minutos em cada área apresentada, depois levadas em caixas de isopor refrigeradas até a Universidade do Vale do Taquari- Univates. As placas foram incubadas em estufa a 25 °C/5 dias para o crescimento de fungos e a 36 °C/48 horas para bactérias. Em seguida, foi feito o isolamento dos fungos, para obter uma cultura pura com o auxílio de uma alça bacteriológica, fazendo estrias nas placas com ágar. Para a sua identificação foi utilizada a técnica do microcultivo e visualização microscópica e macroscópica das estruturas. Para as bactérias utilizou-se a mesma técnica de isolamento. Neste momento está sendo executada a coloração de Gram e futuramente testes bioquímicos para a identificação de bactérias. Até então foi realizada a coleta do verão, a próxima, referente ao período do inverno, será efetuada no mês de maio. A amostragem fúngica do verão apresentou 166 UFC, colocando o local “ambiente externo” com o maior número de fungos (54 UFC) e tendo como área de menor quantidade o “banheiro masculino” (7 UFC). Os gêneros prevalentes são *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium*. Quanto à presença de bactérias no ar obteve-se 110 UFC. O local que mais apresentou esses microrganismos foi a “sala de aula com pessoas circulando” (23 UFC). E novamente o “banheiro masculino” apresentou a menor contagem bacteriana (8 UFC). Frente aos resultados, se efetuada a relação I/E (quantidade de fungos no ambiente interno/fungos no ambiente externo), os locais avaliados obtiveram valores abaixo de 1,5 mostrando, portanto, regularidade. Porém, apresentaram fungos toxigênicos e patogênicos, a presença dos mesmos pode interferir no bem-estar dos indivíduos desta instituição. Quanto às bactérias, os experimentos estão em andamento.

**Palavras-chave:** Microrganismos, Fungos, Bactérias, Patogênicos, Toxigênicos.



# **1º INOVABIOTEC 2019**

**CONGRESSO DE INOVAÇÃO E BIOTECNOLOGIA**

**Resumos**

# **BIOTECNOLOGIA ANIMAL**

## Atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus* em bactérias de lesões cutâneas de cães

Tamiris Silva Lopes<sup>1</sup>, A. F. Streck<sup>1</sup>, M. R. Ely<sup>1</sup>, S. Silveira<sup>1</sup>, P. S. Fontoura<sup>1</sup>, A. de B. Moyses<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Universidade de Caxias do Sul - UCS

**Resumo:** As dermatopatias bacterianas são as afecções dermatológicas mais frequentemente observadas na clínica de pequenos animais. O uso difundido e errôneo de drogas antimicrobianas na medicina veterinária vem resultando no desenvolvimento de resistência bacteriana, dificultando tratamentos veterinários e possibilitando a transmissão de resistência para seres humanos. Novas alternativas como os produtos naturais com atividade antimicrobiana vêm demonstrando resultados satisfatórios no combate de microrganismos resistentes. Os óleos essenciais são considerados promissores por serem oriundos de espécies vegetais e por suas atividades biológicas bem estabelecidas, a exemplo da atividade antimicrobiana. Deste modo, o objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) frente a *Staphylococcus pseudointermedius* multirresistentes provenientes de lesões cutâneas de cães (23/2018-CEUA). Para isso, testes de concentração inibitória mínima (CIM) foram empregados, onde diluições seriadas de óleo essencial (3-0,02%) foram realizadas em caldo Muller Hinton em placas de 96 poços; seguidas da adição de 5 ul de suspensão bacteriana (concentração final de 10<sup>5</sup> UFC/ml). Após, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica por 24 horas e o crescimento microbiano avaliado por espectrofotometria com densidade óptica em 600 nm. A análise do óleo essencial foi realizada através de cromatografia gasosa acoplado a detector de ionização de chamas e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG- DIC e CG/EM). Os resultados demonstraram que concentrações de 0,3% de óleo reduziram significativamente o crescimento de microrganismos resistentes à Penicilina, Eritromicina, Ceftriaxona, Azitromicina, Gentamicina, Tetraciclina e Neomicina, previamente definidos por antibiograma. As análises por (CG- DIC e CG/EM) apontaram o mirceno (34,78%) como composto majoritário, seguido de geranial (34,13%) e neral (22,56%), juntamente de compostos minoritários em quantidades vestigiais. Conforme os resultados obtidos até o momento, destaca-se caráter antimicrobiano do óleo essencial de capim limão e sua potencialidade no controle de bactérias multirresistentes.

**Palavras-chave:** Atividade antibacteriana, bactérias multirresistentes, óleos essenciais.

# Influência dos fatores climáticos na produção e reprodução bovina

Genilson Matias da Silva<sup>1</sup>, W.L.O.Boina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UNOESTE

**Resumo:** Dairy productivity of cattle is directly linked to the management conditions in which animals are subjected, as well as reproduction. An intriguing factor that causes many losses in bovine herds is the temperature, ie, thermal conditions in which the animal is exposed. Due to this, producers are concerned with the improvement of the conditions of the production sites, in order to ensure suitable conditions for the cattle, to improve or minimize productive losses due to thermal stress. In the face of adverse climatic conditions, the animals undergo physiological and behavioral adjustments to adapt to these changes, which can be minimized with the use of strategies that allow animals to facilitate heat exchanges with the environment where they are. The present study aims to review the main causes of production and reproduction related to thermal stress in cattle. Knowledge of the interaction between animals and the environment is fundamental for making decisions about management strategies to be used to maximize productive responses. In this way, the understanding of the daily and seasonal variations of the physiological responses allows the adoption of adjustments that promote greater comfort to the animals. Providing adequate environmental conditions of hygiene, correct nutritional management, prevention and control of all diseases that can affect animals are fundamental for each animal to remain healthy, thus allowing these animals to express the maximum genetic potential of production and reproduction in all phases of its life, which will allow greater individual production and, consequently, longer productive life. Thus, the greater the productive and reproductive efficiency of a dairy herd, the greater financial economic return will be the activity. The improvement of the management practices can make the productive systems more competitive, since, besides avoiding losses, it is possible to increase the production with the improvement and the adequacy in the management of the animals. Not to mention a differentiated final product, quality beef, good quality milk with all the organoleptic properties, with attributes that are currently valued by the main international markets.

**Palavras-chave:** Cattle, Thermal Stress, Milk Production, Reproduction, Shading.

## Avaliação do sistema reprodutor de camundongos expostos a efluentes de curtume

Bárbara Schmitt<sup>1</sup>, S. Stülp<sup>1</sup>, A. F. T. da Silva<sup>1</sup>, A. M. Camini<sup>1</sup>, M. Pasini<sup>1</sup>, E. S. Barros<sup>1</sup>, I. C. Bustamante-Filho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

Resumo: Os efluentes de curtume são compostos por resíduos altamente poluentes, geralmente contendo substâncias capazes de provocar alterações significativas na dinâmica das populações de pequenos mamíferos, bem como alterações drásticas na saúde de seres humanos que possam ter contato com esse tipo de resíduo. A legislação é extremamente severa quanto ao seu descarte, no entanto, é frequente seu descarte sem tratamento em corpos d'água. Estudos recentes demonstraram que o contato com efluentes de curtume (EC) em concentração maior que 5% causa degeneração testicular em ratos. Estes dados são de extrema relevância, visto que são um importante indicativo da toxicidade reprodutiva deste contaminante, contudo, é importante definir se concentrações ainda menores e mais próximas da realidade ambiental causam o mesmo efeito. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos na fisiologia reprodutiva de camundongos machos expostos de forma crônica (30 dias) a EC. Para isso, foram utilizados 20 camundongos machos distribuídos em quatro grupos experimentais conforme o grau de contaminação da água de beber, a saber: 0% (controle), 0,1%, 0,5% e 5%, de ECB. Após decorridos 30 dias, os machos foram pareados com fêmeas (n = 20) para avaliação de parâmetros de fertilidade. Em seguida, os animais foram eutanasiados para avaliações morfológicas, celulares e moleculares nos tecidos reprodutivos. Para tais análises, foram verificados os seguintes parâmetros: peso dos animais, testículos, epidídimo e fígado; motilidade espermática total e progressiva; morfologia espermática; defeitos na cabeça, peça intermediária e cauda. Verificou-se um aumento nas alterações morfológicas dos espermatozoides ( $p < 0,05$ ), em especial defeitos na cabeça ( $p < 0,05$ ). A partir disto, sugere-se que a exposição por 30 dias a EC causam alterações na morfologia espermática, porém sem afetar parâmetros cinéticos como motilidade total e progressiva.

**Palavras-chave:** efluentes de curtume, desregulação endócrina, camundongo, fertilidade.

# Employment of the 18s rRNA screening PCR technique in the detection of Equine Piroplasmosis, in horses of sports and military operations, of the Brazil

João Gilberto Bernardi Soares<sup>1</sup>, Cristina P. Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR

**Resumo:** ABSTRACT The present work had the objective of detecting the occurrence of Equine Piroplasmosis in horses housed in the 3rd Guards Cavalry Regiment (GCR) - Brazilian Army (BA) □ Porto Alegre, RS-Brazil, as well as to demonstrate the proactivity of PCR (Polymerase Chain Reaction) technique, aiming at the judicious use of the resources involved in the training and employment of Equines in the Brazilian Army. Fifty horses of the 3rd GCR - Porto Alegre □ RS, which are employed for Sport, Military Ceremonial, Law and Order Guarantee Operations (LOGO), were evaluated by means of the 18s r RNA screening with PCR technique, thirty eight horses with *Babesia Caballi* and *Theileria Equi* were detected, which corresponds to an incidence of 76% of the horses effective analyzed at the time. In this way, it can be verified that the Military activity have its “performance and effectiveness” factors threatened in case the health of the principal of his means employed, that is the horse, is compromised. The PCR technique then offers a reliable and feasible tool for the detection of Equine Piroplasmosis in BA horses.

**Palavras-chave:** Keywords: Horses, *Babesia Caballi*, Detection, PCR, LOGO, GCR, BA.

## Estudo de genes de referência em Zebrafish (*Danio rerio*) transgênicos superexpressando o hormônio do crescimento

André Huber Cunha<sup>1</sup>, V.F. Campos<sup>2</sup>, L.F.F. Marins<sup>2</sup>, M.T. Kütter<sup>1</sup>, H. G. Ortiz<sup>1</sup>, E. N. Dellagostin<sup>1</sup>, A. W. S. Martins<sup>1</sup>, G. B. Rassier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas - UFPel

<sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande - FURG

**Resumo:** A reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qPCR) é considerada a técnica padrão-ouro para medição precisa, rápida e sensível para análise da expressão gênica. Para a utilização desta técnica é necessário, entretanto, o uso de genes normalizadores para a leitura adequado dos dados. Estes genes devem manter a sua expressão significativa e estável independentemente do estágio de desenvolvimento, do tecido ou de respostas a tratamentos experimentais. Embora haja vários estudos avaliando a estabilidade de genes de zebrafish em diferentes situações, até o presente momento não há estudos de genes normalizadores em zebrafish transgênicos, evidenciando a necessidade de estabelecer estes genes para futuros estudos que utilizem a qPCR, uma vez que supõe-se que esta transgenia possa influenciar a expressão de normalizadores já descritos. Este trabalho teve por objetivo avaliar a estabilidade de expressão de genes de diferentes funções, sendo eles: *ifg1*, *e1a*, *actb1*, *actb2*, *rpl2*, *rpl7*, *rpl13a*, *b2m*, *tuba*, *gadhp*, *18s*, *atp1a* e *e1f2b*. Para isso, foram utilizados modelos não transgênicos (NT) e modelos transgênicos (T) da linhagem F1040, que superexpressa o hormônio do crescimento. O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética em Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande. A expressão da estabilidade foi examinada por qPCR de 21 amostras NT e 21 amostras T de zebrafish irmãos e de ambos os sexos. Foi avaliada a estabilidade dos genes candidatos através de dois métodos ( $\Delta C_t$  e GeNorm). Os valores obtidos pela análise do  $\Delta C_t$  foram convertidos para, em seguida, serem utilizados com o algoritmo GeNorm, dos quais os genes mais estáveis para o grupo NT foram *rpl13a/e1a* (0,751) e *rpl7* (0,759), enquanto que do grupo T foram *rpl7/rpl13a* (0,515) e *e1a* (0,593). Desta forma, diferentes genes de referência devem ser usados para a qPCR em peixes transgênicos.

**Palavras-chave:** Normalizadores, RT-qPCR, housekeeping genes, níveis de transcritos, expressão gênica.

## Expressão gênica de proteínas candidatas a marcadores moleculares em um modelo de degeneração testicular em suínos

Ana Paula Binato de Souza<sup>1</sup>, W. O. Beys-da-Silva<sup>2</sup>, L. Santi<sup>2</sup>, A. F. T. Silva<sup>1</sup>, T. N. Lopes<sup>1</sup>, I. C. Bustamante-Filho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

**Resumo:** A busca por marcadores proteicos associadas a parâmetros seminais e de fertilidade podem trazer benefícios importantes a reprodução de suínos, como a otimização do uso de reprodutores e melhor preservação de doses inseminantes. Para tanto, é necessário identificar proteínas que tenham sua expressão alterada em ejaculados com baixa qualidade. Recentemente, identificamos proteínas expressas em espermatozoides e fluido epididimário da cauda de epidídimo de cachorros com degeneração testicular induzida pela imunização contra o GnRH. Dentre as proteínas alteradas, selecionamos a Serotransferrin precursor (TF), Lipocalin-5 epididymal-specific (LCN5), Calreticulin precursor (CALR) e Prostaglandin-H2 D-isomerase (PTGDS) para validar os dados da proteômica por meio de PCR quantitativo. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da imunização contra GnRH na expressão gênica das proteínas TF, LCN5, CALR e PTGDS nas diferentes regiões epididimárias e testículo de suínos. Foram coletadas amostras de tecidos reprodutivos de suínos machos, sendo o grupo controle formado por tecidos de animais adultos sadios castrados cirurgicamente (n=8) e o grupo tratamento composto de tecidos reprodutivos de suínos adultos imunocastrados (n=11). Foi realizada a qPCR a partir de RNA total extraído (kit GE Healthcare Illustra Spin®) de três regiões do epidídimo (cabeça, corpo, cauda). A expressão dos genes CALR e PTGDS no epidídimo não apresentou diferença em relação aos grupos. O gene TF apresentou maior expressão na cabeça e corpo do epidídimo, já para o gene LCN5 foi mais expresso na cabeça nos animais de ambos os grupos ( $p < 0,01$ ). Foi observado um aumento na expressão do gene TF na região do corpo do epidídimo nos animais imunocastrados ( $p < 0,01$ ). Diferentemente, a imunização reduziu a expressão da LCN5 no corpo e na cauda do epidídimo ( $p < 0,01$ ). Conclui-se com estes resultados que a imunização afeta a expressão de LCN5 no epidídimo, mas não altera a expressão de CALR e PTGDS. A maior presença dessas proteínas no espermatozoide da cauda do epidídimo de animais imunocastrados pode ser explicado por alterações de rotas de degradação proteica, como ubiquitinação.

**Palavras-chave:** proteômica, suíno, epidídimo, expressão gênica, degeneração testicular.

## Efeitos do efluente de curtume no sistema reprodutor em camundongos fêmeas Balb/cj

Manoela Pasini<sup>1</sup>, A. P. B. de Souza<sup>1</sup>, E. S. Barros<sup>1</sup>, B. Schmitt<sup>1</sup>, A. M. Camini<sup>1</sup>, I. C. Bustamante-Filho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** A indústria coureira gera danos, não somente ao meio ambiente, mas também significativas alterações na dinâmica de populações de pequenos mamíferos. Estudos relatam que ratos expostos por 3 meses a água contaminada com 5% de efluente de curtume podem vir a sofrer degeneração testicular, causando impactos na fertilidade e desenvolvimento embrionário. Considerando que alterações causadas por menores concentrações de efluente de curtume não foram analisados, o presente trabalho tem por objetivo avaliar as possíveis alterações fisiológicas na reprodução de camundongos causados pela exposição a menores concentrações. Desta forma, vinte camundongos machos com quarenta dias de idade foram distribuídos em quatro grupos expostos pela água de beber (ad libitum) à determinadas concentrações de efluente de curtume (0%, 0,1%, 0,5% e 5%) durante o período de trinta dias. Durante o período experimental, foram acondicionados em estante ventilada, em grupos de 5 animais, com trocas de cama e água a cada 3-4 dias. O manejo foi realizado sempre pelas mesmas pessoas, atendendo as exigências de bioética e bem estar de animais de experimentação. Após, no trigésimo primeiro dia, os animais foram pareados com fêmeas (n = 20) e após eutanasiados para avaliações morfológicas, celulares e moleculares nos tecidos reprodutivos. Dezoito dias após o cruzamento, as fêmeas foram eutanasiadas utilizando sobredose anestésica (associação de quetamina e xilazina) para avaliações morfológicas dos tecidos reprodutivos. Projeto aprovado pela Comissão de Ética no uso de animais (CEUA UNIVATES 015/2018). Foram analisados o peso das fêmeas prenhes, número de fetos, peso dos fetos e número de absorções embrionárias, características essas que não tiveram diferenças entre os tratamentos. Diferentemente, foi observada diferença com relação ao peso da placenta, onde as fêmeas pareadas com machos expostos a 0,1% e 5% de efluente de curtume apresentaram menor peso dos anexos fetais em comparação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). Com base nos resultados encontrados, placenta de fetos gerados a partir de machos expostos ao efluente de curtume nas concentrações de 0,1% e 0,5% apresentam peso inferior comparado ao grupo controle. Outros estudos serão desenvolvidos para verificar os tipos de alterações estruturais envolvidas.

**Palavras-chave:** Sistema Reprodutor, Toxidade Reprodutiva, Efluente de Curtume.



# 1º INOVABIOTEC 2019

CONGRESSO DE INOVAÇÃO E BIOTECNOLOGIA

Resumos

## BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE

## Efeitos da interação entre o consumo de cafeína e variantes dos genes ADORA2A, DRD2 e AHR sobre desfechos comportamentais

Fabiane Dresch<sup>1</sup>, V. Contini<sup>1</sup>, J. P. Genro<sup>2</sup>, M. Conte<sup>1</sup>, L. Capra<sup>1</sup>, F. G. P. das Neves<sup>1</sup>, C. Wunsch<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA

**Resumo:** Introdução: Os efeitos da cafeína ocorrem através do bloqueio dos receptores de adenosina no sistema nervoso central (SNC). Porém, há evidências da interação dos sistemas adenosinérgico e dopaminérgico na mediação dos efeitos da cafeína e sabe-se, ainda, que os efeitos desta podem estar associados com polimorfismos genéticos, entre eles, variantes nos genes dos receptores de adenosina A2A (ADORA2A) e de dopamina D2 (DRD2). Polimorfismos no gene do receptor hidrocarboneto de arila (AHR) têm sido relacionados com o metabolismo da cafeína, o que está diretamente relacionado com seus efeitos no SNC. Objetivo: O objetivo deste estudo é avaliar a interação entre o consumo de cafeína com os polimorfismos rs2298383 e rs3761422, do gene ADORA2A, rs1076560 e rs2283265, do gene DRD2, e rs440790, do gene AHR, sobre sintomas de ansiedade e depressão em adultos. Metodologia: A amostra será constituída por 300 indivíduos recrutados entre a comunidade acadêmica da Universidade do Vale do Taquari - Univates. Todos os indivíduos incluídos no estudo assinarão um termo de consentimento livre e esclarecido (COEP/UNIVATES: 2.502.199). O consumo de cafeína dos participantes será estimado por meio de um screening que avalia o consumo diário de alimentos e bebidas que contém esta substância. Para a análise dos sintomas de ansiedade e depressão serão utilizados o Inventário de Ansiedade de Beck e o Inventário de Depressão de Beck, respectivamente. A extração de DNA será realizada pelo método de salting out e os polimorfismos serão genotipados pelo sistema de discriminação alélica TaqMan (Applied Biosystems). Resultados: Até o momento, foram analisados 186 indivíduos com consumo médio de cafeína de 290 mg/dia. As frequências alélicas para os polimorfismos do gene ADORA2A foram de 0,46 (alelo C) (rs2298383) e 0,41 (alelo T) (rs3761422). Para os polimorfismos do gene DRD2 foram 0,19 (alelo A) (rs1076560) e 0,19 (alelo T) (rs2283265). Não foram detectadas associações significativas entre o consumo de cafeína com os sintomas de ansiedade ( $p=0,28$ ) e depressão ( $p=0,23$ ). Da mesma forma, não foram observadas interações genéticas significativas. Ressalta-se que nossos resultados são preliminares, pois o tamanho amostral analisado é pequeno e o gene AHR ainda não foi genotipado. Conclusões mais robustas poderão ser feitas a partir da inclusão dos dados de todos os participantes, com a análise de haplótipos nos genes ADORA2A e DRD2 e análises de interações gene-gene e gene-ambiente.

**Palavras-chave:** ADORA2A, DRD2, AHR, Nutrigenética, Cafeína.

## Alterações da função hepática e renal associadas ao consumo de álcool

Magali Conte<sup>1</sup>, V. Contini<sup>1</sup>, J. P. Genro<sup>2</sup>, C. Wünsch<sup>1</sup>, L. Capra<sup>1</sup>, F. Dresch<sup>1</sup>, M. Conte<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA

**Resumo:** Introdução: O álcool é uma das substâncias psicoativas mais utilizada no mundo. Quando ingerido, o etanol é metabolizado pelo fígado, sendo excretado principalmente pela urina, podendo causar vários tipos de lesões hepáticas e renais. Um dos métodos de avaliar os efeitos do consumo de álcool é a dosagem dos níveis séricos das enzimas transaminase glutâmico-oxalacética (TGO), transferase glutâmico pirúvica (TGP) e gama glutamil transferase (Gama GT), marcadores de função hepática, e da creatinina e a ureia, marcadores renais. No entanto, sabe-se que existe uma marcante variabilidade de resposta aos efeitos do consumo de álcool, parte dela influenciada por fatores genéticos individuais. Objetivos: O objetivo principal deste estudo é verificar se existe associação entre o consumo de álcool e os níveis de TGO, TGP, Gama GT, creatinina e ureia em adultos. Esses dados fornecerão subsídios para o desenvolvimento do projeto “Aspectos nutrigenéticos de marcadores bioquímicos, antropométricos e comportamentais: implicações para as doenças multifatoriais”, em andamento na Universidade do Vale do Taquari - Univates. Metodologia: A amostra será constituída por indivíduos recrutados entre a comunidade acadêmica da Univates. O consumo de álcool dos participantes será investigado por meio de uma anamnese. Será coletada uma amostra de sangue periférico de todos os participantes, para análises bioquímicas e moleculares. A avaliação dos marcadores bioquímicos selecionados será realizada no Laboratório de Análises Clínicas, do Centro Clínico da Univates, na automação de bioquímica BS-120 da Mindray®, utilizando kits comerciais da marca BioClin®. O controle de qualidade das análises será realizado utilizando controles comerciais normais e patológicos da mesma marca. Todos os indivíduos incluídos no estudo assinarão um termo de consentimento livre e esclarecido (COEP/UNIVATES: 2.502.199). As análises estatísticas serão realizadas no software SPSS, v25. Resultados esperados: Espera-se que os resultados dessas análises possam contribuir para uma melhor compreensão da relação entre o uso de álcool e os níveis de TGO, TGP, Gama GT, creatinina e ureia em adultos. A hipótese do presente estudo é de que o consumo de álcool possa estar associado com alterações da função hepática e renal. No entanto, a integração destes achados com dados genéticos dos participantes será essencial para uma melhor compreensão destas relações.

**Palavras-chave:** Álcool, Sistema hepático, Sistema renal, Nutrigenética, Universitários.

## Potencial inovador do extrato de *Pleurotus albidus* como cardioprotetor

Eduardo Echer dos Reis<sup>1</sup>, P. C. Schenkel<sup>2</sup>, M. Camassola<sup>2</sup>, R. C. Fontana<sup>3</sup>, T. R. G. F. Piedras<sup>3</sup>, P. Turck<sup>3</sup>, C. C. Carraro<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas - UFPel

<sup>2</sup>Universidade de Caxias do Sul - UCS

<sup>3</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

**Resumo:** Doenças cardiovasculares possuem altos índices de mortalidade e há evidências do papel do estresse oxidativo na patogênese dessas. Os antioxidantes atuam para manter o equilíbrio redox e, portanto, são considerados importantes cardioprotetores. Neste sentido, destacam-se as espécies de cogumelos do gênero *Pleurotus*, que produzem diversas moléculas antioxidantes como naringina, miricetina e ácidos fenólicos. Assim, o objetivo do presente estudo é verificar o potencial cardioprotetor do extrato de *Pleurotus albidus*. Para isso, corações de ratos Wistar machos foram homogeneizados e incubados com o extrato de *Pleurotus albidus* nas concentrações de 0,75 mg/ml, 1 mg/ml, 1,25 mg/ml e 1,5 mg/ml por 30 minutos a 37°C. As amostras foram posteriormente incubadas com FeCl<sub>2</sub> (cloreto ferroso), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrogênio) e C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> (ácido ascórbico) para induzir estresse oxidativo (sistema de geração de radical hidroxila) por mais 30 min a 37°C. Após esse período, as amostras foram aliqüotadas para realização das seguintes análises: TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), SOD (superóxido dismutase), CAT (catalase) e GPx (glutathione peroxidase) (CEUA UFRGS: 34651). A lipoperoxidação (TBARS) e a atividade da enzima antioxidante SOD foram significativamente reduzidas apenas na concentração de 1,5 mg/ml. A atividade da CAT aumentou significativamente somente nas amostras incubadas na concentração de 1 mg/ml. Já nos resultados da enzima GPx, as amostras incubadas com o extrato nas concentrações de 1,25 e 1,5 mg/ml apresentaram um aumento significativo. Esses resultados parciais indicam um maior potencial cardioprotetor do extrato de *Pleurotus albidus* na concentração de 1,5 mg/ml por reduzir a lipoperoxidação. Desta forma, utilizaremos essa dose de extrato em testes posteriores para verificação do papel cardioprotetor do extrato de *P. albidus* na função de corações submetidos a isquemia-reperfusão.

**Palavras-chave:** antioxidante, cardiovascular, estresse oxidativo, *Pleurotus albidus*.

# Análise de expressão diferencial de genes: uma solução computacional para identificação de biomarcadores em tumores gástricos em humanos

Marcos Vinicius Rossetto<sup>1</sup>, Scheila de Avila e Silva<sup>1</sup>, Ivaine Taís Sauthier Sartor<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Caxias do Sul - UCS

<sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

**Resumo:** O Câncer é a segunda maior doença causadora de mortes mundialmente, sendo o câncer gástrico o terceiro mais fatal. Considerando este cenário, novas metodologias de diagnóstico e prognóstico se tornam essenciais para o melhoramento do panorama global. O presente trabalho tem por objetivo disponibilizar uma nova ferramenta computacional para auxiliar na identificação de possíveis biomarcadores em tumores de câncer gástrico humano. A ferramenta, denominada C-Gemis, foi implementada de modo a automatizar a aquisição e análise de dados de microarranjo e RNA-Seq disponibilizados pelos bancos de dados públicos GEO e TCGA. O acesso a ferramenta se dá por uma interface web amigável que, possibilita ao usuário sem conhecimento computacional a execução de análises na plataforma de programação estatística R. Desse modo, o desenvolvimento do C-Gemis, possibilitou a automatização dos processos de análises de dados de microarranjo e RNA-Seq, visto que a ferramenta realiza todos os processos de: (i) aquisição de dados de expressão gênica coletados de pacientes com câncer gástrico, disponibilizados pelo TCGA e GEO, (ii) pré-processamento dos dados, (iii) aplicação de testes estatísticos, apropriados para cada conjunto de dados, (iv) visualização gráfica dos resultados. Dessa maneira, a busca de novos biomarcadores de diagnóstico e prognósticos no câncer gástrico ganha mais um instrumento de auxílio aos pesquisadores.

**Palavras-chave:** Câncer gástrico, Análise de expressão diferencial, Sobrevida, Biomarcador, TCGA, GEO.

# Avaliação do efeito antitumoral de uma Naftodiantrona e sua combinação a um inibidor seletivo de p38 MAPK em células de Hepatocarcinoma

Geovana Reichert Barin<sup>1</sup>, S. Laufer<sup>2</sup>, S. Rehfeldt<sup>1</sup>, M. I. Goettert<sup>1</sup>, T. Schneider<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Universidade de Tuebingen

**Resumo:** O câncer caracteriza-se pelo crescimento descontrolado de células, com propriedades de induzir angiogênese, ativar invasão, metástase, sinalização e resistir à morte celular. Segundo a Organização Mundial da Saúde, o hepatocarcinoma é classificado como a terceira neoplasia com maior taxa de mortalidade, visto que, normalmente, o paciente apresenta uma doença muito desenvolvida com uma sintomatologia curta. Até hoje, para o tratamento do carcinoma hepatocelular avançado, a terapia sistêmica utilizada é o Sorafenib. Porém, uma vez que o aumento de sobrevida, relacionado ao tratamento com Sorafenib, é limitado para alguns meses, os estudos avançam para o desenvolvimento de novas estratégias. A terapêutica do câncer baseia-se, de forma geral, na intervenção cirúrgica, no tratamento radioterápico e na quimioterapia; entretanto, os tratamentos apresentam uma série de efeitos colaterais. Em virtude disso, o século XX apresentou um grande avanço na pesquisa de moléculas bioativas para o emprego de novos medicamentos. Assim, objetivou-se investigar o potencial antitumoral de uma naftodiantrona que, em virtude dos seus efeitos fotossensíveis, demonstra resultados citotóxicos e pró-apoptóticos frente às células tumorais. Ainda, estudou-se a sua associação a um inibidor seletivo de p38 MAPK, com o propósito de potencializar esse efeito. As células utilizadas para a realização dos experimentos são linhagem de células de hepatocarcinoma (HepG2) e macrófagos RAW.264.7. A avaliação da viabilidade celular foi avaliada pelo método de MTT, após 24 e 72 horas, utilizando-se diferentes concentrações dos inibidores. Dessa maneira, foi determinada a concentração da naftodiantrona e do inibidor seletivo de p38 MAPK, que inibiu aproximadamente 50% da viabilidade celular. Após, foi realizada a associação da naftodiantrona e do inibidor seletivo de p38 MAPK e a avaliação da expressão das proteínas p38 MAPK, pp38 MAPK, caspases 3 e 8 e Bcl-2, cujos resultados parciais ainda estão em análise: a naftodiantrona e o inibidor seletivo de p38 MAPK apresentaram efeito significativo na redução da viabilidade de células HepG2, porém a associação dos dois não potencializou esse efeito. Assim, para resultados futuros, espera-se definir a via molecular pela qual a naftodiantrona e o inibidor seletivo de p38 MAPK diminuem a viabilidade celular nas células HepG2 e, ainda, avaliar a toxicidade da naftodiantrona e do inibidor seletivo de p38 MAPK em macrófagos RAW 264.7.

**Palavras-chave:** Câncer, Hepatocarcinoma, Naftodiantrona, MAPK.

# Análogos de Curcumina: inibição da proliferação celular em linhagem 5637 de carcinoma de bexiga

Lucas Damé Simões<sup>1</sup>, T. V. Collares<sup>1</sup>, F. K. Seixas<sup>1</sup>, C. M. P. Pereira<sup>1</sup>, J. D. F. Paschoal<sup>1</sup>, C. B. Bender<sup>1</sup>, B. S. Pacheco<sup>1</sup>, N. V. Segatto<sup>1</sup>, L. S. Damé<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas - UFPel

**Resumo:** O câncer de bexiga (CB) é um dos tipos mais comuns de neoplasia do trato urinário, com aproximadamente 430 mil casos em escala mundial. No âmbito do desenvolvimento de fármacos antitumorais, compostos sintéticos representam uma das principais opções no combate ao câncer e, por isso, tem sido muito estudados. A Curcumina é um composto extraído do Açafrão-da-terra com capacidade de atuar em várias doenças, inclusive no câncer. Porém, sua utilização é limitada devido à baixa solubilidade e biodisponibilidade. Assim, com o intuito de potencializar o uso da curcumina para fins terapêuticos, estudos vêm sendo realizados a fim de sintetizar moléculas tendo como base a sua estrutura química, denominados análogos de curcumina. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial de inibição do crescimento celular e indução de apoptose de três análogos de curcumina frente à linhagem celular de CB (5637) utilizando o ensaio DAPI, além de demonstrar a conformação da actina citoplasmática através do corante Texas Red. Foram semeadas  $2 \times 10^4$  células em placas de 96 poços cultivadas em condições ideais e após 24h, tratadas com a concentração de  $12.5 \mu\text{M}$  dos análogos de curcumina 1a, 1b e 1c por 48h. Por fim, as células foram coradas com DAPI e Texas Red, seguindo protocolo fornecido pelo fabricante. As fotos foram obtidas em microscópio confocal e posteriormente analisadas no software Cell<sup>^</sup>F. As análises estatísticas foram geradas no programa GraphPad Prism. Os resultados demonstram que os análogos 1b e 1c foram capazes de causar um aumento significativo na taxa de inibição celular e perturbar a organização do citoesqueleto. O número total de células presentes diminuiu em torno de 91% e 90% nas células tratadas com 1b e 1c, respectivamente, quando comparadas com grupo não tratado. Já o composto 1a não demonstrou diferença estatística no número total de células em relação ao controle. Em relação à porcentagem de células apoptóticas, foram obtidos  $57.9\% \pm 42.03$  e  $10,9 \pm 0.79\%$  de apoptose nas células tratadas com 1b e 1c, respectivamente, e apenas  $1,1\% \pm 0.49$  no controle, indicando uma potencial indução de apoptose de ambos compostos. Desta forma, podemos concluir que os análogos de curcumina 1b e 1c foram capazes de inibir a proliferação celular na linhagem 5637, além de demonstrar uma possível indução de apoptose, se mostrando assim compostos promissores na indução de morte de células de carcinoma de bexiga.

**Palavras-chave:** câncer, síntese orgânica, apoptose, microscopia confocal.

## Efeito antitumoral dos extratos brutos de Cianobactérias de sistema Hipersalino em células de Glioblastoma

Isabel Virgínia Gomes e Silva<sup>1</sup>, M.H.C.B. NEVES<sup>1</sup>, A.R. SOARES<sup>1,2</sup>, R.C. MAIA<sup>3</sup>, G.P.F. LOPES<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Marinha-Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira-Arraial do Cabo-RJ-Brasil

<sup>2</sup> Núcleo de Pesquisas Ecológicas de Macaé-Universidade Federal do Rio de Janeiro- Macaé-RJ-Brasil

<sup>3</sup> Coordenação de Pesquisa-Instituto Nacional de Câncer-Rio de Janeiro-RJ-Brasil

**Resumo:** Introdução: Glioblastoma é o tumor cerebral mais maligno do sistema nervoso central, tendo uma alta taxa de proliferação e crescimento invasivo, o que limita seu tratamento. As cianobactérias são reconhecidas por serem grandes produtoras de metabólitos secundários com características estruturais únicas, muitos deles com atividades biológicas conhecidas como antibacteriano, anti-inflamatório e antitumoral. Objetivos: Avaliar o efeito antitumoral dos extratos brutos de diferentes espécies de cianobactérias coletadas em ambiente hipersalino em células de glioblastoma humano. Metodologia: A coleta das cianobactérias *Oscillatorium* sp., *Phormidium* sp., *Lyngbya* sp. e *Aphanothece* sp. foi feita na Lagoa de Araruama e salineiras. O material coletado foi liofilizado e extraído 3 vezes por maceração estática em Acetato de Etila:Metanol 1:1, durante um período de 2h. Foi realizado ensaio de viabilidade celular por MTT com duas linhagens de glioblastoma humanos U251 e T98G. As células foram incubadas com os extratos brutos nas concentrações de 62,5µg/mL, 125µg/mL, 250µg/mL, 500µg/mL e 1000µg/mL mantidas por 72h em 5% de CO<sub>2</sub> a 37o C. A condição controle consistiu das células cultivadas com o veículo de diluição dos extratos (DMSO 0,5%). O cálculo do percentual de viabilidade foi realizado a partir da razão: [(A570nm das células tratadas/A570nm das células não tratadas) x 100]. Resultados Parciais: Em ordem de resposta na linhagem U251 os extratos brutos *Oscillatorium* sp. demonstrou IC<sub>50</sub>=51,91µg/mL, seguido da *Phormidium* sp. com IC<sub>50</sub>=197,5µg/mL e da *Lyngbya* sp. com IC<sub>50</sub>=299,2µg/mL. E na linhagem T98G os extratos brutos *Oscillatorium* sp. demonstrou IC<sub>50</sub>=124,9µg/mL, seguido da *Phormidium* sp. com IC<sub>50</sub>=261,8µg/mL. O extrato bruto da *Aphanothece* sp. não apresentou atividade citotóxica em nenhuma das linhagens estudadas. Considerações finais: Os resultados sugerem que os metabólitos secundários das cianobactérias *Oscillatorium* sp., *Phormidium* sp., e *Lyngbya* sp. de sistemas hipersalinos podem apresentar compostos bioativos com efeito antitumoral in vitro.

**Palavras-chave:** Cianobactérias, Sistema hipersalino, Glioblastoma, Antitumoral.

## Escore de risco genético de 21 variantes para doença arterial coronariana

Camile Wünsch<sup>1</sup>, V. Contini<sup>1</sup>, J. P. Genro<sup>2</sup>, M. E. Arndt<sup>3</sup>, P. R. V. Fallavena<sup>1</sup>, P. Girardi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA

<sup>3</sup>Hospital Bruno Born

**Resumo:** Introdução e objetivo: A doença arterial coronariana (DAC) é a principal causa de morbidade e mortalidade no mundo, sendo caracterizada como uma doença inflamatória, multifatorial e hereditária. Os estudos com genes candidatos e as abordagens genômicas ainda explicam pouco da herdabilidade da DAC e, mesmo os genes candidatos nem sempre aparecendo em estudos genômicos, eles são de extrema importância para entendimento de doenças complexas. Por isso, o objetivo do trabalho é estabelecer um escore de risco de 21 variantes genéticas (rs4986790, rs4986791 (TLR4), rs2569190 (CD14), rs1800629, rs361525 (TNF), rs28362491 (NFKB1), rs1800896, rs1800871, rs1800872 (IL10), rs2069845 (IL6), rs2228145 (IL6R), rs1333049, rs10757274, rs10757278 (9p21), rs1799722 (BDKRB2), ins/del (ECA), rs699 (AGT), rs1799983, rs2070744, (NOS3), rs7903146 e rs12255372 (TCF7L2)) para a DAC. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade do Vale do Taquari (CAAE: 01464812.0.0000.5310). Materiais e métodos: Foram incluídos na amostra 715 indivíduos adultos que foram submetidos a angiografia coronária e classificados em casos ou controles por um cardiologista, com base nos seguintes critérios: presença de estenose, maior que 50% do diâmetro luminal, em pelo menos uma das artérias coronárias. A extração de DNA foi realizada pelo método de salting out. Os polimorfismos nos genes foram avaliados por Ensaios de Discriminação Alélica Taqman, com exceção das variantes rs28362491 (NFKB1) e ins/del (ECA) que foram genotipadas por PCR-RFLP. O escore de risco foi calculado cuja direção dos efeitos do alelo, bem como o tamanho dos efeitos foram obtidos baseado em estatísticas de meta-análises de GWAS, onde o número de alelos de risco em todos os loci incluídos neste estudo foi adicionado de forma aditiva. Desta forma, cada escore individual pode variar de 0 alelo de risco a 42 alelos de risco para os 21 loci estudados. Resultados e conclusão: Nenhum SNP foi significativamente associado à DAC em análises de marcadores únicos. O escore de risco não foi associado à DAC e, mesmo o quintil mais alto (com mais de 19 alelos de risco) não apresentou efeitos significativos. Em conjunto, nossos resultados sugerem que os polimorfismos estudados e o escore de risco para os mesmos não influenciam a DAC em indivíduos brasileiros. Portanto, é razoável supor que essas variantes sejam relevantes apenas em alguns subgrupos específicos de pacientes com DAC ou em alguma população específica.

**Palavras-chave:** DAC, Escore de risco, aterosclerose.

## Atividade antifúngica de extratos de espécies nativas da família Myrtaceae frente a isolados clínicos dermatológicos

Alexandre Schardong Coelho<sup>1</sup>, D. Heidrich<sup>2</sup>, L. Hoehne<sup>2</sup>, E. M. de Freitas<sup>2</sup>, E. M. Ethur<sup>2</sup>, T. Scheibel<sup>2</sup>, F. Fensterseifer<sup>2</sup>, S. S. da Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Escola Estadual de Educação Básica Érico Veríssimo

<sup>2</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** Estima-se que 25% da população mundial apresentem micoses cutâneas, que são infecções fúngicas que afetam pele, unha e cabelo. Dermatofitoses representam cerca de 60% das micoses cutâneas e o principal fungo envolvido é *Trichophyton* spp. *Fusarium* é o principal gênero associado a micoses cutâneas causadas por fungos filamentosos não dermatófitos. Já esporotricose, causada por espécies do complexo *Sporothrix schenckii*, e cromoblastomicose, causada principalmente por *Fonsecaea pedrosoi*, são as micoses subcutâneas mais prevalentes no Brasil. Devido à prevalência, aos altos custos de tratamento e exames para controles hepáticos, às interações medicamentosas e à resistência aos antifúngicos conhecidos, a busca por novos tratamentos eficazes e com maior custo-benefício deve ser estimulada. Assim, a utilização de plantas como fonte de novos antimicrobianos tem sido abordada. No entanto, a literatura não cita a avaliação do potencial antifúngico de várias espécies nativas da família Myrtaceae (*Eugenia*, *Campomanesia* e *Psidium*). O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial antifúngico de extratos aquosos de *Eugenia arenosa*, *Eugenia pitanga*, *Campomanesia guazumifolia* e *Psidium salutare* var. *sericeum* frente a isolados clínicos de *Trichophyton interdigitale*, *Fusarium oxysporum*, *S. schenckii* sensu stricto e *F. pedrosoi*. Para isso, as folhas secas de *C. guazumifolia* foram coletadas em Lajeado e das demais plantas foram coletadas no município de Alegrete, Rio Grande do Sul, e submetidas à infusão aquosa por uma hora, filtração e evaporação. Foi avaliado um isolado clínico de cada fungo, em duplicata, previamente identificados por sequenciamento do DNA. Para análise do potencial antifúngico, a metodologia de microdiluição em caldo foi realizada conforme o protocolo M38-A2 do Clinical & Laboratory Standards Institute, determinando como concentração inibitória mínima (CIM), a menor concentração que inibiu 100% do crescimento fúngico. Controle de viabilidade celular de cada isolado e controle com itraconazol foram realizados e obtiveram os resultados esperados. Para *F. oxysporum*, a CIM de todos os extratos foi 4 mg/mL. Para *F. pedrosoi*, as CIMs dos extratos variaram entre 2 e 4 mg/mL. Já para *T. interdigitale* e *S. schenckii*, os extratos obtiveram CIM inferior a 0,25 mg/mL. Assim, os extratos brutos aquosos foram ativos contra os fungos avaliados, principalmente contra o representante dermatófito e o causador de esporotricose, evidenciando seu potencial como antifúngico.

**Palavras-chave:** *Eugenia*, *Campomanesia*, *Psidium*, Micoses.

## Effects of p38/MAPK inhibitors on glioma cells proliferation

Nathália Grave<sup>1</sup>, F. B. Morrone<sup>1-5</sup>, S. Laufer<sup>5</sup>, M. A. Kunde<sup>6</sup>, F. Olicheski<sup>1</sup>, A. H. B. L. Tort<sup>3</sup>, A. R. Cappellari<sup>2</sup>, L. Rockenbach<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, PUCRS, Porto Alegre/RS - Brasil

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, PUCRS, Porto Alegre/RS - Brasil

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Biotecnologia Farmacêutica, PUCRS, Porto Alegre/RS - Brasil

<sup>4</sup>Escola de Ciências da Saúde, PUCRS, Porto Alegre/RS - Brasil

<sup>5</sup>Department of Pharmacy, Eberhard Karls, Tubingen University, Germany

<sup>6</sup>Escola de Medicina PUCRS, Porto Alegre/RS - Brasil

**Resumo:** Background: Gliomas are malignant brain tumors characterized by high proliferation, invasiveness and high morbidity. Patients affected by this tumor present median survival time of approximately 15 months after the diagnosis. Despite the development and improvement of therapeutic strategies, gliomas are extremely resistant to the treatments used, which include surgical resection followed by chemotherapy with temozolomide (TMZ) combined or not with radiotherapy. Tumors result from a sum of mutations that culminate in an impairment of intracellular signaling pathways, among them, p38/MAPK pathway is responsible to control cell proliferation and tumorigenesis. Objectives: The aim of this study was to investigate the effects p38/MAPK inhibitors (ML3403 and skepinone), used alone or associated with TMZ, anti-VEGF bevacizumab (BVZ) and radiotherapy (RT) on glioma cells proliferation. Methods: Human glioma cell lines U138, U251 (radioresistant cells) were maintained in DMEM, and the LS12 patient derived cells were maintained in DMEM F12 medium, both supplemented with 10% fetal bovine serum under optimal growing conditions. Cells were treated with ML3403 (10 to 200  $\mu$ M), skepinone (10-200  $\mu$ M), TMZ (10  $\mu$ M), BVZ (1 to 200  $\mu$ M) or RT (2 Gy). Cell viability was accessed by MTT, and cell cycle and cell death by flow cytometry. Results: The results showed that ML3403 was able to reduce significantly U138 and U251 cell viability at 200 $\mu$ M. The combination with ML3403 plus BVZ or TMZ did not reduced U138 and U251 cell viability at 24h. Interestingly, ML3403 promoted a sensitization of the radioresistant cells when treated in combination with RT. Treatment with ML3403 plus RT altered cell cycle and increasing apoptosis in U138 and U251 lineages at 24h. Preliminary results showed that treatment with the ML3403 or skepinone were not able to inhibit LS12 cells viability. Taken together, our results demonstrate that the inhibition of p38 could promote sensitization of glioma cells to radiotherapy favoring cell death. Conclusion: In conclusion, the modulation of p38 pathway can become an important target of treatment to patients with glioma.

**Palavras-chave:** Glioma, p38, radiotherapy.

## EPSP sintase como um alvo alternativo para o desenvolvimento de fármacos para a hanseníase

Letícia Maria Possamai<sup>1</sup>, R. G. Ducati<sup>1</sup>, M. Chruszcz<sup>2</sup>, L. F. S. M. Timmers<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Universidade da Carolina do Sul - UofSC

**Resumo:** A hanseníase é uma patologia crônica, infectocontagiosa de evolução lenta, cujo agente etiológico é o *Mycobacterium leprae*. Considerado um parasita intracelular obrigatório, apresenta-se em forma de um bacilo reto ou levemente encurvado, com extremidades arredondadas. Esta doença se manifesta por sinais e sintomas dermatoneurológico, lesões na pele e nos nervos periféricos, podendo levar a incapacidade física. O diagnóstico de hanseníase é clínico e epidemiológico. O tratamento é através da poliquimioterapia, utilizando rifampicina, clofazimina e dapsona, durante 9 meses. Segundo a Organização Mundial da Saúde, em 2016, 143 países advertiram 214.783 casos novos de hanseníase, significando uma taxa de detecção de 2,9 casos por 100 mil habitantes. No Brasil, no mesmo ano, foram relatados 25.218 casos novos, findando uma taxa de detecção de 12,2/100 mil hab. Esses parâmetros consideram o país como de alta carga para a doença, sendo o segundo com o maior número de casos novos registrados no mundo. Diante disso, pesquisas para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o tratamento da hanseníase são de extrema relevância. A enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato (EPSP) sintase faz parte da via do ácido chiquímico, catalisando a sexta reação. Esta via está ausente em mamíferos e é essencial para bactérias, fungos, tornando-se uma rota interessante para o desenvolvimento de novos inibidores. Neste trabalho, foram utilizadas diferentes técnicas computacionais para predizer a estrutura tridimensional da enzima EPSP sintase de *M. leprae* (MIEPSP). Para a modelagem molecular comparativa, a sequência de aminoácidos da enzima alvo foi obtida no UniProtKB e submetida aos servidores online SwissModel, I-TASSER e ModBase. As análises dos resíduos de aminoácidos que compõem o sítio ativo da EPSP sintase foram realizadas com o programa LigPlot. A partir dos resultados da modelagem molecular comparativa, observamos que a enzima MIEPSP apresenta-se como um monômero composto por 430 resíduos de aminoácidos, os quais estão organizados numa estrutura bilobal com o sítio ativo localizado na interface entre os dois lobos. Como resultados preliminares, observamos que a modelagem comparativa é uma técnica viável para a predição da estrutura da EPSP sintase de *M. leprae*. Como perspectiva, iremos realizar a busca por pequenas moléculas, por meio de docking molecular.

**Palavras-chave:** Hanseníase; *Mycobacterium leprae*; 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato; Modelagem molecular; Bioinformática.

## JAK and p38 MAPK inhibitors regulate hepatocellular carcinoma viability and proliferation

Taiane Schneider<sup>1</sup>, M.I. Goettert<sup>1</sup>, S. Laufer<sup>2</sup>, S. Rehfeldt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Eberhard-Karls-Universität Tübingen

**Resumo:** One of the most frequent human cancer and one of the leading causes of cancer mortality worldwide is the Hepatocellular carcinoma (HCC). The development of this cancer is usually associated with patients with previous liver damage, such as chronic hepatitis B and C, hereditary disorders, chronic alcohol consumption, certain metabolic disorders, all cirrhosis-inducing conditions and mutations in one or more genes. TGF $\beta$ R (transforming growth factor beta), RAS/RAF/MAP kinase, and JAK/STAT pathways are among the most altered pathways in HCC. Targeting one of these pathways or identifying a new one may provide alternative therapeutic targets for the HCC. The JAK and p38 MAPK proteins control a wide range of cellular responses, such as proliferation, survival, differentiation and migration. TNF- $\alpha$  and IL-6 are important proinflammatory cytokines involved in angiogenesis and in chronic hepatic inflammation. The use of inhibitors acting on this signal transduction pathway has provided critical information for a better understanding of molecular mechanisms and developing new therapeutics of HCC. Due to their essential roles in these cellular functions, JAK and p38 can contribute to HCC development. Three kinases inhibitors, sorafenib, regorafenib and cabozantinib, have been approved to treat patients with HCC, nevertheless, there aren't effective treatment. In this respect, the aim of the study was to investigate the potential of new p38 MAPK and JAK inhibitors and the possible mechanisms in hepatocellular carcinoma cells. Cell proliferation were assessed by the MTT assay. Clonogenic assays were used to analyze the colony-formation and the protein expression were analyzed by western blot. Human blood was incubated with 1  $\mu$ M of indicated compounds and cytokines levels were quantified by a Multi-Analyte ELISArray Kit. We showed a strong reduction on the cell viability of HepG2 cells treated with p38 MAPK and JAK inhibitors. Hepatocarcinoma cells showed a decreased ability to form colonies compared to the cells without treatment. The inhibitors do not induced cytotoxicity in mouse macrophages cells. Nevertheless, the inhibitors reduced the IL-6 and TNF- $\alpha$  in human blood. These results indicate a promising use in HCC treatment, while more research needs to be carried out to confirm the hypothesis.

**Palavras-chave:** hepatocellular carcinoma, MAPK, JAK pathway, inhibitors.

## Expressão do gene IDH2 em cultura de células KASUMI-1 tratadas com quimioterápicos clássicos e o agente desmetilante decitabina

Laura Reckziegel<sup>1</sup>, A. L. Abujamra<sup>1</sup>, J. Alves<sup>1</sup>, G. M. Dexheimer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** Introdução: O gene IDH2 (Isocitrato desidrogenase 2) é considerado um regulador epigenético e apresenta mutações e alterações em seu padrão de expressão identificadas em diferentes tipos de neoplasias. A linhagem celular KASUMI-1 deriva de uma cultura primária de um indivíduo portador de leucemia mieloide aguda (LMA), patologia caracterizada pela proliferação descontrolada de mieloblastos. A mutação do gene IDH2 já foi identificada em pacientes portadores de LMA e a inibição do gene mutado pode trazer resultados promissores à remissão da doença. A investigação e avaliação da epigenética são importantes para a descoberta de terapias eficazes e seletivas que possam ser utilizadas como marcadores na estratificação de risco dos pacientes, de prognóstico e de resposta ao tratamento. Além disso, é de relevância a identificação da relação das alterações epigenéticas com agentes desmetilantes, como a decitabina, visando diminuir as toxicidades e efeitos causados pelos tratamentos. Objetivo: O estudo teve como objetivo avaliar a expressão gênica do gene IDH2 em cultura de células KASUMI-1 tratadas com quimioterápicos clássicos e o agente desmetilante decitabina. Metodologia: As células KASUMI-1 foram plaqueadas e tratadas com diferentes concentrações de quimioterápicos clássicos. Após 24 e 48 horas de tratamento, foi realizada a contagem celular para obtenção do índice de crescimento e toxicidade celular. Foi realizada extração de RNA total e síntese de cDNA, a partir de 100ng de RNA com o kit SuperScript™ First-StrandSynthesis System for qPCR (Thermo Fisher). A expressão gênica foi avaliada por PCR em tempo real, executada em 45 ciclos e volume final de 20uL. Resultados: A expressão gênica do IDH2 na linhagem KASUMI-1 foi significativamente elevada ( $p < 0.0001$ ) no tratamento com quimioterápicos clássicos associados com a decitabina em comparação ao quimioterápico isolado, exceto para o tratamento com citarabina. Com relação a contagem celular em até 48 horas, não houve diferença significativa entre a associação com decitabina e os quimioterápicos isolados, sugerindo que alterações na expressão gênica não correlacionam com o comportamento dessas células. Conclusão: Tais resultados sugerem que a associação de quimioterápicos clássicos com decitabina em baixas doses pode ser benéfica, permitindo a modulação de genes importantes para o processo de leucemogênese, e que esta modulação pode ser considerável na investigação de novos biomarcadores.

**Palavras-chave:** IDH2, expressão gênica, biomarcadores.

## Citocinas inflamatórias liberadas por macrófagos tratados com um inibidor de JAK3

Beatriz Fabris Bettanin<sup>1</sup>, Cláudia Monfroni Rocha<sup>1</sup>, Stefan Laufer<sup>2</sup>, Alessandro Menna Alves<sup>1</sup>, Márcia Inês Goettert<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Eberhard-Karls-Universität Tübingen

**Resumo:** A via de sinalização JAK (Janus associated kinases) possui dentro de sua família quatro quinases de tirosina: JAK1, JAK2, JAK3 e tirosina quinase 2 (TYK2). A JAK3 está associada a diversas patologias inflamatórias e autoimunes, sendo uma delas a Artrite Reumatoide, a qual possui um processo patológico relacionado a ativação anormal do sistema imunológico, a qual leva a destruição das articulações do corpo. Com o aumento do número de pessoas afetadas, foram realizados vários avanços em conhecimentos dos mecanismos fisiopatológicos da doença, para o desenvolvimento de novos fármacos. Os medicamentos já existentes ainda são agressivos para o indivíduo a longo prazo, apresentando efeitos colaterais importantes. Recentemente, os inibidores das JAKs, tem se destacado como estratégia terapêutica direcionada ao tratamento de diversas disfunções. Um dos exemplos utilizados no tratamento da AR é o tofacitinibe, uma droga relativamente nova com seletividade para JAK e é usado quando ocorre uma falha terapêutica nas drogas que modificam o curso da doença, como o anti-TNF. Apesar de sua seletividade, também possui efeitos indesejados para longos períodos. Sendo assim, há a necessidade de desenvolvimento de fármacos capazes de modificar o curso da doença e que apresentem efeitos colaterais mais brandos ou inexistentes. Baseado nisso, o objetivo deste estudo é investigar o potencial inibitório frente de citocinas inflamatórias liberadas por linhagem de macrófagos RAW 264.7, estimulados com LPS, quando submetidas ao tratamento com um inibidor seletivo de JAK3. Para avaliar a viabilidade celular, e obter a melhor dose para inibição da produção de citocinas foi utilizada o método de MTT. A detecção da variação de citocinas liberadas foi avaliado por meio de ELISA e a expressão proteica através do Western Blotting. Os resultados obtidos até o momento, pelo ensaio de citotoxicidade, mostram que as concentrações de 1 e 0,1  $\mu\text{M}$  do composto não interferem a viabilidade celular, independente da presença ou ausência de LPS. O inibidor diminuía a produção de TNF- $\alpha$  em macrófagos estimulados com LPS. Como resultado, espera-se elucidar parte do mecanismo molecular envolvido liberação de citocinas pró-inflamatórias aumentadas em processos crônicos como a AR.

**Palavras-chave:** Inflamação, artrite reumatoide, JAK.

## Avaliação da atividade antibiofilme do extrato aquoso de *Eugenia anomala* contra *Listeria monocytogenes*

Bárbara Buhl<sup>1</sup>, E. M. Ethur<sup>1</sup>, C. Kauffmann<sup>1</sup>, L. Capra<sup>1</sup>, T. Scheibel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** *Listeria monocytogenes* é o patógeno causador de listeriose humana e animal, possui grande relevância tanto na saúde pública quanto na indústria de alimentos, pois apresenta altas taxas de mortalidade e é frequentemente encontrado nos alimentos. Esse microrganismo possui diversas características que o favorecem como patógeno alimentar, como por exemplo, a formação de biofilme. Com o aumento da resistência dos microrganismos frente aos antimicrobianos já utilizados, a busca por novos produtos para tratamento de infecções tornou-se de grande importância, na qual os produtos naturais podem ser fontes de agentes terapêuticos inovadores. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibiofilme do extrato aquoso de *Eugenia anomala* contra *L. monocytogenes*. Os extratos aquosos foram obtidos a partir de uma infusão de folhas na proporção 1:10 (droga:solvente). Após o extrato foi seco em rota evaporador sob vácuo e a uma temperatura de 40° C, a amostra foi armazenada em frasco âmbar sob refrigeração. O biofilme foi avaliado utilizando placas de 96 poços, conforme metodologia de Trentin et al. A amostra foi utilizada nas concentrações de 4 mg/mL e 0,4 mg/mL. Quanto aos resultados, o extrato de *E. anomala* na concentração de 4 mg/mL inibiu a formação de biofilme em 89,67%. Já na concentração de 0,4 mg/mL a inibição foi de 68,72%. O extrato aquoso de *E. anomala* apresentou uma boa atividade antibiofilme in vitro, e a partir destes dados iniciais podemos propor experimentos visando o desenvolvimento de um produto com ação bactericida contra *L. monocytogenes*.

**Palavras-chave:** *Listeria monocytogenes*; *Eugenia*; biofilme.

# Genetic resistance to purine nucleoside phosphorylase inhibition in *Plasmodium falciparum*

R. G. Ducati<sup>1</sup>, V. L. Schramm<sup>2</sup>, J. P. Daily<sup>2</sup>, A. Fiser<sup>2</sup>, J. E. Fajardo<sup>2</sup>, R. K. Harijan<sup>2</sup>, H. A. Namanja-Magliano<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY, USA

**Resumo:** *Plasmodium falciparum* causes the most lethal form of human malaria and is a global health concern. The parasite responds to antimalarial therapies by developing drug resistance. The continuous development of new antimalarials with novel mechanisms of action is a priority for drug combination therapies. The use of transition-state analog inhibitors to block essential steps in purine salvage has been proposed as a new antimalarial approach. Mutations that reduce transition-state analog binding are also expected to reduce the essential catalytic function of the target. We have previously reported that inhibition of host and *P. falciparum* purine nucleoside phosphorylase (PfPNP) by DADMe-Immucillin-G (DADMe-ImmG) causes purine starvation and parasite death in vitro and in primate infection models. *P. falciparum* cultured under incremental DADMe-ImmG drug pressure initially exhibited increased PfPNP gene copy number and protein expression. At increased drug pressure, additional PfPNP gene copies appeared with point mutations at catalytic site residues involved in drug binding. Mutant PfPNPs from resistant clones demonstrated reduced affinity for DADMe-ImmG, but also reduced catalytic efficiency. The catalytic defects were partially overcome by gene amplification in the region expressing PfPNP. Crystal structures of native and mutated PfPNPs demonstrate altered catalytic site contacts to DADMe-ImmG. Both point mutations and gene amplification are required to overcome purine starvation induced by DADMe-ImmG. Resistance developed slowly, over 136 generations. Transition-state analog inhibitors against PfPNP are slow to induce resistance and may have promise in malaria therapy.

**Palavras-chave:** malaria, drug resistance, genetic resistance mechanisms, gene amplification, gene mutation.

## Potencial biotecnológico de produtos naturais: associação de prebiótico com probiótico analisados em modelos experimentais in vitro

Mônica Cerutti Martellet<sup>1</sup>, M. I. Goettert<sup>1</sup>, C. F. Volken de Souza<sup>1</sup>, G. Mezzomo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** As doenças que acometem o trato gastrointestinal compreendem um conjunto de patologias caracterizadas pelo desequilíbrio das funções fisiológicas, as quais podem comprometer o sistema imunológico e desencadear processos inflamatórios no microambiente entérico. O microbioma compreende o principal componente da barreira intestinal, desempenhando papel importante na homeostase e no amadurecimento das células de defesa. Entre as condutas terapêuticas que vem sendo introduzidas como prevenção e/ou tratamento de distúrbios gastrointestinais destacam-se a utilização de microrganismos probióticos e uso de substâncias prebióticas. Porém, alguns fatores são limitantes para a eficácia destes produtos, como as condições da via de administração oral e o número de microrganismos aderidos na mucosa intestinal. Visto isso, o trabalho objetiva desenvolver um produto biotecnológico na forma farmacêutica de microcápsulas probióticas. Para a sua realização, serão utilizadas leveduras com potencial probiótico encapsuladas com biopolímero natural, oriundo da indústria de laticínios do Vale do Taquari, e um prebiótico de uso comercial. O revestimento em microcápsulas será feito em um encapsulador empregando o processo de extrusão com tecnologia de vibração. A validação deste método e a viabilidade celular serão comprovadas pelo teste de eficiência de encapsulação e análise de simulação de trato gastrointestinal in vitro. A morfologia das microcápsulas será visualizada pela técnica de microscopia eletrônica de varredura. A efetividade probiótica será certificada pela metodologia de adesão celular em células de adenocarcinoma de cólon humano (Caco-2). Foram delineadas diferentes formulações piloto no equipamento Encapsulador B-395 Pro® a fim de ajustar as melhores condições para o produto final e obter eficiência de encapsulação satisfatória. Como resultados parciais, foi desenvolvida uma formulação com o microrganismo revestido por material sustentável associado a um fitoterápico com efetividade prebiótica, formando as microcápsulas. As leveduras, na sua forma livre e também em microcápsulas, mantiveram a viabilidade conforme preconizado pelos órgãos vigentes.

**Palavras-chave:** Microencapsulamento, prebiótico, probiótico.

## Investigação do consumo alimentar, parâmetros antropométricos e bioquímicos de adultos: implicações para a nutrigenética

Mayara Machado Gonçalves<sup>1</sup>, J. P. Genro<sup>2</sup>, C. Wünsch<sup>1</sup>, F. Dresch<sup>1</sup>, L. Capra<sup>1</sup>, M. Conte<sup>1</sup>, V. Contini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA

**Resumo:** Diversas evidências demonstram que a alimentação está diretamente relacionada a etiologia de várias doenças multifatoriais de origem metabólica, como obesidade, diabetes tipo II, doenças cardiovasculares e dislipidemias. Objetivo: O objetivo deste estudo é avaliar as associações entre o consumo alimentar de macronutrientes e os parâmetros antropométricos e bioquímicos de indivíduos adultos participantes do projeto de pesquisa “Aspectos nutrigenéticos de marcadores bioquímicos, antropométricos e comportamentais: implicações para as doenças multifatoriais”, que está em andamento na Universidade do Vale do Taquari - Univates. Metodologia: A amostra será constituída por adultos recrutados entre a comunidade acadêmica da Univates, desde 2012 até o presente momento. Todos os indivíduos incluídos no estudo assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (COEP/UNIVATES: 2.502.199). Os participantes foram investigados quanto a dados demográficos, hábitos de vida, prática de atividade física e história clínica. Também realizaram uma anamnese nutricional, avaliação de medidas antropométricas, aferição da pressão arterial e coleta de sangue, para análises bioquímicas e moleculares. O consumo alimentar dos participantes foi avaliado a partir dos dados do inquérito alimentar R24h. Foram calculados o percentual de gordura e o índice de massa corporal (IMC) de todos os participantes. As dosagens bioquímicas de colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol), triglicerídeos e glicose foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas da Univates, na automação de bioquímica BS-120 da Mindray®, utilizando kits comerciais da marca BioClin®. O controle de qualidade das análises foi realizado utilizando controles comerciais normais e patológicos da mesma marca. O valor dos níveis séricos da lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol) foi calculado através da Equação de Friedewald (1972). Resultados: Foram analisados, até o momento, dados de 601 participantes, com média de idade de 25,4 anos, sendo 74,2% destes do sexo feminino. O IMC médio foi de 24,3 kg/m<sup>2</sup>. A glicemia média foi de 87,1 mg/dL, o colesterol total foi 173,9 mg/dL, o HDL foi 60,9 mg/dL e os triglicerídeos foi de 99,2 mg/dL. O consumo alimentar dos macronutrientes está sendo calculado. As análises investigando as associações entre o consumo alimentar e os parâmetros antropométricos e bioquímicos investigados serão realizadas posteriormente.

**Palavras-chave:** : nutrição, antropometria, bioquímica, nutrigenética.

# Avaliação da atividade antibiofilme e antimicrobiana do óleo essencial de frutos de *Schinus terebinthifolius* frente a *Listeria monocytogenes*

Gabriela Kuhn<sup>1</sup>, A. C. Weber<sup>1</sup>, B. Buhl<sup>1</sup>, E. M. Ethur<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** *Schinus terebinthifolius*, conhecida como aroeira-vermelha ou pimenta-rosa, é uma espécie originária da América do Sul, pertencendo a família Anacardiaceae. O farmacógeno da espécie é encontrado nas cascas secas do caule, mas as folhas e frutos também são muito utilizados na medicina popular, como cicatrizantes, anti-inflamatórios e antifúngicos. Além disto, é muito utilizada em alimentos como uma variedade de pimenta do reino. Os óleos essenciais desempenham importantes funções para a planta, como proteção contra predadores, atração de polinizadores e na proteção contra a perda de água. *Listeria monocytogenes* é uma bactéria Gram-positiva que causa doença de origem alimentar, a listeriose. Esta bactéria pode ser transmitida através da ingestão de alimentos contaminados, como produtos lácteos, embutidos e frutos do mar, podendo causar encefalite, septicemias, meningites e abortos. Muitas das infecções bacterianas estão diretamente relacionadas com a formação e fixação de biofilme no hospedeiro, dificultando a terapêutica. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibiofilme e antibacteriana do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* frente a *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644). O óleo essencial foi extraído através do método de hidrodestilação, com o aparelho Clevenger modificado, por 2 horas. Após foi removido por gravidade e purificado com sulfato de sódio anidro. O rendimento do óleo foi de 3,56%. Para a avaliação das atividades biológicas foram utilizadas placas de 96 poços, na qual para a atividade antibiofilme a amostra foi testada nas concentrações de 0,4 e 4,0 mg/mL e para a avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi utilizada as concentrações de 0,039 a 20 mg/mL. Como resultado foi observado a inibição da formação de biofilme em 44,07% na concentração de 0,4 mg/mL, e de 79,47% na concentração de 4,0 mg/mL, e para CIM, obteve-se o resultado de uma concentração de >20 mg/mL para a inibição. Sendo assim, o óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* apresentou uma atividade melhor nas bactérias sésseis do que em bactérias planctônicas.

**Palavras-chave:** Pimenta-rosa, Concentração Inibitória Mínima, Doenças alimentares, Óleo essencial.

# Polimorfismos dos genes LEP e LEPR e sua relação com parâmetros antropométricos, bioquímicos e consumo de carboidratos em adultos

Mônica Wlach<sup>1</sup>, V. Contini<sup>1</sup>, F. Dresch<sup>1</sup>, C. Wunsch<sup>1</sup>, L. Capra<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** Introdução: A prevalência mundial da obesidade vem crescendo drasticamente, mostrando-se como uma grave ameaça à saúde humana e um grande problema para a saúde pública atual. A obesidade é uma doença multifatorial, e vários estudos encontraram associações de polimorfismos nos genes da leptina (LEP) e do receptor da leptina (LEPR) com a obesidade, já que a ação deste hormônio está relacionada com o balanço energético por meio da regulação do apetite e aumento do gasto de energia. Entretanto, os resultados ainda são contraditórios em relação aos alelos de risco, tornando importante desenvolver novas pesquisas para esclarecer o papel destes polimorfismos na doença. Objetivo: O objetivo deste estudo é verificar a associação de polimorfismos nos genes LEP (rs7799039) e LEPR (rs1137101) com parâmetros antropométricos, bioquímicos e com o consumo de carboidratos em adultos. Serão incluídos na pesquisa 835 indivíduos de ambos os sexos, maiores de 18 anos, que possuem algum vínculo com a Univates. Metodologia: Os participantes serão investigados por meio de uma anamnese clínica, que inclui dados demográficos, história clínica, recordatório alimentar de 24 horas e antropometria. Para a análise do perfil lipídico e glicose em jejum será coletada uma amostra de sangue periférico, que também será utilizada para a extração de DNA. A avaliação bioquímica será realizada no Laboratório de Análises Clínicas, do Centro Clínico da Univates, na automação de bioquímica BS-120 da Mindray®, utilizando kits comerciais da marca BioClin®. A extração de DNA será feita pelo Método de Salting-Out e os polimorfismos estudados serão genotipados pelo sistema de discriminação alélica TaqMan (Applied Biosystems). Todos os indivíduos incluídos no estudo irão assinar um termo de consentimento livre e esclarecido (COEP/UNIVATES: 2.502.199). As análises estatísticas serão realizadas no software SPSS, v25. Resultados: Até o momento, foram analisados os dados de 378 mulheres. As frequências alélicas observadas foram 0,57 (A) e 0,43 (G) para o rs1137101 e 0,58 (G) e 0,42 (A) para o rs7799039. Não foram encontradas associações significativas entre os polimorfismos investigados com o perfil lipídico, glicose em jejum e consumo de carboidratos. Ressalta-se que esses resultados são parciais, e podem ser consequência de uma amostra pequena e limitada. Conclusões mais robustas poderão ser feitas quando todos os participantes do estudo forem incluídos nas análises.

**Palavras-chave:** Polimorfismo, Leptina, Obesidade.

## Relação entre componentes sanguíneos em pacientes diagnosticados com doenças onco-hematológicas

Ana Carolina Dors<sup>1</sup>, G. M. Dexheimer<sup>1</sup>, V. Biolchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** Levantamentos epidemiológicos apontam significativas taxas de doenças onco-hematológicas, sendo as populações idosas e masculinas as principais acometidas. Estudos indicam que as leucemias, linfoma de Hodgkin e linfoma não Hodgkin, encontram-se entre as principais malignidades hematológicas incidentes no Brasil. Com isto, eventos como o prognóstico dos pacientes e o aparecimento de efeitos adversos vêm sendo analisados com o intuito de elaborar novos mecanismos de monitoramento clínico. Dentre estes, encontra-se a análise das relações entre os componentes sanguíneos, como Plaquetas/Linfócitos, Neutrófilos/Linfócitos e Linfócitos/Monócitos. Assim, a presente pesquisa objetivou avaliar as relações entre os componentes sanguíneos com o prognóstico de pacientes diagnosticados com doenças onco-hematológicas. A referida pesquisa, aprovada sob o parecer número 1.619.803 do Comitê de Ética em Pesquisa, foi realizada de forma retrospectiva e analisou evoluções médicas de pacientes onco-hematológicos, submetidos a tratamento, no período de junho de 2016 a novembro de 2018. Os dados foram obtidos através da análise de hemogramas fornecidos pelo sistema Tasy do hospital pesquisado. Os valores das presentes relações, assim como gênero, tipo de malignidade sanguínea, tratamento, toxicidades e desfecho clínico foram analisados estatisticamente através do software Statistical Package for the Social Sciences e avaliados pela curva Receiver Operating Characteristic e pelo teste de Qui-quadrado. Tratando-se do desfecho clínico, não se evidenciou diferença significativa das relações celulares sanguíneas vinculadas ao óbito, remissão da doença e doença ativa. Para as toxicidades, encontrou-se resultado significativo ( $p=0,048$ ) para a relação Neutrófilos/Linfócitos, de pacientes sem efeitos tóxicos em comparação àqueles que apresentaram grau 4 de toxicidade. Estabeleceu-se um ponto de corte de 1,68, sendo que os pacientes que apresentaram relação Neutrófilos/Linfócitos abaixo deste valor demonstraram risco de 9,7 vezes (2,3 - 41,7) de desenvolverem toxicidade grau 4 ( $p=0,001$ ), de acordo com o teste de Qui-quadrado. Por se tratar de amostras disponibilizadas em hemogramas, a análise das relações citadas se apresenta como um teste barato, simples e seguro, além de apresentar significativo custo-benefício, tanto para o acompanhamento do prognóstico dos pacientes, quanto para a monitoração evolutiva da doença e do tratamento utilizado.

**Palavras-chave:** Sistema imunológico, processo inflamatório, desfecho clínico, toxicidade, câncer.

# Perfil filogenético e epidemiologia molecular de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* entre a população privada de liberdade do Rio Grande do Sul

Djulia Rafaella Kist<sup>1</sup>, L. G. Possuelo<sup>1</sup>, A. V. Groll<sup>2</sup>, I. B. Ramis<sup>2</sup>, C. Busatto<sup>2</sup>, D. C. Fanfa<sup>1</sup>, E. L. Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Santa Cruz do Sul - Unisc

<sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande - FURG

**Resumo:** A Organização Mundial da Saúde estima que um terço da população mundial esteja infectada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, na forma latente ou ativa. Ambientes superlotados, com pouca iluminação e mal ventilados, como os presídios, tornam-se lugares ainda mais propensos a transmissão do *M. tuberculosis*. Na população privada de liberdade (PPL) a incidência de tuberculose (TB) é 30 vezes maior quando comparada a população geral. O objetivo deste estudo foi avaliar a epidemiologia molecular e determinar o perfil filogenético de cepas de *M. tuberculosis* circulantes em unidades do sistema prisional do Rio Grande do Sul. Um total de 237 cepas foram obtidas a partir dos bancos do Laboratório Central do Rio Grande do Sul (LACEN) e do Laboratório de Micobactérias da Universidade Federal do Rio Grande. Para a realização da genotipagem as cepas foram repicadas em meio de cultura sólida Ogawa-Kudoh, e após o crescimento, submetidas a extração do DNA pelo método CTAB/NaCl. A genotipagem foi realizada através da técnica de Mycobacterial Intersperced Repetitive Units-Variable Number of Tandem Repeats (MIRU-VNTR) 15-locus. As análises foram realizadas no SPSS v.20.0. Foram analisadas as variáveis sociodemográficas: sexo, idade, uso de drogas ilícitas, co-infecção por HIV e resistência a medicamentos. Para a análise filogenética, utilizou-se o banco de referências de dados online, MIRU-VNTRplus, com classificador Naive Bayes, para prever a descendência moderna ou ancestral. A média de idade entre os pacientes era de 32,25 anos e 98,3% eram do sexo masculino. Além disso, 18,6% eram positivos para HIV. A taxa de resistência aos tuberculostáticos foi de 11,4% e a taxa de abandono do tratamento, 19,4%. Um total de 67 (28,3%) cepas agruparam-se em 19 clusters contendo de 2 a 9 isolados cada. Na análise filogenética, 50,6% das cepas eram da família LAM, e 40,9% das cepas pertenciam a família Haarlem, sendo 7,2% dessas cepas eram resistentes. Em suma, na PPL a TB foi predominante entre os homens, jovens. Além disso, verificou-se uma taxa de coinfeção TB/HIV superior a da população em geral. A baixa formação de clusters, sinaliza que há uma alta diversidade genética entre as cepas da PPL. As linhagens predominantes na região do estudo foram LAM e Haarlem, prevalentes na América Central, América do Sul, Europa e Ásia. Entretanto, a família Haarlem, caracterizada pela resistência aos medicamentos, divergiu ao nosso estudo, no qual não houve taxa significativa de resistência.

**Palavras-chave:** Tuberculose, Presídios, Filogenia, *Mycobacterium tuberculosis*, Epidemiologia Molecular.

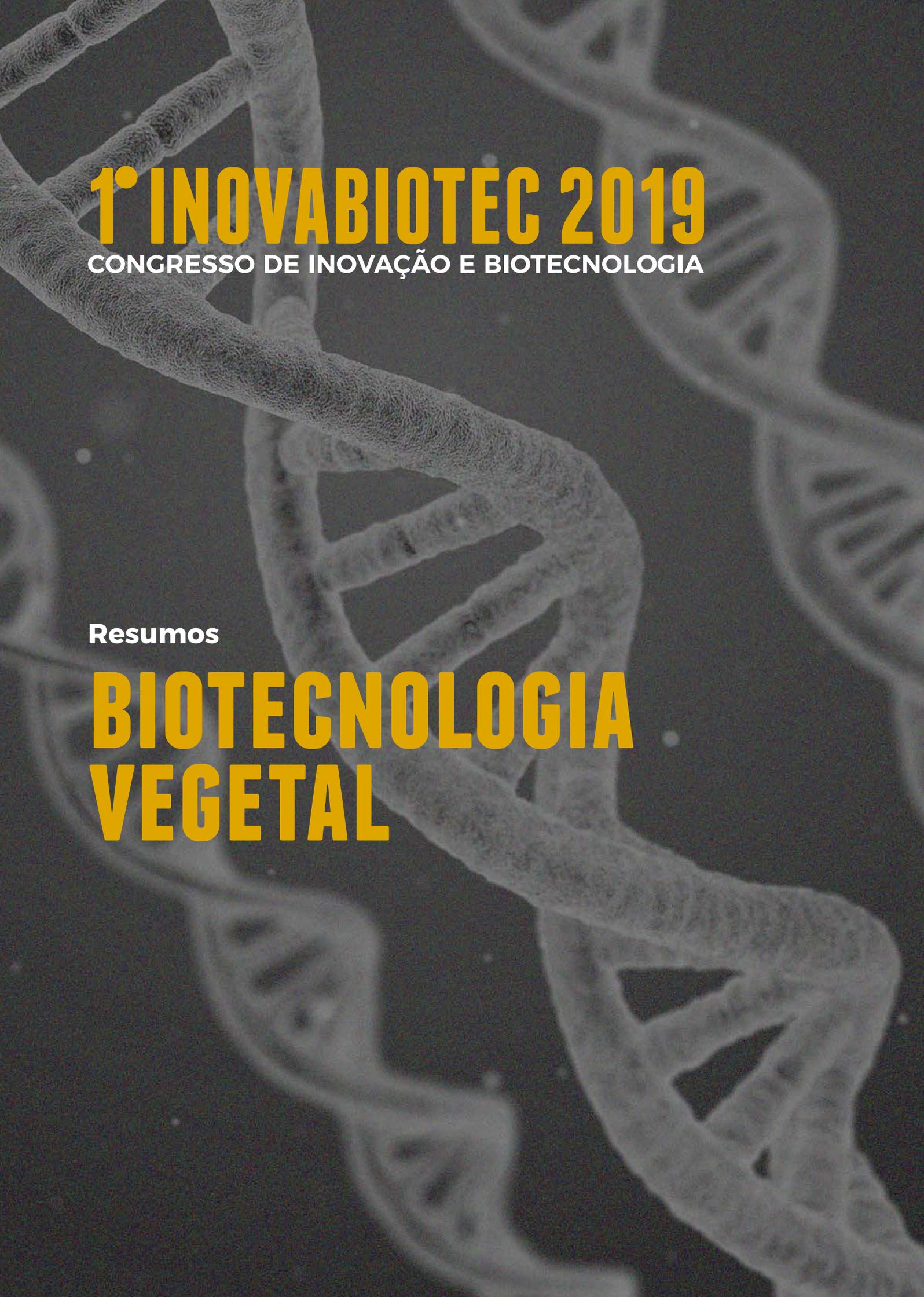
# Estudo dos níveis de vitamina D e sua associação com polimorfismos genéticos e sintomas de ansiedade e depressão

Luisa Capra<sup>1</sup>, V. Contini<sup>1</sup>, F.M. Shansis<sup>1</sup>, F. Dresch<sup>1</sup>, M. Conte<sup>1</sup>, F. G. P. das Neves<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** Introdução: Além dos efeitos mais conhecidos da vitamina D, metabolismo ósseo e mineral, essa tem sido associada com diversos transtornos mentais, sendo um deles a depressão. Para que esse micronutriente esteja amplamente disponível em nível sérico, são necessários diversos fatores, entre eles, exposição solar, alimentação e fatores genéticos. Objetivo: o objetivo deste estudo é investigar a influência de polimorfismos genéticos em genes relacionados à rota da vitamina D (VDR-rs2228570, RXRG-rs2134095, CYP2R1-rs10741657, DHCR7-rs12785878 e GC-rs7041) em sintomas de ansiedade e depressão em uma amostra de adultos universitários. Metodologia: Foram incluídos no estudo 109 adultos, de ambos os sexos, recrutados entre a comunidade acadêmica a Univates. Todos os indivíduos incluídos no estudo assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (COEP/UNIVATES:2.502.199). Responderam a uma anamnese para a coleta de dados demográficos, hábitos alimentares e estilo de vida. Para a análise dos sintomas de ansiedade e depressão serão utilizados o Inventário de Ansiedade de Beck e o Inventário de Depressão de Beck, respectivamente. A dosagem de vitamina D (25(OH)D) foi realizada através do método ELISA e a extração de DNA pelo método de salting out, a partir de sangue periférico. A genotipagem dos polimorfismos foi feita pelo sistema de discriminação alélica TaqMan (Applied Biosystems). Resultados: A amostra foi composta 78,8 % por mulheres com média de idade de 25 anos e níveis de vitamina D de 22,07 ng/mL. Apenas 70,9% apresentou ausência de sintomas de depressão, 17,2% sintomas leves e 11,8% sintomas moderados/graves. Para os sintomas de ansiedade, 96,1% não apresentam sintomas significativos e 3,9% apresentaram sintomas moderados ou graves. Com relação aos testes genéticos, em uma análise preliminar com 103 indivíduos, detectou-se uma associação limítrofe entre o polimorfismo rs10741657, do gene CYP2R1, com os níveis vitamina D, onde os indivíduos com o genótipo GG para apresentam níveis séricos mais baixos (19,86 ng/mL) ( $p=0,09$ ). Salienta-se que esses resultados são parciais, visto que as dosagens dos níveis de vitamina D ainda não estão disponíveis para toda amostra. Os dados de comportamento de mais indivíduos já foram realizados, dessa forma, pretende-se incluir nas análises as genotipagens dos polimorfismos. Conclusões mais consistentes poderão ser feitas a partir das análises com toda a amostra.

**Palavras-chave:** Vitamina D. Depressão. Ansiedade. Polimorfismos. Nutrigenética.



# **1º INOVABIOTEC 2019**

**CONGRESSO DE INOVAÇÃO E BIOTECNOLOGIA**

**Resumos**

# **BIOTECNOLOGIA VEGETAL**

## Avaliação do efeito fitotóxico do extrato aquoso de *Pinus elliottii* sobre ervas invasoras de sistemas de cultivo agrícola

Peterson Haas<sup>1</sup>, Sabrina Cordeiro<sup>1</sup>, Ytan Schweizer<sup>1</sup>, Camila Roberta de Castro<sup>1</sup>, Daniel Kuhn<sup>1</sup>, Lucélia Hoehne<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** Dentre os fatores que acarretam à redução da produtividade rural, ervas daninhas são responsáveis por 34% da redução dos rendimentos agrícolas. Estima-se que práticas manuais e mecânicas de remoção e a aplicação de herbicidas têm sido os métodos mais eficazes de controle. Contudo, verifica-se que os herbicidas mais comercializados mundialmente são à base de glifosato, um composto que vêm demonstrando uma crescente resistência de ervas, o que acarreta em doses elevadas da aplicação do princípio-ativo nas produções agrícolas e, conseqüentemente, significativos efeitos à saúde humana e ao ecossistema em si. Dessa forma, foram avaliados os efeitos fitotóxicos de extratos da espécie *Pinus elliottii* sobre plantas invasoras de sistemas de cultivo. Para a verificação da eficácia do mecanismo de ação do *Pinus* sobre o crescimento de ervas e para definir a concentração com maior potencial fitotóxico, o extrato aquoso obtido de suas acículas foi diluído em diferentes concentrações (2,5%, 5%, 7,5% m/v). Posteriormente, os substratos foram aplicados sobre indivíduos jovens com cerca de 20 cm de parte aérea de duas espécies herbáceas: *Conyza bonariensis* (Buva) e *Cyperus rotundus* (Tiririca). Notou-se que as concentrações de 5% e 7,5% não inibiram totalmente o desenvolvimento foliar, ao contrário das plantas expostas ao glifosato (o qual também foi utilizado como tratamento). Contudo, para tais concentrações houveram lesões nas extremidades das folhas e murchamento em cerca de 50% das amostras em relação ao grupo controle, onde nenhum inibidor de crescimento foi aplicado. Para uma análise quantitativa do efeito dos inibidores, foram feitas análises de umidade e de metais nas amostras. Fez-se digestão ácida, em forno micro-ondas, com as amostras de cada conjunto previamente secas. Em seguida, mediu-se a quantidade de Sódio e Potássio por fotometria de chama. Com os resultados, verificou-se uma semelhança no efeito fitotóxico do *Pinus elliottii* e glifosato, através da redução da umidade das raízes, acarretando no aumento de concentração de Sódio e diminuição do teor de Potássio, sugerindo desequilíbrio metabólico no vegetal. Além disso, próximos procedimentos envolvendo a aplicação de extratos aquosos sobre a germinação de sementes e o crescimento de outra espécie de erva, *Bidens pilosa* (Picão), estão ocorrendo, e com eles avalia-se os parâmetros de crescimento (comprimento de raiz, altura da parte aérea, biomassa, vazamento de eletrólitos e coloração).

**Palavras-chave:** Alelopatia, Bioherbicida, Glifosato, *Pinus elliottii*.

## Tolerância ao frio em plantas de arroz através da inoculação de bactérias rizosféricas

Thainá Inês Lamb<sup>1</sup>, Vitória Nyland<sup>1</sup>, Eduardo Martins de Souza<sup>1</sup>, Camille Eichelberger Granada<sup>1</sup>, Raul Antonio Sperotto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** O Brasil é o maior produtor de arroz (*Oryza sativa* L.) fora do continente asiático. Esse cereal é um importante alimento, atuando como base alimentar para bilhões de pessoas no mundo. No entanto, a produção nacional poderia apresentar maiores rendimentos visto que é fortemente influenciada por diferentes estresses bióticos e abióticos, como ataque de pragas, seca, frio, entre outras. Atualmente, devido às mudanças climáticas que vem ocorrendo, faz-se necessário o incentivo à busca por novas técnicas agrícolas favoráveis ao meio ambiente e que possam suprir a demanda alimentar da população. Pesquisas com plantas têm demonstrado que alguns microrganismos têm capacidade de atender as necessidades nutricionais, auxiliando na absorção de nutrientes e modulando as defesas naturais das plantas, aumentando a resistência contra patógenos e predadores. Além de aumentar a resistência das plantas contra estresses bióticos, os microrganismos podem conferir à planta tolerância a estresses abióticos. Pesquisas deste tipo ainda são escassas em plantas de arroz. Nosso trabalho buscou avaliar a capacidade de bactérias rizosféricas em aumentar a tolerância de plantas de arroz à baixas temperaturas. Dessa forma, plantas de arroz foram inoculadas com isolados bacterianos oriundos de arrozal, e então submetidas a condições estressantes e comparadas com plantas não estressadas e inoculadas, e com plantas não inoculadas, estressadas ou não. As análises realizadas mostraram maior taxa de sobrevivência em plantas submetidas a estresse por baixa temperatura inoculadas com três isolados bacterianos (85%, 69% e 63%) quando comparadas com plantas não inoculadas sob estresse (33%), sendo que em um dos isolados a taxa de sobrevivência (85%) não diferiu da condição controle (100%, sem inoculação). As próximas análises que serão realizadas envolvem dados agrônômicos, buscando avaliar a produtividade. Além disso, análises fisiológicas e moleculares serão realizadas para que possamos entender os mecanismos envolvidos na tolerância ao frio em arroz induzida pela inoculação de bactérias. Esses resultados podem estimular o uso de inoculantes agrícolas em arroz, auxiliando no contínuo fornecimento de alimentos em períodos de mudança climática.

**Palavras-chave:** Arroz, Baixas temperaturas, Microrganismos, Taxa de sobrevivência.

## Seleção de microrganismos de solos contaminados com cobre e seu efeito na promoção de crescimento de videiras

Giovana Lara Debastiani<sup>1</sup>, J. Schwambach<sup>1</sup>, K. F. Dos S. Strausburger<sup>1</sup>, C. E. Granada

<sup>1</sup>Universidade de Caxias do Sul - UCS,

<sup>2</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates,

**Resumo:** A videira é o principal e mais antigo cultivo da Serra Gaúcha, porém as condições climáticas da região favorecem o aparecimento de doenças. Para o combate destas doenças são utilizados fungicidas cúpricos, tanto no sistema convencional quanto no orgânico. O uso decorrente destes fungicidas acabou levando ao acúmulo de cobre (Cu) no solo, que apesar de importante para o crescimento vegetal em pequenas doses, em excesso é tóxico. Para microrganismos como bactérias, altas concentrações de Cu promovem uma pressão de seleção, favorecendo o desenvolvimento de bactérias resistentes. Estas bactérias resistentes podem ser isoladas e avaliadas quanto a possibilidade de seu uso na biorremediação e na promoção de crescimento de plantas submetidas a esse tipo de estresse. Assim, o objetivo deste trabalho será (1) isolar bactérias de solo com alta concentração de Cu, (2) avaliar a capacidade de estas bactérias produzir compostos que promovam o crescimento de plantas, (3) selecionar as bactérias mais promissoras e (4) avaliar o efeito in vivo da inoculação destas bactérias em mudas de videiras. Para isto, serão coletadas três amostras de solo: vinhedo convencional novo com alto teor de Cu; vinhedo convencional antigo com altíssimo teor de Cu; e vinhedo orgânico com altíssimo teor de Cu. Serão realizadas análises metagenômicas para caracterização dos microrganismos presentes nas diferentes condições. Paralelamente serão isoladas bactérias que serão avaliadas quanto a habilidade de produzir compostos indólicos, sideróforos e solubilizar de fosforo. A partir destes resultados serão selecionados isolados para identificação molecular pelo sequenciamento do gene 16S rRNA e inoculação no teste in vivo. Para isso o porta-enxerto Paulsen (*V. berlandieri* x *V. rupestris*) será inoculado com os isolados e parâmetros de crescimento e desenvolvimento serão avaliados. A perspectiva é que tenhamos uma maior diversidade de microrganismos no material oriundo do cultivo orgânico em virtude do manejo mais integrado com o meio e que seja identificada uma ou mais bactérias promotoras de crescimento que possam ser utilizadas como um produto inoculante para uso em áreas contaminadas por cobre.

**Palavras-chave:** Bactérias promotoras de crescimento, toxidez por metal, metagenômica.

## Respostas fisiológicas e moleculares em raízes de plantas de arroz submetidas à baixa temperatura

Angie Geraldine Sierra Rativa<sup>1</sup>, J. P. Fett<sup>2</sup>, T. I. Lamb<sup>1</sup>, R. Gastmann<sup>1</sup>, D. Friedrich<sup>1</sup>, A. T. Junior<sup>2</sup>, F. Ricachenevsky<sup>3</sup>, R. A. Sperotto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

**Resumo:** O arroz é um dos principais cereais em produção e consumo no Brasil, sendo o Rio Grande do Sul responsável por mais de 70% da produção nacional. A região caracteriza-se pela presença de dias frios durante os meses de setembro a novembro (época do plantio antecipado), afetando a produção de grãos. Tem sido demonstrado que as plantas expostas à baixa temperatura apresentam redução na germinação e no seu desenvolvimento, afetando a qualidade do grão. Assim, o frio é um dos estresses que mais limita a produção de arroz na região. Nosso grupo identificou previamente dois genótipos de arroz da subespécie indica com níveis contrastantes de tolerância ao frio durante o estágio germinativo e vegetativo. Nestas análises, percebemos que as raízes do genótipo tolerante (GT) e do sensível (GS) ao frio apresentam diferenças visuais quando submetidas à baixa temperatura. Dessa forma, o objetivo do nosso trabalho é compreender as respostas fisiológicas e moleculares que ocorrem nas raízes do GT e do GS durante o frio. Plantas com 30 dias de crescimento foram submetidas às condições de baixa temperatura (10°C) ou controle (28°C) por 10 dias. O peso seco e o comprimento das raízes, bem como a densidade de pelos radiculares, apresentaram maiores valores nas plantas do GT em comparação com as plantas do GS, quando submetidas ao frio. Análises histoquímicas mostraram que as raízes do GS apresentam maiores níveis de peroxidação lipídica e perda de integridade de membrana, sugerindo que as raízes das plantas do GT são menos danificadas pelo estresse oxidativo causado pelo frio que as plantas do GS. Raízes de plantas dos dois genótipos sob condição de frio (10°C) por 24h foram usadas para identificar genes diferencialmente expressos através da técnica de RNAseq. Sob condição de frio, 235 sequências foram mais expressas no GT, e 347 no GS. Foi possível atribuir categorias metabólicas à 134 e 223 genes mais expressos no GT e GS, respectivamente, após a exposição ao frio. A maioria das vias metabólicas parece mais ativa no GS (exceto as relacionadas com parede celular e metabolismo de carboidratos), sugerindo que o GS é muito afetado pela baixa temperatura, enquanto o GT apresenta um remodelamento ativo da parede celular, provavelmente para reforçá-la. Análises detalhadas dos genes encontrados estão em andamento em nosso laboratório. Acreditamos que essas descobertas podem ser úteis para futuros esforços biotecnológicos que visam aumentar a tolerância ao frio em plantas de arroz.

**Palavras-chave:** baixa temperatura, sistema radicular, estresse oxidativo.

## Presença de compostos orgânicos em plantas restritas ao pampa

Aline Viana<sup>1</sup>, S. M. Silva<sup>2</sup>, E. M. de Freitas<sup>2</sup>, R. A. Sperotto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE

<sup>2</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** O Pampa apresenta flora com imensurável biodiversidade não conhecida em sua totalidade pela ciência. Assim, este trabalho teve como objetivo analisar a presença de compostos orgânicos em 20 espécies de plantas de ocorrência restrita ao Pampa, buscando conhecer possíveis potencial econômico e biotecnológico. As coletas foram realizadas nos municípios de Alegrete, Manoel Viana e São Francisco de Assis, entre maio 2016 a abril 2017. Para a observação da presença de compostos orgânicos, secções transversais à mão livre foram realizadas nas amostras, que posteriormente foram submetidas a testes microquímicos com Lugol para detecção de amido; Cloreto Férrico para substâncias fenólicas; Sudan IV para lipídios e Azul de Metileno para mucilagem. Os testes microquímicos realizados nas plantas estudadas revelaram a presença de compostos fenólicos, amido e mucilagem. Compostos fenólicos foram observados nas células do mesofilo de *Amaranthaceae* (*Alternanthera hirtula* (Mart.) R.E.Fr.), *Arecaceae* (*Butia lallemantii* Deble & Marchiori), *Asteraceae* (*Baccharis albolanosa* A.S. Oliveira & Deble, *B. multifolia* A.S. Oliveira, Deble & Marchiori e *Senecio cisplatinus* Cabrera), *Convolvulaceae* (*Ipomoea malvaeoides* var. *lineariloba* Hallier e *I. nitida* Griseb.), *Euphorbiaceae* (*Croton lorentzii* Müll. Arg. ex Griseb), *Lamiaceae* (*Hesperozygis ringens* Benth.), *Malvaceae* (*Waltheria douradinha* A. St.-Hil.), *Moraceae* (*Dorstenia brasiliensis* Lam.), *Myrtaceae* (*Eugenia arenosa* Mattos), *Poaceae* (*Pappophorum macrospermum* Roseng., B.R. Arrill. & Izag.) e no ápice dos tricomas tectores de *Asteraceae* (*Trixis pallida* Less.). Por outro lado, a presença de mucilagem foi observada apenas nas células da epiderme de *B. multifolia*, nos tricomas glandulares de *I. nitida* e nas células da epiderme e tricomas tectores de *W. douradinha*. Estas substâncias exercem diversas funções, dependendo da necessidade fisiológica de cada espécie. *Asteraceae* tem espécies com diferentes compostos químicos. *Myrtaceae* possui espécies com importantes propriedades farmacológicas. *Hesperozygis ringens* produz muito óleo essencial em suas folhas, sendo a pulegona o componente principal, que é utilizado por suas propriedades antiparasitárias e acaricidas, alelopáticas, anestésicas e larvicidas. Estudos da composição química do material secretado por essas espécies podem constituir novas fontes de material a serem explorados pela indústria.

**Palavras-chave:** Bioma Pampa, Compostos Orgânicos, Potencial de exploração, Vegetação.

## Controle alternativo com óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*: caracterização química, controle da podridão amarga em uvas e análise sensorial

Carine Pedrotti<sup>1</sup>, Joséli Schwambach<sup>1</sup>, Clarissa Franzoi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Caxias do Sul - UCS

**Resumo:** A viticultura apresenta-se como uma das atividades mais importantes dentro da fruticultura brasileira. Perdas significativas ocorrem no armazenamento e comercialização de uvas devido à podridão amarga causada por *Greeneria uvicola*. O uso de agroquímicos no combate à doença representa diversos riscos ambientais e a saúde humana e o controle alternativo com óleo essencial (OE) pode reduzi-los. Este trabalho objetivou caracterizar quimicamente o OE de *Eucalyptus staigeriana*, avaliar seu efeito no pós-colheita (PC) de uvas contra *G. uvicola* e análise sensorial (AS) das uvas tratadas com OE. O OE foi extraído de folhas de *E. staigeriana* por arraste à vapor e analisado por GC/MS. Uvas de *Vitis* spp. cv. Isabel cultivadas em Bento Gonçalves foram utilizadas nos testes. No PC, utilizou-se solução com OE nas concentrações de 0,0 a 0,3  $\mu\text{L ml}^{-1}$  emulsionada com Tween 20 (1:1). Foram utilizados 10 cachos de uva por tratamento. Em 10 bagas de cada cacho foram feitos fermentos, onde aplicou-se 10  $\mu\text{L}$  de suspensão de conídios (SC) ( $1 \times 10^6$  conídios/mL). Avaliou-se o efeito do OE no tratamento preventivo, que consistiu na aplicação do OE e após 24 h a inoculação da SC e, no tratamento curativo, que consistiu na inoculação da SC e após 24 h a aplicação do OE. Armazenou-se as uvas a  $25 \pm 1$  °C com 16 h de fotoperíodo por 7 dias. Avaliou-se a incidência através da porcentagem do número de bagas com sintomas da doença e a severidade com uma escala de 0 a 100 % de acordo com a área de baga afetada pela doença. AS foi realizada por 50 painelistas não treinados. Nas uvas realizou-se os tratamentos: controle, solução de OE (0,10  $\mu\text{L ml}^{-1}$ ) e solução de OE seguido de lavagem com água. Três bagas de cada tratamento foram colocadas em recipientes e codificadas. Os atributos sensoriais avaliados foram: sabor, aparência, aroma e cor - utilizando escala de 1 a 10 pontos, além da indicação da amostra preferida. Os compostos majoritários do OE são: neral (11,18 %), geranial (18,16 %), 1,8 cineol (18,85 %) e limoneno (14,32 %). No PC, observou-se uma redução significativa na incidência da doença na concentração de 0,10  $\mu\text{L ml}^{-1}$  no tratamento curativo. Na AS não houve diferença entre os tratamentos, a pontuação média das amostras foi entre 6 (gostei um pouco) e 7 (gostei moderadamente) e a preferência dos painelistas foi pelas uvas tratadas com OE. Esses resultados sugerem que o OE de *E. staigeriana* pode ser utilizado no controle alternativo aplicado no PC, na proteção de uvas contra *G. uvicola*.

**Palavras-chave:** curativo, preventivo, Eucalipto, *Greeneria uvicola*, pós-colheita.

# Cinética de infestação do Percevejo-Do-Colmo (*Tibraca limbativentris* - Heteroptera: Pentatomidae) em plantas de arroz baseada em danos visuais

Lucas Kessler de Oliveira<sup>1</sup>, Eduardo Rodrigues Hicke<sup>2</sup>, Emílio Berghan<sup>1</sup>, Raul Antonio Sperotto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI/SC

**Resumo:** O Brasil está na nona posição em nível mundial na produção de arroz, sendo o maior produtor deste alimento fora do continente asiático, com o equivalente a 2,1% da produção mundial. Há uma projeção de necessidade de aumento da produtividade na faixa de 3% ao ano, mas devido a fatores de estresse abiótico e biótico, esta projeção não está sendo atingida. O percevejo-do-colmo (*Tibraca limbativentris* Stål, 1860 - Heteroptera: Pentatomidae) destaca-se como uma das principais pragas do arroz, causando perdas na produtividade de grãos. Tendo em vista a importância do arroz e os efeitos danosos da infestação de *T. limbativentris* na cultura, a identificação das respostas fisiológicas de plantas de arroz ao estresse são extremamente importantes para o melhor entendimento dos mecanismos de resposta. Tal entendimento é obtido com base em parâmetros fisiológicos e análises moleculares nas plantas de arroz frente à infestação do percevejo-do-colmo, mas antes é necessário entender a cinética de infestação. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo avaliar a cinética de infestação baseada em danos visuais nas plantas ao longo do tempo. Para isso foi realizada a infestação de três conjuntos com três plantas, em estágio V5, que foram infestadas com três casais de insetos adultos cada uma, para avaliação de danos diários visíveis por duas semanas. Os resultados demonstraram que após 72 horas de infestação as plantas começam a apresentar danos, mostrando inicialmente descoloração do colmo e alterações nas folhas, como enrugamento e clorose. Após 96 horas de infestação, as plantas começam a apresentar sintomas de necrose. Os resultados apontam que para verificação das alterações fisiológicas e moleculares, seria necessário iniciar os testes após 24 horas de infestação, e também incluir análises em 72 e 96 horas. A infestação foi realizada no período vegetativo (V5), conforme literatura. Todavia, outros autores relatam que em estágio anterior a V8 os danos são menos severos, pois a planta teria maior capacidade de recuperação quando cessado o ataque. A partir deste estudo, propomos que as análises fisiológicas e moleculares sejam realizadas entre os estágios V8 e V13. A partir deste estudo espera-se uma melhor compreensão das respostas de defesa de plantas de arroz contra o inseto, o que forneceria alvos com potencial uso para o melhoramento da cultura de arroz.

**Palavras-chave:** estresse biótico, alterações fisiológicas, arroz, alterações moleculares, *Tibraca limbativentris*.

## Avaliação de Húmus Líquido (CHORUME) proveniente de vermicompostagem como fertilizante em tabaco do tipo virgínia

Verônica Vanessa Brandt<sup>1</sup>, Gabriela Vettorello<sup>1</sup>, Lucélia Hoehne<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** O Brasil é um dos maiores produtores de tabaco do mundo, sendo que a Região Sul é responsável por mais de 96% desta produção. Até hoje, utiliza-se apenas fertilizantes químicos para a adubação do tabaco, que possuem uma alta probabilidade de poluição ambiental. Em vista disso, este trabalho tem como objetivo avaliar a eficácia de fertilizante orgânico, húmus líquido (chorume), proveniente da vermicompostagem de minhocários existentes no laboratório de biotecnologia, pertencente ao Tecnovates da Univates, em uma plantação de tabaco do tipo Virgínia. Para isso, foram feitos três tratamentos, cada um com 10 mudas transplantadas na fase de crescimento à lavoura até o tamanho de colheita: sem adubação (T1), com adubação mineral (T2) e com o uso do chorume a 20% (T3). Após o crescimento completo, 5 plantas de cada teste foram colhidas e submetidas a análises de massa seca e massa fresca, número de folhas, altura total, quantidade de Nitrogênio (N), Fósforo (P) e Potássio (K) das folhas e raiz, todas feitas em triplicata. Os resultados das 5 amostras de cada teste foram tratados com análise de variância (ANOVA), com teste tukey Kramer,  $p < 0,05$ ). Ao fim do trabalho, observou-se que o T3 apresentou resultados superiores ao T1, comprovando uma eficácia do chorume como fertilizante, porém inferiores aos resultados obtidos no T2, que foram maiores em praticamente todas as análises realizadas, exceto para o número de folhas e quantidade de Nitrogênio nas folhas. Com isso, pode-se verificar um potencial de uso do chorume como fertilizante em plantações de tabaco.

**Palavras-chave:** fertilizantes, vermicompostagem, chorume, tabaco.

## Germinação in vitro de *Coccocypselum lanceolatum* (Ruiz & Pav.) Pers. em diferentes concentrações de meio MS

Mara Cíntia Winhelmann<sup>1</sup>, J. Gastmann<sup>2</sup>, L. J. de Vargas<sup>2</sup>, E. M. de Freitas<sup>2</sup>, C. S. Fior<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

<sup>2</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** *Coccocypselum lanceolatum* (Ruiz & Pav.) Pers., também conhecida como anil, erva-de-corocochó ou fruta-de-corocochó, é uma espécie herbácea nativa no Brasil, pertencente à família Rubiaceae. No Rio Grande do Sul (RS), tem registro de ocorrência nas formações vegetais do bioma Mata Atlântica. O fruto possui formato ovoide, coloração azulada, o qual serve de alimento para animais frugívoros, principalmente aves. A espécie pode ser utilizada como cobertura de solo em locais com menor intensidade luminosa, como forração em canteiros sombreados, por exemplo, já que tem potencial ornamental. Devido à carência de informações sobre a germinação da espécie, o objetivo deste estudo foi verificar a germinação in vitro de *C. lanceolatum*. Sementes de *C. lanceolatum* coletadas no município de Ilópolis, RS, foram desinfestadas em álcool 70% por um minuto, posteriormente em hipoclorito de sódio 1,5% por 10 minutos e por fim tríplice lavagem com água de osmose reversa autoclavada. Em seguida as sementes foram incubadas em frascos de vidro transparente do tipo snap cap, contendo 30 mL de meio com 25% (T1), 50% (T2), 75% (T3) e 100% (T4) de concentração do meio Murashige e Skoog (MS). O delineamento foi inteiramente casualizado, com 20 repetições de 10 sementes, totalizando 200 sementes por tratamento. Os frascos foram dispostos em sala de crescimento com temperatura de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 16h luz durante 60 dias. Ao final do período experimental, foi contabilizado o número de sementes germinadas, adotando como critério a presença de 1,0 mm de radícula visível, o número de plântulas formadas e o índice de velocidade de germinação (IVG), o qual foi calculado através do acompanhamento da germinação três vezes por semana. Posteriormente os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram submetidas à regressão polinomial pelo programa estatístico SigmaPlot 11.0. Através da análise dos dados conseguiu-se ajustar uma equação linear para germinação e IVG, sendo que a maior porcentagem de germinação e IVG foi observado no T1, e, à medida que aumenta a concentração de sais, ambas variáveis diminuem. Já para a variável formação de plântula não houve diferença estatística entre os tratamentos. Dessa forma, para a germinação in vitro de *C. lanceolatum* pode-se utilizar o meio com 25% de concentração de MS, apresentando como vantagem a utilização de menos reagentes em comparação com as concentrações mais elevadas de reagente.

**Palavras-chave:** Forração, propagação por sementes, Rubiaceae.

## Germinação in vitro de *Plantago tomentosa* Lam. em diferentes concentrações de meio MS

Julia Gastmann<sup>1</sup>, L. J. Vargas<sup>1</sup>, M. C. Winhelmann<sup>2</sup>, E. M. Freitas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

**Resumo:** A *Plantago tomentosa* Lam., também conhecida como tansagem, é uma planta comumente usada na medicina popular como anti-microbiana, anti-tumoral, anti-inflamatória e cicatrizante. Estudos realizados com plantas do gênero revelaram seu potencial na produção de compostos bioativos. Porém, estudos com *P. tomentosa* são escassos, tornando importantes a investigação de estratégias eficazes para sua propagação. O objetivo deste trabalho foi verificar a porcentagem de germinação e formação de plântulas in vitro de *P. tomentosa* em diferentes concentrações do meio Murashige-Skoog (MS). Sementes de *P. tomentosa* colhidas em Lajeado, Rio Grande do Sul, foram utilizadas nos testes. Primeiramente as sementes foram desinfestadas submergindo-as em álcool 70% por 1 minuto, posteriormente em hipoclorito de sódio 1,5% por 10 minutos e por fim tríplice lavagem com água de osmose reversa autoclavada. Em seguida foram inoculadas em frascos de vidro, contendo 30 mL de meio MS com concentrações a 25% (T1), 50% (T2), 75% (T3) e 100% (T4). O delineamento foi inteiramente casualizado, com 20 repetições de 10 sementes, totalizando 200 sementes por tratamento. Os frascos foram dispostos em sala de crescimento com temperatura a  $25\pm 3^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 16 h luz por 30 dias. Como não houve germinação durante este período, os frascos foram transferidos para uma BOD a  $20\pm 1^{\circ}\text{C}$  e mesmo fotoperíodo, onde permaneceram por mais 15 dias, possibilitando assim a germinação. Após, os mesmos foram transferidos novamente para a sala de crescimento a  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  por mais 15 dias para desenvolvimento das plântulas. Ao final do experimento, foram contabilizadas as sementes germinadas e plântulas formadas para cada tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e posteriormente as médias foram submetidas à análise de regressão pelo programa estatístico IBM SPSS 22. Segundo a análise de dados, as concentrações de meio MS testadas não influenciaram na porcentagem de germinação e de formação de plântulas. Portanto, para *P. tomentosa*, indica-se o uso do meio MS na concentração de 25%, pois o resultado será o mesmo para germinação e formação de plântulas in vitro num mesmo período de tempo com a vantagem de utilizar menos reagentes em comparação a concentrações mais elevadas de meio.

**Palavras-chave:** Plantaginaceae, tansagem, propagação por sementes, potencial bioativo.

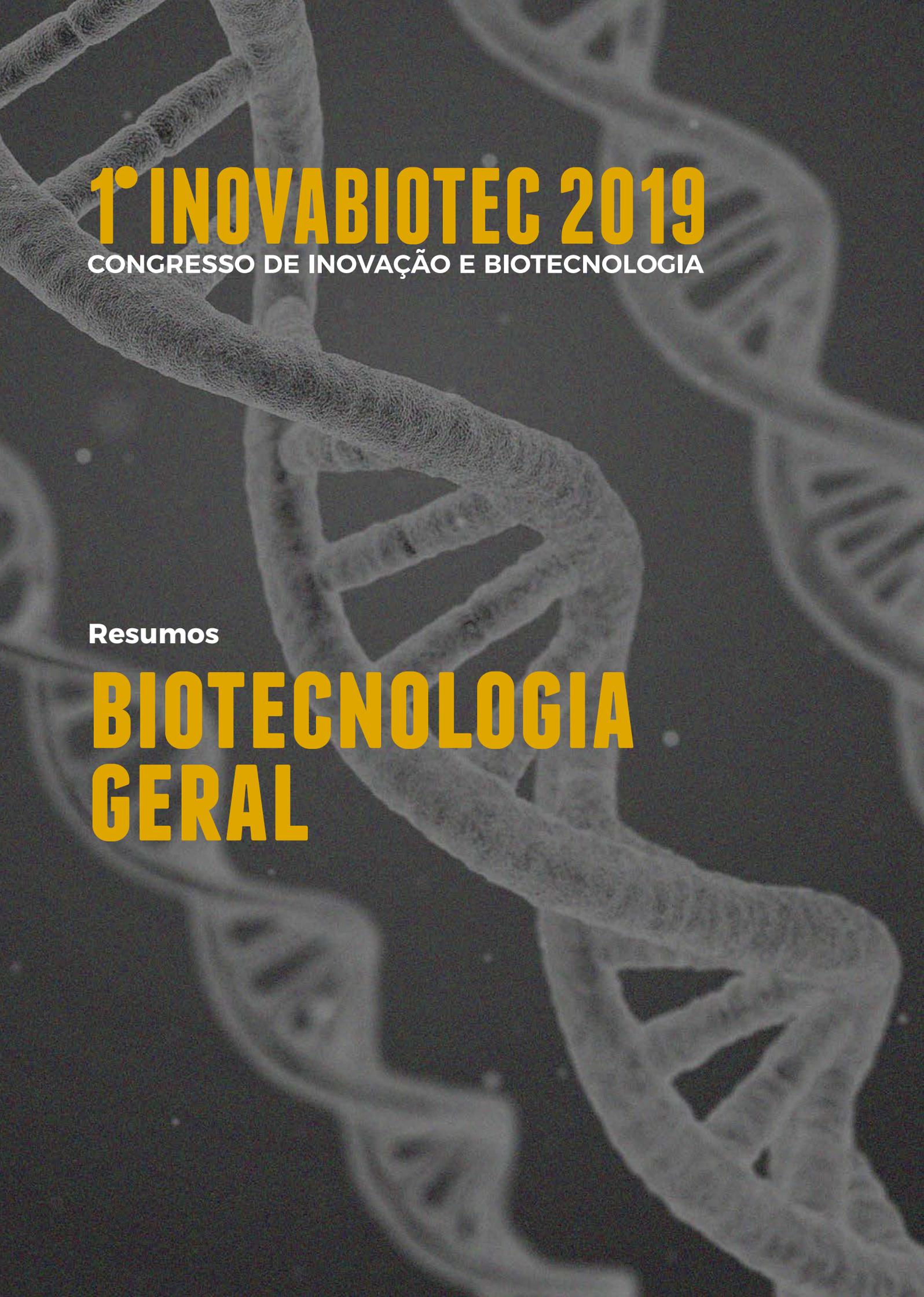
## Óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* no controle *in vitro* da requeima-das-folhas em *Vitis* spp.

Clarissa Franzoi<sup>1</sup>, J. Schwambach<sup>1</sup>, C. Pedrotti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Caxias do Sul - UCS

**Resumo:** A Serra Gaúcha é a principal região brasileira com condições favoráveis para o cultivo de videiras, porém as mesmas condições propiciam o desenvolvimento de patologias de origem fúngica, como a requeima-das-folhas, causada por *Alternaria alternata*. O uso de agrotóxicos para o controle de doenças traz riscos à saúde humana e os resíduos dos mesmos contaminam diretamente o solo e indiretamente nascentes e rios, prejudicando os ecossistemas. No entanto, o controle alternativo com óleo essencial (OE), obtido de espécies vegetais, pode amenizar esses riscos. Este trabalho teve como objetivo testar a ação fungicida do OE de *Eucalyptus staigeriana* no tratamento e na prevenção da requeima-das-folhas em *Vitis* spp.. A extração do OE de folhas de *E. staigeriana* foi realizada por arraste a vapor durante uma hora, seguida de análise por CG/EM para identificação química. *A. alternata* foi isolada de folhas de *Vitis* spp. de Bento Gonçalves. O teste *in vitro* foi feito em folhas de *Vitis* spp. esterilizadas em álcool 70 % por um minuto e hipoclorito de sódio 1,5 % por um minuto, seguida por lavagem em água destilada autoclavada por um minuto. O inóculo de um disco de micélio de *A. alternata* de 5mm ( $\varnothing$ ) crescido por sete dias em meio de cultura BDA (caldo de batata, dextrose e ágar) foi colocado no centro de cada folha. As folhas foram acondicionadas em placas de Petri com 9 cm ( $\varnothing$ ) contendo meio AA (ágar-água). Para os tratamentos utilizou-se solução com OE nas concentrações de 0,0 a 0,2  $\mu\text{L mL}^{-1}$  emulsionado com Tween 20 (1:1). Avaliou-se o efeito do OE de *E. staigeriana* para o controle da requeima-das-folhas no tratamento preventivo, aplicando o OE na folha e após quatro horas inoculando o disco de micélio e, no tratamento curativo foi inoculado o disco de micélio e após quatro horas foi aplicado o OE. Após sete dias em câmara de crescimento, à temperatura de 25 °C e 12h de fotoperíodo, realizou-se a avaliação da severidade dos sintomas da doença mensurando a área da folha afetada com sintomas e a área total da folha através do Programa ImageJ. Os resultados da análise de variância (Anova), seguido pela comparação de médias pelo teste de Tukey, de acordo com o P (menor ou igual a 0,05), demonstraram que todos os tratamentos reduziram em aproximadamente 80 % a severidade da doença em relação ao controle. Este teste preliminar sugere que o OE de *E. staigeriana* é eficaz no tratamento e prevenção da requeima-das-folhas em *Vitis* spp. e estudos complementares devem ser conduzidos.

**Palavras-chave:** Preventivo; Curativo; *Alternaria alternata*; Controle alternativo.



# 1º INOVABIOTEC 2019

CONGRESSO DE INOVAÇÃO E BIOTECNOLOGIA

Resumos

## BIOTECNOLOGIA GERAL

## Sequenciamento do 16S aplicado na identificação de uma nova cepa de *Bacillus* sp. com potencial agrícola

Diouneia Lisiane Berlitz<sup>1</sup>, Aida Teresinha Santos Matsumura<sup>1</sup>, Akira Santos Matsumura<sup>1</sup>, Akio Santos Matsumura<sup>1</sup>, Aicha Daniela Ribas e Ribas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ICB BIOAGRITEC LTDA

**Resumo:** As técnicas moleculares permitem a eficaz identificação de microrganismos garantindo a confiabilidade nos resultados. No âmbito agrícola, atualmente fungos, bactérias e vírus são utilizados com o intuito de aumentar a produtividade e reduzir custos através do controle biológico de pragas e doenças. Nesse sentido é de fundamental importância a correta caracterização e identificação desses microrganismos. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar uma nova cepa do gênero *Bacillus* através do gene 16S rRNA. A cepa bacteriana denominada ICB B200 foi crescida em caldo TSB e seu DNA extraído com o Kit Wizard® Genomic DNA Purification. A reação de PCR foi preparada em um volume total de 25µL com os iniciadores 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG3-') e 1378R (5'-CGGTGTGTACAAGGCCCGGAACG3-'), sendo 2,5 µL de tampão da enzima 10X, 0,75 µL de MgCl<sub>2</sub>, dNTPs a 10mM; 0,5 µL de cada iniciador; 0,25 µL de Taq DNA polimerase (5 U/ml); 1 µL de DNA molde e o volume completado para 25 µL com água milli-Q estéril. Os ciclos foram desnaturação inicial de 94°C por 4 minutos, seguido de 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 62°C por 1 minuto e uma extensão a 72°C por 1 minuto, e extensão final de 10 minutos a 72°C. O produto de PCR purificado na concentração de 20ng/µL sendo sequenciado no 3730xl DNA Analyzer. As amostras amplificadas para 27F e 1378R foram analisadas com quatro iniciadores 27F, 518F (5'-CCAGCAGCCGCGTAATACG-3'), 800R (5'-TACCAGGGTATCTAATCC-3') e 1378R. A purificação pós reação foi realizada utilizando Sephadex G50 sendo as sequências comparadas com o banco de dados do GenBank usando o programa BLAST, e analisadas pelo software Sequencing Analysis 5.3.1 utilizando o método Neighbor-Joining. O resultado do sequenciamento demonstrou que a cepa ICB B200 foi caracterizada como pertencente a espécie *Bacillus amyloliquefaciens*.

**Palavras-chave:** 16S rRNA; *Bacillus amyloliquefaciens*, biologia molecular.

## Fungi associated to agroindustrial substrates as sources of Cellulolytic Enzymes

T. T. Santos<sup>1</sup>, B. Alexandrino<sup>1</sup>, C. B. Felipe<sup>1</sup>, K. S. Paixão<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Tocantins - UFT

**Resumo:** Introduction: Fungi have been isolated from a wide variety of agroindustrial substrates, enabling the discovery of a broad enzymatic repertoire of interest to the food, pharmaceutical and agroindustrial industries. OBJECTIVES: to isolate, purify and characterize fungi associated with agroindustrial substrates (corn, millet, soybean, sugarcane bagasse and decomposing tree trunks) and evaluate the production capacity of cellulolytic enzymes. METHODS: Samples (0.5g) of millet, corn and shredded soybeans, obtained at the local market, were inoculated in Potato Agar Dextrose (PDA) culture medium supplemented with 0.1 µg/mL cephalothin. After inoculation, the plates were incubated at 25 ± 3 ° C and monitored for up to seven days for replication of the fungi as they were growing on the surface in the culture medium. Purification of fungi was carried out by means of successive passages in BDA. The purified isolates were characterized morphologically and grouped morphotypes. The preservation of the isolates was performed by the Castellani method. Soon, fungi will be isolated from decomposing tree trunks and sugar cane bagasse. Qualitative and quantitative methods will be used to evaluate the production of cellulolytic enzymes of biotechnological interest. PARTIAL RESULTS: Filamentous fungi and yeasts were successfully obtained from corn and soybean. Despite the efforts employed, only bacteria were obtained from millet, which were not considered in this study. New efforts should be made to obtain fungal cultures from millet. With respect to population counts, expressed in colony forming units (CFU) per gram of substrate, it was found that in both soybean and maize, filamentous fungal counts (3.6 x 10<sup>2</sup> and 4.0 x 10<sup>3</sup> CFU / g) were higher than those of yeasts (3.3 x 10<sup>2</sup> and 1.0 x 10<sup>3</sup> CFU / g). In relation to the morphotypes obtained, five morphotypes of filamentous fungi and two of yeast associated with maize were observed, while the one associated with soybean were only one morphotype of yeast and seven morphotypes of filamentous fungi. Future efforts should be undertaken to elucidate the taxonomic status of these isolates. FINAL CONSIDERATIONS: Based on what has been presented, it is concluded that there is a great morphological (and possibly taxonomic) variety of fungi, both filamentous and yeast specimens, associated with agroindustrial substrates used in animal nutrition, which can and should be exploited under ecological and biotechnological points of view.

**Palavras-chave:** Agroindustrial substrates; Cellulase; Fungal diversity.

## Produção de glucanases por *Trichoderma* sp. e *Bacillus* sp. e suas aplicações biotecnológicas

Aida Teresinha Santos Matsumura<sup>1</sup>, Lidia Mariana Fiuza<sup>1</sup>, Akira Santos Matsumura<sup>1</sup>, Akio Santos Matsumura<sup>1</sup>, Aicha Daniela Ribas e Ribas<sup>1</sup>, Diouneia Lisiane Berlitz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ICB BIOAGRITEC LTDA

**Resumo:** As glucanas são polímeros que podem ser produzidos por vegetais, animais e por diferentes microrganismos, como fungos e bactérias. No caso dos microrganismos algumas glucanas fazem parte da composição da parede celular e outras são secretadas para o meio de cultura. Esses polímeros estão relacionados à patogenicidade dos fungos ou bactérias, a interação com as plantas e também à proteção contra dessecação da célula microbiana. Nesse sentido, o presente trabalho objetivou analisar a produção de glucanases em três espécies de fungo: *Trichoderma harzianum*, isolados ICB01TH, ICB02TH, ICB03TH, ICB04TH; *T. asperellum* ICB05TA, ICB06TA, ICB07TA; *T. koningiopsis* ICB08TK; e duas espécies de bactéria, *Bacillus subtilis* ICB B41 e *B. amyloliquefaciens* ICB B200, em condições de laboratório. O método de análise utilizado foi descrito por Miller, onde foi medida a liberação de açúcares redutores a partir da hidrólise da quitina coloidal e da laminarina (Sigma®) pelo ácido dinitrosalicílico- DNS. Para o controle, não foram adicionados os reagentes na solução de análise. A leitura da atividade enzimática foi realizada em espectrofotômetro a  $\lambda=545\text{nm}$  com a curva padrão de glicose entre 0 e 0,3mg/mL. Uma unidade enzimática (U) correspondeu a liberação de 1  $\mu\text{mol}$  de glicose/mL/minuto. As análises foram realizadas diariamente até 7 dias para os fungos e até 3 dias para as bactérias. Os resultados demonstram que, para os fungos analisados, a maior atividade glucanásica ocorreu no 6º dia de avaliação, sendo *T. harzianum* ICB04TH e *T. koningipsis* ICB08TK com 24,86 U para ambos os isolados. As bactérias apresentaram maior produção glucanásica no 2º dia, sendo 37,2 U para *B. amyloliquefaciens* e 31,7 U para *B. subtilis*. Para os microrganismos avaliados houve diferença estatística (5%) entre o controle e os tratamentos. Os resultados desta pesquisa tornam-se importantes na aplicação dessas enzimas em diferentes processos biotecnológicos e industriais, onde pode-se destacar o controle biológico de fungos fitopatogênicos.

**Palavras-chave:** atividade glucanásica, *Trichoderma* sp., *Bacillus* sp. biocontrole.

## Isolamento e caracterização de bactérias ácido lácticas com potencial Biotecnológico

Emilio Berghahn<sup>1</sup>, C. E. Granada<sup>1</sup>, C. F. V. Sousa<sup>1</sup>, M. P. Muller<sup>1</sup>, M. A. Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** O soro de queijo é um subproduto da indústria, rico em água, lactose, nutrientes e outros componentes. Essas características propiciam um ambiente benéfico para o desenvolvimento de bactérias ácido lácticas (BALs) que são importantes por exercerem um papel benéfico para a saúde humana. Estas bactérias podem ser utilizadas para agregar valor a produtos uma vez que alteram as características organolépticas do mesmo, ressaltando seu alto potencial para biotecnologia de alimentos. Assim, este trabalho buscou o isolar, caracterizar e identificar BALs de soro de queijo proveniente de leite de bovino, bubalino e caprino, visando a produção de uma bebida láctea fermentada diferenciada. As colônias foram isoladas e purificadas em meio de Man, Rogosa e Sharpe (MRS) e preservadas em glicerol 50% a -20 °C. Após, as BALs produtoras de ácido, Gram positivas e catalase negativas foram selecionadas. O potencial biotecnológico BALs foi avaliado pelo índice de emulsificação, produção diacetil, de gás, atividade proteolítica e hemolítica, taxa de sobrevivência em pH ácido, antagonismo a patógenos e teste de susceptibilidade a antibióticos. Foram usados como controle cepas de *Lactobacillus acidophilus* NCFM e *Streptococcus thermophilus*. Todos os isolados produziram diacetil e apresentaram atividade proteolítica, destacando-se os isolados de soro caprino onde 59% deles tiveram atividade proteolítica forte, os de soro bovino 10% e de soro bulabino 14%. Considerando todos os isolados, 30 a 40% deles apresentaram produção de diacetil forte. A taxa sobrevivência nos pHs 2 e 3 foi acima de 50%, e o índice de emulsificação variou na faixa de 50 a 90%, destacando os isolados de soro de cabra. Dez BALs com diferentes características foram selecionadas de cada tipo de soro e testadas quanto ao antagonismo à patógenos e susceptibilidade a antimicrobianos. As BALs proveniente de soro caprino apresentaram maior potencial de inibição de patógenos, e as BALs de soro de búfala foram resistentes à 5 antimicrobianos diferentes. Até momento, 43% dos isolados bacterianos já foram identificadas pelo sequenciamento do gene 16S rRNA, sendo eles pertencentes a espécies dos gêneros *Lactococcus* e *Enterococcus*. Assim, as três BALs com maior potencial biotecnológico serão selecionadas para formulação de uma bebida láctea fermentada. Este trabalho salientou que a busca por novos inóculos microbianos para a indústria alimentícia pode ser considerado uma estratégia biotecnológica para agregar valor ao produto.

**Palavras-chave:** Bactérias ácido lácticas, Soro de queijo, Bebida fermentada, *Lactobacillus* sp., *Enterococcus* sp.

## Bacillus Thuringiensis: análises in vitro de receptores de proteínas cry

Lidia Mariana Fiuza<sup>1</sup>, A. S. Matsumura<sup>1</sup>, A. S. Matsumura<sup>1</sup>, A. T. S. Matsumura<sup>1</sup>, D. L. Berlitz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ICB BIOAGRITEC

**Resumo:** As cepas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) constituem importante fonte de proteínas Cry biopesticidas, ambientalmente seguras, aplicadas no controle de fitófagos, fitopatógenos e vetores de doenças. Essas toxinas têm sido amplamente utilizadas na formulação de bioprodutos ou expressas em plantas transgênicas, especialmente àquelas com maior relevância econômica, como: milho, soja, algodão, arroz, hortaliças e frutíferas, entre outras. Nas últimas décadas, as pesquisas sobre o modo de ação das proteínas Cry aumentaram o conhecimento da interação das toxinas com os receptores de membrana, majoritariamente representados pelas glicoproteínas, assim como seus efeitos nas células intestinais dos insetos, como as reações de sinalização. Atualmente, um dos maiores desafios à aplicação das proteínas Cry tem sido o desenvolvimento de populações de insetos resistentes. Os mecanismos mais freqüentes de resistência a essas toxinas estão relacionados às alterações dos receptores presentes nas microvilosidades intestinais. Nesse contexto, a localização dos sítios receptores intestinais dos insetos-alvo às toxinas-Bt torna-se uma ferramenta fundamental na determinação da especificidade, competição das toxinas e das estratégias que retardam ou quebram a resistência das pragas-alvo. Desse modo, diferentes estratégias têm sido avaliadas nos estudos de localização e competição das moléculas receptoras, diferentes epitopos de ligação das toxinas, piramidizações de toxinas que se ligam a diferentes receptores para expressão simultânea nas plantas hospedeiras, ou toxinas Cry modificadas e ativas contra insetos resistentes. Essas tecnologias de monitoramento, in vitro, fornecem subsídios aos estudos aplicados de resistência dos insetos às toxinas-Bt, assegurando o sucesso das formulações comerciais à base de proteínas Cry de Bt e também das plantas-Bt, já utilizadas pelos produtores agrícolas.

**Palavras-chave:** Bactérias, insetos, receptores.

## Utilização de ultrassom como ferramenta para intensificar a produção de esporos de *Beauveria bassiana*

Silvana Schmaltz<sup>1</sup>, M. A. Mazutti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

**Resumo:** A produção de esporos de *Beauveria bassiana* vem sendo aprimorada, já que ambos possuem aplicação no controle biológico de insetos praga. A utilização de ultrassom para incremento do crescimento microbiano e indução da esporulação apresenta-se como alternativa para melhoria do processo. Objetiva-se verificar a consequência da aplicação de ultrassom em fermentação submersa com o fungo *Beauveria bassiana* na produção de esporos. As fermentações foram conduzidas por 168 h em agitador orbital (New Brunswick, Modelo Innova 44) a 28 ° C e 150 rpm em meio contendo sacarose (20,0 g.L<sup>-1</sup>), farelo de arroz, farelo de soja e farelo de malte (0,5 g.L<sup>-1</sup>), NH<sub>4</sub>Cl (2,0 g.L<sup>-1</sup>), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1 g.L<sup>-1</sup>), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,5 g.L<sup>-1</sup>), KCl (0,5 g.L<sup>-1</sup>) e FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,01 g.L<sup>-1</sup>). O pH inicial foi fixado em 5,50. Testes preliminares com aplicações de ultrassom durante a fermentação foram realizados utilizando banho (40 kHz, 132 W) e sonda (24 kHz, 300 W) ultrassônicos, com aplicações de 10 min a cada 24h. Foram realizados 5 ensaios, sendo em T1 aplicado banho ultrassônico, em T2, T3 e T4 sonda ultrassônica (amplitude de 100 % e ciclo de 1 (s/s); amplitude de 20 % e ciclo de 1 (s/s) e amplitude de 50 % e ciclo de 0,5 (s/s), respectivamente) e o controle (C) onde não foi aplicado ultrassom. Todos os ensaios foram realizados em duplicata. A produção de esporos foi avaliada por contagem em Câmara de Neubauer. Para o ensaio C a produção média de esporos por mL foi de 1,31.10<sup>7</sup>, para o T1 foi de 1,28.10<sup>7</sup>, T2 de 1,38.10<sup>7</sup>, T3 de 1,68.10<sup>7</sup> e T4 de 1,64.10<sup>7</sup> esporos/mL. Estes resultados preliminares mostram que em determinadas condições de operação da sonda ultrassônica a produção de esporos sofre um acréscimo, como pode ser observado no ensaio T3, que obteve a maior produção. Além disso, há a possibilidade de otimização da aplicação de ultrassom em processos fermentativos visando aumento da produção de esporos de *Beauveria bassiana*. Demais ensaios serão conduzidos buscando encontrar uma condição que maximize a produção dos esporos.

**Palavras-chave:** *Beauveria bassiana*, Controle Biológico, Ultrassom, Esporos fúngicos.

# Clusterização aplicada para sequências promotoras relacionadas aos fatores $\sigma$ alternativos de *Escherichia coli*: uma abordagem *in silico*

Gabriel Dall'Alba<sup>1</sup>, S. de A. e Silva<sup>1</sup>, P. L. Casa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Caxias do Sul - UCS

**Resumo:** A transcrição gênica é o primeiro passo para a expressão gênica, mediada pela interação entre a enzima RNA polimerase (RNAP) e elementos chamados promotores, os quais geralmente são encontrados upstream ao sítio de início de transcrição (TSS). Promotores apresentam motivos consensuais nas posições -10 e -35, denominados em razão da sua distância do TSS (posição +1). Em procaríotos, subunidades proteicas denominadas fatores  $\sigma$  ligam-se à RNAP e interferem na ligação com o promotor. Assim, a identificação dos nucleotídeos constituintes do promotor auxiliam no estudo da regulação gênica. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi analisar a composição de nucleotídeos de promotores relacionados aos fatores  $\sigma$  alternativos de *Escherichia coli*, considerando apenas a composição nucleotídica de cada sequência. Para isso, 1306 sequências relacionadas aos fatores  $\sigma_{24}$ ,  $\sigma_{28}$ ,  $\sigma_{32}$ ,  $\sigma_{38}$  e  $\sigma_{54}$  foram extraídas do banco de dados RegulonDB, codificadas em valores numéricos conforme metodologia descrita na literatura e submetidos à um algoritmo de clusterização K-means, o qual depende de um valor K (previamente informado), equivalente ao número de clusters desejado. Análises foram feitas utilizando um valor K=8 até 24, sendo cada teste avaliado de acordo com sua pureza média (número de sequências de um mesmo  $\sigma$  agrupadas em um mesmo cluster). Posteriormente, a visualização dos motivos consensuais foi feita utilizando a ferramenta WebLogo. A maior pureza média foi com K=20, sendo que 7 clusters apresentaram o  $\sigma_{24}$  como fator dominante; 3  $\sigma_{28}$ ; 5  $\sigma_{32}$ ; 3  $\sigma_{38}$  e 2  $\sigma_{54}$ . Como resultado, observou-se que foram obtidos mais de um padrão por fator  $\sigma$ , o que sugere uma sobreposição na função dos genes relacionados aos promotores. Sabe-se que promotores reconhecidos pelo mesmo fator  $\sigma$  podem exibir funções biológicas distintas, considerando seus respectivos genes. Da mesma forma, dois genes com funções similares podem exibir promotores reconhecidos por fatores diferentes. A sobreposição se dá pela similaridade entre estruturas de DNA que surgem levando em conta apenas sequências nucleotídicas. Além disso, nota-se que um certo grau de degeneração das regiões consenso é tolerado no processo de transcrição. Estabelecer os distintos perfis encontrados auxilia no desenvolvimento de ferramentas relacionadas à predição de promotores. Neste caso, ferramentas provavelmente obterão melhores resultados se levarem em consideração os distintos perfis aqui descritos.

**Palavras-chave:** Bioinformática; Clusterização; Sequências Promotoras; *Escherichia coli*.

## Caracterização química do resíduo pó de tabaco para emprego em bioprocessos

Joyce Cristina Gonçalves Roth<sup>1</sup>, L. B. Benitez<sup>1</sup>, M. Hoeltz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Santa Cruz do Sul - Unisc

**Resumo:** Uma gestão eficiente dos resíduos dos diversos processos produtivos é uma premissa obrigatória de acordo com a legislação ambiental vigente e é de responsabilidade das indústrias geradoras desenvolver/modificar processos ou buscar soluções sustentáveis para essa questão. Este trabalho teve como objetivo analisar as propriedades químicas do pó de tabaco procurando identificar seu potencial de uso em bioprocessos. A amostra do resíduo pó de tabaco foi cedida por uma indústria fumageira, do município de Santa Cruz do Sul/RS. O teor de umidade, proteínas, cinzas, lipídeos e metais foram determinados por métodos clássicos. A determinação dos açúcares foi feita através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) (Shimadzu) com detector RID-20A, e a interpretação dos dados analíticos, através do software RealTime Analyses (GPC-System). O teor de lignina presente na amostra, foi determinado através da filtração a vácuo do conteúdo presente no interior do frasco Schott, e secagem do material retido no filtro em estufa a 45°C até peso constante. Um perfil cromatográfico dos compostos presentes na amostra foi obtido a partir do infravermelho (4.000 a 600 cm<sup>-1</sup>). Em relação aos principais metais, a amostra apresentou os teores (mg/mL) de Ca, K, Al, Fe, Mn e Zn equivalentes a 296,43; 305,70; 94,69; 40,80; 5,76 e 0,96 respectivamente, pH 7,17, teor de umidade inferior a 1%, ~ 60% de cinzas e valores percentuais (%) de lípidos, proteínas, celulose e lignina equivalentes a 3,215 ± 0,088; 20,125 ± 0,195; 30.184 ± 2.284 e 38.751 ± 7.137, respectivamente. As concentrações de metais, valor de pH e demais análises diferem daquelas encontradas em outros trabalhos. Isso pode ser justificado pela natureza mista do resíduo pó de tabaco, com proporções distintas de talo e folha, o que contribui para essa diferenciação. Conclui-se que o resíduo pode ser utilizado como substrato para o crescimento microbiano, devido à presença de açúcares fermentescíveis e ausência de metais em níveis potencialmente nocivos ao desenvolvimento biótico.

**Palavras-chave:** Bioprocessos, Propriedade Química, Pó de Tabaco.

## O uso de padrões moleculares para análise da identidade taxonômica das três espécies de *trichoderma* spp. no produto icb nutrisolo *trichoderma*

Aícha Daniela Ribas<sup>1</sup>, A. T. S. Matsumura<sup>1</sup>, A. S. Matsumura<sup>1</sup>, A. S. Matsumura<sup>1</sup>, L. M. Fiuza<sup>1</sup>, D. L. Berlitz<sup>1</sup>, G. Pauli<sup>1</sup>, M. H. Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ICB BIOAGRITEC LTDA

**Resumo:** O produto ICB NUTRISOLO TRICHODERMA é uma inovação na linha de inoculantes agrícolas no Brasil sendo o primeiro e único a base de três espécies de *Trichoderma* spp. registrado no MAPA. A tecnologia desenvolvida pela ICB BIOAGRITEC Ltda visa selecionar microrganismos de interesse agrícola para o desenvolvimento de produtos diferenciados. O referido inoculante é composto de oito cepas de três espécies do fungo *Trichoderma* (*T. asperellum*, *T. harzianum* e *T. koningiopsis*) sendo constituído de 3, 4 e 1 cepas respectivamente. O agrupamento das cepas no produto com diferentes funções apresentam compatibilidade entre si e sinergismo em seus mecanismos maximizando a eficiência agrônômica sob diferentes condições ambientais. Essa diversidade biológica gerou a necessidade do desenvolvimento de um método mais preciso para a detecção das espécies presentes no produto, visto que os caracteres morfológicos não são suficientes para diferenciação das mesmas pelos métodos microbiológicos convencionais. Assim, este trabalho objetiva relatar um “case” de sucesso empregado na empresa ICB BIOAGRITEC Ltda que permite a detecção específica de cada espécie de *Trichoderma* que compõem o produto ICB NUTRISOLO TRICHODERMA. As três espécies de *Trichoderma* foram cultivadas separadamente para extração do DNA e posterior seqüenciamento. Na continuidade foi projetado um par de primer específico para cada uma das três espécies de *Trichoderma*. Os primers selecionados foram testados no produto formulado produzindo bandas de 507pb para *T. asperellum*, 311 pb para *T. harzianum* e 307pb para *T. koningiopsis*. Nenhuma reação cruzada foi verificada entre as diferentes espécies, o que indica que o protocolo para confirmação da identidade taxonômica das espécies no produto ICB NUTRISOLO TRICHODERMA encontra-se otimizado e validado como ferramenta rápida e eficiente de detecção, garantindo a presença das espécies no produto final e atestando sua qualidade. O método tem potencial para ser utilizado como rotina juntamente com a análise microbiológica, quantitativa e qualitativa, possibilitando a certificação da qualidade do produto final.

**Palavras-chave:** Bioprocesso, *Trichoderma*, PCR, Sequenciamento.

## Pré-tratamento de casca de arroz com líquido iônico [C16MIM][Br]

Patrícia Daniela Bohn<sup>1</sup>, R. C. Kuhn<sup>1</sup>, F. D. Mayer<sup>1</sup>, H. A. Rech<sup>1</sup>, F. S. Feltrin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

**Resumo:** A região central do Rio Grande do Sul é tida como grande produtora nacional de arroz, cuja casca apresenta-se como um resíduo lignocelulósico com grande poder de aplicação para a produção de etanol de segunda geração (E2G). Neste sentido, o pré-tratamento de biomassa é fundamental nos processos E2G, e os líquidos iônicos (LIs) têm sido estudados na obtenção de açúcares fermentescíveis. No pré-tratamento da biomassa lignocelulósica, a lignina, uma matriz polimérica complexa que confere rigidez à parede celular, é separada da celulose e hemicelulose, biopolímeros naturais formados por unidades de glicose e xilose, tornando estes mais acessíveis às enzimas que realizam a conversão em glicose na etapa de hidrólise. Os líquidos iônicos são sais orgânicos e inorgânicos com baixo ponto de fusão e apresentam propriedades relevantes como não-inflamabilidade e biodegradabilidade atuando sobre a biomassa lignocelulósica quebrando sua estrutura rígida e removendo a lignina presente. Alguns LIs já são descritos no pré-tratamento de diferentes tipos de biomassas, como [BMIM][Cl], [EMIM][Cl], [EMIM][OAc] com resultados promissores. Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar o pré-tratamento de casca de arroz utilizando o líquido iônico [C16MIM][Br]. A casca de arroz foi submetida a um pré-tratamento com [C16MIM][Br] em meio aquoso, com a proporção de 1 g de LI em 27 mL de água deionizada e carga de biomassa de 10 % (previamente moída a partículas de 150 µm), inseridos em autoclave e submetidos à uma temperatura de aproximadamente 148 °C. Após 12 horas de pré-tratamento, o líquido iônico foi removido por centrifugação. A biomassa foi lavada e seca, e então hidrolisada com a enzima celulase (Celluclast, Novozymes) por 72 horas. Os açúcares foram determinados por DNS (ácidos 3,5 dinitrosalicílico), resultando em um rendimento de hidrólise de 58,7 %. O rendimento obtido a partir da hidrólise da biomassa in natura sem pré-tratamento foi de 3,5%, portanto, é possível verificar que houve um aumento significativo, demonstrando que o pré-tratamento da casca de arroz com o líquido iônico foi efetivo. A biomassa foi caracterizada por Espectrometria Infravermelha com Transformada de Fourier que ilustrou a remoção de lignina e sílica, demonstrando que a utilização de [C16MIM][Br] no pré-tratamento de biomassa pode ser uma alternativa na produção de etanol de segunda geração.

**Palavras-chave:** Casca de arroz, líquido iônico, etanol de segunda geração.

## Utilização de leveduras encapsuladas para elaboração de espumante pelo método champenoise

Daiane Simonaggio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** O método tradicional de elaboração de espumante, o Champenoise, é o processo cujo surgimento do gás carbônico se deve pela segunda fermentação ocorrer em garrafas. Terminada a fermentação a garrafa fica em caves para maturação. As leveduras e os resíduos gerados durante a segunda fermentação são chamadas de borras, e devem ser eliminadas, assim realiza-se a limpeza colocando o recipiente inclinado em pupitres, a garrafa é girada um quarto de volta três vezes ao dia, de maneira manual, para que as borras decantem para o gargalo, esse processo pode levar até 60 dias. Em seguida é realizado o degorgement, que é o congelamento do gargalo e retirada da sujidade do espumante. Para diminuir o tempo de limpeza do espumante na garrafa, novas tecnologias vêm surgindo. O uso de leveduras encapsuladas se mostra uma alternativa viável para agilizar esse processo. O objetivo deste trabalho é realizar uma revisão bibliográfica sobre o uso de leveduras encapsuladas na elaboração de vinho espumante pelo método Champenoise, suas peculiaridades e benefícios. Para isso usou-se como metodologia a pesquisa qualitativa, com busca de informações em periódicos, livros e endereços eletrônicos. Para imobilizar levedura é realizado a desidratação e após revestir, geralmente com alginato, substância permeável que permite a troca de substratos após as transformações da fermentação. A etapa de inoculação e ambientação da levedura é eliminada. A levedura é colocada diretamente no vinho base. O microrganismo apresenta a vantagem de ser facilmente introduzido e retirado do processo. A levedura imobilizada é inserida na garrafa, realiza a fermentação, não sendo necessário a etapa de remuage, visto que ao colocar a garrafa na posição vertical as cápsulas deslocam-se rapidamente para o gargalo. Como os microrganismos estão dentro da cápsula a bebida permanece límpida toda a fermentação, não havendo formação de borras. A permeabilidade permite a entrada dos açúcares e nutrientes que a levedura necessita e a saída do álcool e do gás carbônico formado. Tem-se um grande ganho em tempo de elaboração da bebida, assim como em mão de obra. Outro benefício importante é a disponibilidade do espaço físico da vinícola, visto que não é necessário o uso de pupitres para a limpeza do espumante. Conclui-se que o uso da levedura encapsulada permite a disponibilidade imediata da bebida no mercado e facilidade na logística de produção, diminuindo mão de obra e necessidade de espaço disponível na empresa.

**Palavras-chave:** Espumante, fermentação, levedura, capsulas.

## Extração de DNA Bacteriano: comparativo de kit comercial versus kit in house

Nayanna Dias Bierhals<sup>1</sup>, J. D. P. Renner<sup>1</sup>, K. S. Silva<sup>1</sup>, B. Brixner<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Santa Cruz do Sul - Unisc

**Resumo:** Em relação a composição da parede celular bacteriana, sabe-se que as bactérias Gram positivas possuem uma camada de peptidoglicano mais espessa e rígida que as Gram negativas, podendo influenciar na extração do material genético. Com o avanço dos métodos moleculares, novas técnicas de extração de DNA estão sendo realizadas, visando reduzir a presença de substâncias inibitórias e garantir um DNA de boa qualidade e, assim, assegurar o sucesso da reação e minimizar resultados falsos-negativos. O objetivo deste estudo foi comparar duas técnicas de extração de DNA para bactérias Gram positivas e negativas; avaliar a qualidade do DNA extraído, bem como seu desempenho em Reações em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR). Cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) foram inoculadas em caldo BHI e incubadas a 37°C por 24 h. Após, as amostras foram semeadas em Ágar Mueller Hinton e incubadas a 37°C por 24 h. Para ambas as extrações, foram utilizadas 10 colônias bacterianas. A primeira extração foi realizada utilizando o kit comercial PureLink® Genomic DNA Mini Kit, conforme instruções do fabricante. Já a segunda, foi realizada através do kit in house (CPTBio DNA Extraction II), elaborado pelo grupo de pesquisa, conforme protocolo. Também, avaliou-se as amostras por espectrofotometria no NanoDrop® 2000c e realizou-se qPCR utilizando o sistema TaqMan. Em relação a qualidade do DNA, as amostras apresentaram valores próximos, em que a média das relações 260/280 e 260/230 foram, respectivamente, para: kit comercial (1,83 e 1,22) e kit in house (1,77 e 1,89). Em ambas relações, os resultados encontravam-se próximos aos valores recomendados (1,8 e 2). Os valores de Ct obtidos na qPCR foram próximos para os dois protocolos de extração testados, em que para o kit comercial e o kit in house os valores foram, respectivamente, de: *Staphylococcus aureus* - 24,91 e 25,73; *Escherichia coli* - 27,18 e 27,62; *Pseudomonas aeruginosa* - 30,02 e 30,79. Através dos resultados obtidos, pode-se observar que o DNA extraído, em ambos os protocolos, foi de qualidade e com baixa presença de inibidores. Também se obteve resultados satisfatórios na detecção de DNA pela qPCR, indiferente do Gram bacteriano. Além disso, o kit in house apresenta menor custo, podendo ser considerado na rotina laboratorial para extração de DNA de bactérias Gram positivas e negativas.

**Palavras-chave:** Extração de DNA, DNA bacteriano, PCR em tempo real.

## Extração com fluido supercrítico de compostos antioxidantes produzidos pelo fungo *Diaporthe schini*

B. V. da Rosa<sup>1</sup>, R. C. Kuhn<sup>1</sup>, K. R. Kuhn<sup>1</sup>, G. S. Sauzem<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

**Resumo:** Fungos endofíticos vêm sendo estudados para a produção de compostos bioativos. O fungo *Diaporthe schini* tem se destacado na produção de compostos com propriedades bioherbicidas, antifúngicas, antibacterianas e antioxidantes. Para a sua extração, diferentes métodos podem ser aplicados, podendo-se destacar a extração com dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) supercrítico, o qual apresenta alta seletividade, permite uma redução do uso de solventes orgânicos, além de ser considerado seguro por não ser tóxico nem inflamável. O objetivo deste trabalho foi extrair compostos antioxidantes a partir da biomassa do fungo *Diaporthe schini* utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico. Para a obtenção da biomassa foi realizada uma fermentação submersa a 28 °C, 120 rpm por 7 dias, utilizando meio composto por 17,05 % de água de maceração de milho, 20 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 2,0 g.L<sup>-1</sup> de sulfato de amônio, 1,0 g.L<sup>-1</sup> de sulfato ferroso hepta-hidratado, 1,0 g.L<sup>-1</sup> de sulfato de manganês mono-hidratado e 0,5 g.L<sup>-1</sup> de sulfato de magnésio hepta-hidratado, e pH inicial ajustado para 6,0. Ao final da fermentação a biomassa foi separada do caldo por centrifugação, liofilizada e macerada. Os experimentos de extração foram realizados com 5 g de biomassa e a temperatura (40 - 60 °C) e pressão (150 - 250 bar) foram avaliadas durante 45 minutos de extração. O rendimento de extrato e a atividade antioxidante utilizando o radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) foram determinados. O maior rendimento (1,34 %) e a maior capacidade antioxidante (41,44 %) foram obtidos na maior temperatura (60 °C) e maior pressão (250 bar) avaliadas. O aumento da pressão pode ter proporcionado uma melhor permeabilidade do solvente na matriz sólida e o aumento da temperatura pode ter favorecido o rendimento da extração, pois a influência da pressão de vapor se sobrepõe à influência da densidade do solvente, aumentando a solubilidade dos extratos no solvente. Os resultados indicaram que a atividade antioxidante pode estar diretamente relacionada ao rendimento da extração, uma vez que foi observado um aumento do efeito antioxidante com o aumento do rendimento. Os resultados obtidos no trabalho sugerem a capacidade do fungo avaliado de produzir compostos com atividade antioxidante e também evidenciam a seletividade da técnica de extração supercrítica com CO<sub>2</sub> como solvente.

**Palavras-chave:** Fermentação submersa, *Diaporthe schini*, extração supercrítica, atividade antioxidante.

# Concepção de linhagens de *Penicillium Echinulatum* Hiperprodutoras de coquetéis enzimáticos

Alexandre Rafael Lenz<sup>1</sup>, A. J. P. Dillon<sup>2</sup>, M. Camassola<sup>2</sup>, S. de Ávila e Silva<sup>2</sup>, F. P. de Abreu<sup>2</sup>, N. S. de Oliveira<sup>2</sup>, E. Balbinot<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Estado da Bahia

<sup>2</sup>Universidade de Caxias do Sul - UCS

**Resumo:** *Penicillium* é um dos gêneros de fungos mais utilizados na biotecnologia e *Penicillium echinulatum* destaca-se como um importante secretor de enzimas celulolíticas. A linhagem selvagem 2HH foi isolada de larvas de coleópteros na cidade de Caxias do Sul. Esta espécie vem sendo estudada há cerca de 40 anos e a linhagem SIM29, obtida por mutagênese em 2011, revelou-se uma eficiente produtora de enzimas celulolíticas. O sequenciamento dos genomas dessas linhagens permitiu a identificação dos principais genes envolvidos na despolimerização de celulose: celobiohidrolases (3 genes), endoglicanases (9 genes),  $\beta$ -glicosidases (10 genes) e monooxigenases líticas de polissacarídeos (4 genes). Este trabalho tem como objetivo a identificação de mecanismos de regulação que atuam na expressão de enzimas celulolíticas em *P. echinulatum*, a fim de promover o planejamento adequado do melhoramento de linhagens. A identificação de potenciais alvos de engenharia envolveu a análise da literatura, análise de resultados experimentais em fungos relacionados e o mapeamento de mecanismos reguladores a partir de ortólogos e homólogos. O produtor comercial de celulases *P. oxalicum* e *P. echinulatum* possuem perfis genômicos similares, os proteomas compartilham 7634 proteínas ortólogas e a identidade média das proteínas é 83,74%. Essa semelhança sugere que os mecanismos reguladores também possam ser similares. Destaca-se a engenharia de  $\beta$ -glicosidases, uma estratégia eficiente para desencadear o aumento da expressão de celulases, conforme demonstrado em *T. reesei* e *P. oxalicum*. Em *P. echinulatum*, foram mapeados genes transportadores: 12 de glicose e 3 de celodextrinas. Também foram identificadas  $\beta$ -glicosidases intracelulares: 4 da família GH3 e 3 da família GH1. Todos com ortologia e alta homologia em relação a *P. oxalicum* ou *T. reesei*. As  $\beta$ -glicosidases intracelulares BGL2 e BGL8 hidrolisam a celobiose intracelular em glicose, reprimindo o sistema celulolítico em *P. oxalicum*, sendo que a deleção de *bgl2* induziu a expressão de celulases neste fungo. Assim, sugere-se a utilização de CRISPR-cas9 focando na edição gênica de  $\beta$ -glicosidases intracelulares e transportadores de açúcares em *P. echinulatum*. A atividade extracelular de  $\beta$ -glicosidases deve ser mantida, enquanto que a intracelular deve ser reduzida. Este estudo provê direcionamentos para o programa de melhoramento genético a fim de obter linhagens hiperprodutoras de celulases, possibilitando seu uso comercial como biofábrica enzimática.

**Palavras-chave:** hidrolases, regulação gênica, biofábrica.

## Desenvolvimento e caracterização de um protótipo de escaneamento por bioimpedância elétrica (ebe) para diagnóstico da Mastite Bacteriana

Marcelo Rocha Gisch<sup>1</sup>, W. C. Oliveira<sup>1</sup>, C. W. Carvalho<sup>1</sup>, R. H. Neuenfeld<sup>1</sup>, L. C. Ayres<sup>1</sup>, R. W. Porto<sup>1</sup>, A. M. Geller<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, Câmpus Lajeado (RS),

**Resumo:** O escaneamento por bioimpedância elétrica (EBE) é uma técnica que se baseia na resposta diferenciada dos materiais biológicos à aplicação de uma corrente elétrica de excitação. Possui características como: não ser uma técnica invasiva, ser portátil e de fácil manuseio, boa reprodutibilidade, custos baixos e alta velocidade de processamento de dados. Nesse contexto, as análises de bioimpedância tem se tornado uma alternativa muito atrativa em diversas áreas da ciência, como estudos clínicos e epidemiológicos. A mastite é uma doença infecciosa que causa prejuízos na agroindústria por diminuir a produção e a qualidade do leite devido as alterações microbiológicas, físico-químicas, sensoriais e na composição centesimal. Pode apresentar riscos à saúde do consumidor devido a presença de micro-organismos patogênicos e de suas toxinas no produto final, assim como da presença de resíduos antimicrobianos utilizados durante o tratamento do animal. Objetivou-se desenvolver e caracterizar um protótipo de EBE para diagnóstico rápido e preciso da mastite bacteriana em leite de vaca. As peças do protótipo, onde foram instalados eletrodos (ECG), foram desenvolvidas no software SolidWorks e impressas em 3D utilizando filamento de ABS. O protótipo consiste em uma estrutura cilíndrica com dimensões de 200 mm de diâmetro e 150 mm de altura onde foi incorporado o canal de medição multiplexado com os eletrodos dispostos em faixa. Um condutivímetro foi utilizado para mensurar a condutividade elétrica e a temperatura. A frequência de aplicação da corrente elétrica foi variada entre 1 kHz e 1 MHz. Na caracterização do protótipo foi utilizada solução salina (0,01 - 2,0 molar) e leite (integral, semidenatado e denatado) em diferentes diluições. Os resultados demonstraram que independente da frequência utilizada a impedância reduz com o aumento da concentração. Em uma varredura em frequência observou-se que quanto maior a frequência, menor a impedância. Além disso, o ângulo de fase aumenta, indicando que existe uma parcela capacitiva presente na amostra. O protótipo respondeu ao que se espera de um modelo resistivo e capacitivo, com resultados coerentes aos dados da literatura científica, e mostrou ser uma ferramenta promissora para trabalhos posteriores de detecção e quantificação bacteriana em leite. Esperamos contribuir para o desenvolvimento de um protótipo para monitoramento da saúde animal, de parâmetros físicos, químicos e biológico e de uma pecuária mais tecnificada.

**Palavras-chave:** Impedância elétrica, medidas de bioimpedância, mastite na fazenda, quantificação bacteriana, leite.

## Aproveitamento de levedura residual cervejeira como alternativa nutricional em meio de cultivo

Cíntia Janini Pott Siega<sup>1</sup>, S. H. Duarte<sup>1</sup>, J. L. Maia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande - FURG

**Resumo:** A cerveja é a bebida obtida em processo de fermentação alcoólica pela ação de leveduras no mosto cervejeiro. Estes micro-organismos podem ser reutilizados em novos processos fermentativos pelas cervejarias, porém o número de reutilizações é limitado devido à perda de viabilidade celular, comprometendo a qualidade da bebida. Ao se esgotar a possibilidade de reuso das células, a biomassa é majoritariamente destinada para ração animal. Alternativamente estas células podem apresentar destinos diferentes devido ao potencial nutricional ainda presente na biomassa residual do processo cervejeiro. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de levedura residual cervejeira como fonte de nutrientes em cultivos da levedura *Yarrowia lipolytica* NRRL Y-1095. Para isto foram estudados diferentes tratamentos na biomassa residual de *Saccharomyces* a fim de obter diferentes frações de material celular para aplicação como suplementos, especialmente fonte de nitrogênio, em cultivos de levedura. Os tratamentos avaliados foram: autoclave (121°C, 15 minutos) e congelamento e descongelamento (10 ciclos) seguido de autoclave (121°C, 15 minutos). Após os tratamentos as duas frações (sobrenadante e sedimento) foram separadas e liofilizadas. Os cultivos da levedura *Yarrowia lipolytica* foram conduzidos em meio composto por (g L<sup>-1</sup>): 30,0 glicerol bruto; 7,0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2,5 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 1,5 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,15 CaCl<sub>2</sub>; 0,15 FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O; 0,02 ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,06 MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 0,5 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e 0,5 da fonte de nitrogênio avaliada (frações celulares). Os cultivos foram conduzidos em frascos Erlen agitados à 30°C e 180 rpm durante 192 horas e acompanhados quanto ao crescimento celular. O cultivo realizado com a fração sobrenadante do tratamento congelamento/descongelamento seguido de autoclave apresentou a concentração de 9,0 g L<sup>-1</sup> de biomassa ao final do cultivo, sendo superior a biomassa obtida com os demais cultivos. Sendo assim, através de tratamentos simples, é possível realizar um maior aproveitamento dos nutrientes presentes na biomassa residual de processos cervejeiros e destiná-los como fonte alternativa de meio de cultivo.

**Palavras-chave:** levedura, cervejaria, *Saccharomyces*.

## Isolamento e identificação de leveduras selvagens não-convencionais

Gustavo Retzlaf Maas<sup>1</sup>, F.P.L.Leite<sup>1</sup>, D.D.Lima<sup>1</sup>, V.S. Gonçalves<sup>1</sup>, R.E.A.Piraine<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal De Pelotas - UFPel

**Resumo:** O uso de leveduras não-convencionais (ou não-Saccharomyces) em bioprocessos cresce anualmente. Na busca pela criação de novos produtos para um mercado cada vez mais exigente, cervejarias artesanais desenvolvem cervejas de fermentação espontânea ou utilizando leveduras selvagens. Estima-se que mais de 1.500 espécies dessas leveduras possuem potencial para aplicação industrial, visto que além da produção de metabólitos específicos, também são exploradas quanto sua capacidade de produzir baixos níveis de etanol e principalmente por atribuir complexidade em aroma e sabor ao produto final. Distribuídas amplamente na natureza em sua forma selvagem e “não domesticada”, essas leveduras precisam ser isoladas e caracterizadas, para que assim se obtenham culturas starter de processo fermentativo conhecido e possível de ser controlado. O objetivo deste trabalho foi isolar e identificar leveduras selvagens a partir de frutas e flores, utilizando técnicas de microbiologia básica e biologia molecular. Partes extraídas e swabs de frutas como pitanga, amora, morango, laranja, butiá, pitaya e plantas como videira e orquídea, foram inoculadas em extrato de malte líquido com densidade 1.044 g/mL e pH 6, então incubadas a 28 °C por 48 h. Após, foi realizado o repique das amostras em meio Wort Agar 2% adicionado do antibiótico ampicilina (1 mg/mL), sendo incubado novamente a 28 °C por 48 h. Com o isolamento de diferentes colônias, essas foram inoculadas em meio YM líquido (Yeast extract and Malt extract) para extração do DNA e criopreservação em glicerol 20%. Após quantificação, foi realizada a técnica de PCR utilizando iniciadores para a região ITS (Internal Transcribed Spacer) que compreende o gene nuclear 5.8S rRNA. O produto da amplificação foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1% e ao sequenciamento, o qual teve seu resultado utilizado na ferramenta online Blastn. Foram identificados isolados das leveduras *Hanseniospora uvarum*, *Candida intermedia* e *Pichia kluyveri*, leveduras já descritas na literatura como microrganismos com grande potencial para aplicação na produção de cervejas de baixo teor alcoólico, de perfil ácido/azedo e ainda apresentando novos aromas. Concluímos que foi possível isolar e identificar leveduras não-convencionais obtidas em seu ambiente natural, tendo como perspectivas futuras do trabalho a caracterização do processo fermentativo e aplicação das novas cepas na produção de cerveja.

**Palavras-chave:** Levedura não-convencional, Isolamento, Identificação, Cerveja.

# Estudos bioquímicos, biofísicos e estruturais de uma Feruloil-CoA sintetase e suas aplicações biotecnológicas

Otávio Augusto Leitão dos Santos<sup>1</sup>, F. M. Squina<sup>2</sup>, W. Garcia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do ABC

<sup>2</sup>Universidade de Sorocaba

**Resumo:** A biomassa lignocelulósica compõe a parede celular vegetal e é a fonte de carbono mais abundante da Terra, tornando-se de grande interesse econômico. Formada principalmente pela celulose, hemicelulose e lignina; ela pode ser aplicada em diversos processos industriais como recursos alternativos para a produção de combustíveis e outros produtos químicos. No entanto, sua utilização ainda possui limitações tecnológicas e econômicas, incluindo recuperação de matéria-prima, pré-tratamento da biomassa, hidrólise enzimática, tratamento de subprodutos e rejeitos, otimização de fermentação e separação de biocombustíveis. Nesse contexto, a valorização da lignina surge com uma alternativa a melhorar o custo-benefício do uso da matéria lignocelulósica. A lignina consiste em um polímero tridimensional composto de vários anéis aromáticos estavelmente ligados, característica que o torna um dos materiais mais recalcitrantes da natureza. A lignina se encontra fortemente associada a polissacarídeos da parede celular, o que dificulta seu aproveitamento e praticamente inviabiliza seu isolamento na forma não alterada. Portanto, torna-se importante a descoberta de vias metabólicas e suas enzimas que visam a conversão da lignina em produtos com valor agregado. A exemplo disto, o ácido ferúlico é precursor da subunidade guaiacil na biossíntese de lignina e tem sido estudado para a produção de vanilina, que possui alto valor agregado, e outros bioprodutos, como bioplásticos a partir da matéria lignocelulósica. Dessa forma, identificamos a partir de metagenômica do solo de uma plantação de cana-de-açúcar uma nova enzima Feruloil-CoA sintetase que atua convertendo o ácido ferúlico em feruloil-CoA, que pode ser associada a consórcios enzimáticos para a formação de outros produtos. Atualmente, há uma grande lacuna nas propriedades biofísicas e estruturais desta classe de enzimas. Neste estudo, propomos a expressão da proteína recombinantes em *E. coli* e purificação por método cromatográficos, caracterização por técnicas espectroscópicas e juntamente com ensaios bioquímicos, ampliando o conhecimento sobre ela e avaliando seu potencial em aplicações biotecnológicas.

**Palavras-chave:** lignina, ácido ferúlico, Feruloil-CoA sintetase.

## Reativação e Caracterização de Probióticos comerciais liofilizados

Franciele Maria Gottardo<sup>1</sup>, L.R. dos Santos<sup>1</sup>, E. Mistura<sup>1</sup>, B. Webber<sup>1</sup>, A. C. S. dos Passos<sup>1</sup>, C. V. T. Riguetto<sup>1</sup>, L. Manto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Passo Fundo - UPF

**Resumo:** INTRODUÇÃO: Segundo FAO/WHO, probióticos são microrganismos vivos que exercem um efeito benéfico na saúde do consumidor. Não apresentam toxicidade, são resistentes ao processamento, possuem velocidade de crescimento, produzem substâncias antimicrobianas, inibindo os microrganismos patogênicos. Utilizados na indústria de alimentos e farmacêutica, são indicados para prevenção e tratamento de diarreias, causadas pelo uso de antibióticos, rotavírus, bem como de doenças atópicas, autoimunes e câncer. OBJETIVOS: Reativar e confirmar a caracterização fenotípica e bioquímica de bactérias probióticas liofilizadas para futuros trabalhos. METODOLOGIA: O projeto foi desenvolvido na Universidade de Passo Fundo (UPF) e as bactérias probióticas liofilizadas adquiridas de laboratórios especializados. Após o crescimento das bactérias, as colônias foram selecionadas e a coloração de Gram e testes bioquímicos realizados para confirmação da espécie. A atividade hemolítica das bactérias probióticas foi realizado através de plaqueamento. RESULTADOS E DISCUSSÃO: Todas as cepas de bactérias probióticas confirmaram suas características fenotípicas e bioquímicas. Os *Lactobacillus paracasei* e *L. acidophilus* não apresentaram atividade hemolítica, confirmando que são seguras para a utilização em superfícies. Já as cepas de *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. curvatus*, *L. reuteri*, *L. fermentum*, *L. bulgaricus*, *L. delbueckii* sub. *bulgaricus* apresentaram atividade hemolítica parcial, podendo ser um indicativo de adaptação genética de virulência das cepas. O ensaio da atividade hemolítica das cepas de bactérias ácido lácticas, é um indicativo de produção de biosurfactante, quando apresentam hemólise completa é um indicativo da síntese deste composto pelo metabolismo celular. Nestes casos, as cepas são consideradas impróprias para o consumo, já que podem atacar o hospedeiro e facilitam a entrada de agentes patogênicos. Considera-se assim, a possibilidade da produção in vitro dessas substâncias para posterior administração em animais e humanos. CONSIDERAÇÕES FINAIS: Bactérias probióticas podem ser utilizadas para o controle de bactérias patogênicas, no entanto, devem apresentar suas características genéticas e fenotípicas ativas. Quando conservadas a partir do processo de liofilização podem sofrer injúrias e não expressar suas características fenotípicas adequadamente, então é importante reativar suas cepas e verificar se a expressão genética está compatível com o fenótipo descrito.

**Palavras-chave:** Probiótico, liofilização, bactérias.

## Avaliação da concentração inibitória mínima do extrato etanólico de própolis de abelhas nativas do RS frente à *Staphylococcus aureus*

Ani Caroline Weber<sup>1</sup>, E. M. Ethur<sup>1</sup>, T. Scheibel<sup>1</sup>, B. Buhl<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

**Resumo:** A própolis é produzida pelas abelhas para as mais variadas funções na colmeia, inclusive para defendê-la de microrganismos. É conhecida na medicina popular por suas propriedades biológicas, como atividade antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória. A propriedade antimicrobiana de diferentes tipos de própolis é amplamente relatada em estudos e pesquisas, sendo destacada sua ação contra bactérias gram-positivas, como por exemplo, a *Staphylococcus aureus*. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) do extrato etanólico de própolis de abelhas nativas do Rio Grande do Sul frente à *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* é uma bactéria esférica, do grupo dos cocos Gram-positivos, não esporulada e geralmente não encapsulada, frequentemente encontrada em diversas partes do corpo, como fossas nasais, garganta, intestinos e pele. Este patógeno pode provocar doenças que vão desde pequenas infecções (acnes e furúnculos), até infecções graves (pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico e sepse), afetando recém-nascidos, crianças e adultos. Além disso, as diferentes cepas de *S. aureus* vêm sofrendo mutações, tornando-se mais resistentes aos antibióticos já conhecidos. A partir disto, percebe-se a importância da busca por novos compostos e substâncias, capazes de auxiliar no combate deste patógeno, sendo a própolis uma possível opção. A amostra de própolis foi coletada em colmeias de abelhas nativas do RS e a partir dela realizou-se a extração, empregando-se etanol. A atividade antimicrobiana foi realizada utilizando-se placas de 96 poços, sendo o extrato testado nas concentrações de 20 mg/mL a 0,625 mg/mL. Foi utilizada a cepa ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus*. Observou-se que na concentração de 20 mg/mL, o extrato testado apresentou efeito bactericida, e nas concentrações entre 10 mg/mL e 2,5 mg/mL, efeito bacteriostático. Em concentrações abaixo de 2,5 mg/mL não foram observadas atividades frente ao microrganismo. Conclui-se assim que o extrato testado possui atividade antimicrobiana contra o microrganismo utilizado, possuindo atividade bactericida em concentrações mais elevadas e atividade bacteriostática em concentrações inferiores.

**Palavras-chave:** Própolis, Concentração inibitória mínima, *Staphylococcus aureus*.

# Análise da Tetramerização da Proteína CD38 por meio de Docking Molecular

Silvana Juliatti<sup>1</sup>, J. C. dos Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - FMRP-USP

**Resumo:** Introdução: A proteína de membrana CD38 (ADP-ribosil ciclase/ADP-ribose cíclico hidrolase 1) pertence a uma família de proteínas evolutivamente conservada que desempenha papel crucial na fisiologia humana. Identificada como molécula de superfície de leucócitos, é considerada uma proteína multifuncional amplamente expressa dentro e fora do sistema imunológico. A proteína CD38 mostra-se um importante marcador para doenças como diabetes, leucemia, mieloma, asma e na patogênese da infecção pelo HIV. O gene da proteína CD38 está localizado na banda p15 do cromossomo 4(4p15) humano, constituído por 8 exons. CD38 foi relatada como uma única cadeia de 45 Kda com cadeias de oligossacarídeo ligadas a resíduos de asparagina, desempenhando importante papel na estabilização de sua estrutura. Composta por um pequeno domínio citoplasmático, um domínio transmembrana e um grande domínio extracelular que contém seu sítio catalítico, a CD38 humana tem sido demonstrada, por peso molecular, existindo na forma dimérica e tetramérica, sendo sugerido que a justaposição transmembrana de dois ou quatro monômeros da molécula possa gerar um canal cataliticamente ativo para a formação seletiva e influxo de seu produto enzimático. Objetivo: Tendo em vista a relevância da proteína CD38 na homeostase celular e a importância da oligomerização em sua diversidade funcional, o presente trabalho teve por objetivo prever a orientação preferencial da tetramerização da CD38 humana com sua cadeia polipeptídica da porção extracelular por meio de docking molecular. Metodologia: Um método de docking direcionado (HADDOCK 2.2) foi utilizado e, informações experimentais da literatura e cristais da proteína CD38 foram de grande importância no direcionamento. Resultados e Discussão: Foi demonstrada a importância das regiões de  $\alpha$  hélice 1 na formação de dímeros e das  $\alpha$  hélices 2, 4, 6 e 9, além da região de alça entre a cadeia  $\beta$  5 e  $\alpha$  hélice 8 na formação de dímeros e tetrâmeros compatíveis com a associação na membrana e energeticamente possíveis, como classificado pelo método HADDOCK 2.2. Conclusão: As estruturas tetraméricas, criadas pelo formam um bolsão entre os dímeros. Tal região, na proteína inserida na membrana, poderia ser importante para o influxo do produto catalítico da proteína CD38. Esta região de bolsão foi proposta na literatura por meio de dados experimentais e funcionais. Considera-se a importância de estudos, tanto experimentais quanto in silico, que analisem a formação de tetrâmeros.

**Palavras-chave:** Proteína CD38. Tetramerização. Docking Molecular.

## Obtenção de biomassa e lipídios pela levedura *Rhodotorula mucilaginosa* ATCC 58901

Andréia Anschau<sup>1</sup>, Rafael Uliam Marttao<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**Resumo:** A pesquisa por novas fontes de pigmentos naturais tem crescido, principalmente devido aos efeitos tóxicos causados por corantes sintéticos usados em alimentos, produtos farmacêuticos, têxteis e cosméticos. Nesse contexto, os pigmentos microbianos apresentam-se como alternativa para suprir essa demanda. Vários são os micro-organismos capazes de produzir pigmentos, dentre eles, destaca-se a *Rhodotorula mucilaginosa*. A produção de substâncias de interesse da indústria, utilizando-se resíduos agroindustriais, configura-se como uma importante alternativa para a redução dos impactos ambientais e a agregação de valor ao resíduo. Lipídios microbianos também podem ser produzidos utilizando-se substratos pouco onerosos, como glicerol bruto, soro de leite, gordura bruta e óleos originários de uma pirólise. Neste trabalho, buscou-se avaliar o crescimento celular e a produção de lipídeos da levedura *Rhodotorula mucilaginosa* ATCC 58901 em meio sintético YPD. O pH do meio foi ajustado em 5,5 e os frascos foram incubados em Shaker a 28°C e 150 rpm de agitação durante 143 horas. Foram obtidos 9,1 g/L de biomassa e 15,9% de lipídeos. A conversão de glicose em biomassa (YX/S) foi de 0,48 g/g e a conversão de glicose em lipídeos (YP/S) foi de 0,08 g/g. Desta forma, verifica-se que a *Rhodotorula mucilaginosa* ATCC 58901 possui capacidade de produção de lipídeos, além de carotenoides, e futuros delineamentos experimentais serão feitos com essa cepa utilizando soro lácteo como substrato para a obtenção dos bioprodutos.

**Palavras-chave:** Resíduo agroindustrial, Cultivo, Lipídeos microbianos.

# Microbiologia forense de solos: aplicação de meta-ômicas na identificação de biomarcadores de geolocalização

Marcos Fernandes Morales<sup>1</sup>, A. P. Castro<sup>1</sup>, L. Migliolo<sup>1</sup>, F. G. Barbosa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Católica Dom Bosco

**Resumo:** Uma vez que micro-organismos necrófagos influenciam na decomposição total de vertebrados, grupos bacterianos são os primeiros beneficiados com o progresso de decomposição. Por sua vez, alterações na microbiota post-mortem levantam hipóteses de possíveis biomarcadores de geolocalização de vertebrados após o óbito. Com isto, o presente estudo visa a caracterização da comunidade bacteriana e análise do conteúdo proteico em solos abaixo da carcaça de *Sus scrofa* L. após 48 horas de decomposição. Os animais utilizados tiveram aprovação do CEUA/UCDB sob licença do projeto número 013/2018. Três carcaças de *Sus scrofa* L. serão postos em áreas florestais urbanas distintas de Campo Grande - Mato Grosso do Sul para decomposição ativa do vertebrado onde serão realizadas partindo de três amostras de solo abaixo da carcaça (cabeça, dorso e lombar) coletadas antes a exposição do modelo suíno e após 48 horas de decomposição natural. As amostras de solo coletadas serão submetidas à extração direta de DNA metagenômico e posteriormente submetidas para o sequenciamento de fragmentos do gene 16S rDNA para bactérias e archaeas. O perfil proteico desta microbiota será avaliado através da extração direta de proteínas associadas às amostras de solo para a caracterização da expressão proteica na presente condição. Diante o exposto, a padronização de protocolos de coleta de amostras de solos para análise metagenômica e metaproteômica foi obtida com êxito em seus resultados preliminares. A extração-teste para DNA metagenômico obteve uma quantificação média de 27,7 ng/μL com banda de DNA metagenômico bem nítida. Por sua vez, a quantificação de extração-teste do conteúdo proteico apresentou uma quantificação de 52,12 μg/mL onde, através da separação de bandas por SDS-PAGE foi possível à visualização de 11 bandas proteicas em diferentes concentrações. Os resultados obtidos neste trabalho até o momento refletem em boa viabilidade de replicação do protocolo extração de DNA metagenômico e extração direta de proteínas das amostras de solo podendo obter possíveis resultados aplicáveis no decorrer do projeto para a utilização da microbiologia forense na busca de biogeolocalizadores.

**Palavras-chave:** Solos, microbiologia forense, biomarcador, metagenômica, metaproteômica.

## Estudos estruturais da enzima Fosfolipase D de *Tetranychus Urticae* como alvo molecular para o desenvolvimento de novos acaricidas

Camila Rockenbach da Silva<sup>1</sup>, C.S. Andrade<sup>2</sup>, J. H.V. Anabalon<sup>2</sup>, K. Ruffatto<sup>1</sup>, L.F. S. M. Timmers<sup>1</sup>, R. A. Sperotto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>2</sup>Universidad Mayor, Chile, Universidad Mayor, Chile

**Resumo:** Atualmente, a soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a principal oleaginosa em termos de produção e consumo. Entretanto, esta cultura vem sofrendo com a incidência de diversas pragas, entre elas a infestação de ácaros, cujos ataques mais severos foram registrados em regiões produtoras do estado do Rio Grande do Sul, causando perdas significativas nas plantações. *Tetranychus urticae* Koch é a principal espécie de ácaro que afeta a soja. Desta forma, devido ao alto impacto desta praga nas culturas de soja, torna-se necessário a busca por alternativas que possam conter a propagação destes ácaros. A bioinformática é uma metodologia que pode ser empregada para a identificação de proteínas potenciais para o desenvolvimento de acaricidas, levando em consideração o princípio da toxicidade seletiva. Com isso, este trabalho tem como objetivo identificar e caracterizar estruturalmente proteínas específicas de *T. urticae*, as quais serão utilizadas como alvos moleculares para a seleção de pequenas moléculas que possam modular a atividade destas proteínas. A primeira etapa do trabalho foi a identificação das proteínas específicas de ácaros, por meio da abordagem de genômica comparativa, utilizando quatro organismos diferentes (*T. urticae*, *G. max*, *Homo sapiens* e *Apis mellifera*). O genoma de cada organismo foi obtido do banco de dados NCBI (Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia), e apenas as sequências RefSeq foram usadas para executar as comparações. O programa BLAST+ foi utilizado para identificar proteínas homólogas e não homólogas, usando como primeiro valor de corte um valor esperado (valor E) de 0,00001. A segunda etapa do trabalho foi realizada por meio de uma busca sequencial, onde as proteínas específicas de *T. urticae* foram comparadas com sequências depositadas no Banco de Dados de Proteínas (PDB) para verificar a existência de estruturas tridimensionais similares determinadas experimentalmente. Devido à inexistência de estruturas determinadas experimentalmente, aplicamos a metodologia de modelagem molecular comparativa, implementada no programa Modeller, para a construção dos modelos tridimensionais. De acordo com as nossas análises, foram identificadas 21 sequências de proteínas específicas de *T. urticae* que possivelmente possam ser consideradas como alvos moleculares promissores para o desenvolvimento de novos acaricidas. A terceira etapa do trabalho, que aborda a construção dos modelos tridimensionais das 21 sequências de proteínas específicas de ácaro

**Palavras-chave:** *Tetranychus urticae*, Bioinformática, Modelagem molecular, Acaricida.

## Seleção bacteriana de 6 isolados de *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* em comparação com cepa *Xanthomonas campestris* pv *campestris* NRRL B-1459

Jackson Gabriel Morais Becker<sup>1</sup>, Matheus Acevedo Montano<sup>1</sup>, Adriel Penha Munhoz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas - UFPel

**Resumo:** *Xanthomonas campestris* pv *campestris* é a bactéria utilizada na produção industrial da xantana. No entanto, por possuir similaridades com outros patovares e espécies como *Xanthomonas arboricola* pv *pruni*, infere-se que estas bactérias possuem capacidade de produção de xantana em igualdade ou superior comparada a bactéria empregada industrialmente. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi comparar a produção de xantana de 6 isolados de *X. arboricola* pv *pruni* com cepa utilizada industrialmente empregando dois meios de cultivo distintos. Foram utilizados os isolados 03, 15, 31, 66, 73, 76 de *X. arboricola* pv *pruni* e a cepa *X. campestris* pv *campestris* NRRL B-1459. O inóculo foi preparado com meio YM (Yeast Malt) contendo (g.L<sup>-1</sup>): 3,0 extrato de levedura; 3 extrato de malte; 5 peptona; 10 glicose. Quando atingiu-se a concentração de 10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, 50 mL do inóculo foram transferidos para 200 mL de meio de produção A contendo (g.L<sup>-1</sup>): 50 sacarose; 1,5 NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2,5 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 5,0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2,0 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,3 MgSO<sub>4</sub>; 2,0 C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>; 0,006 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 0,0024 FeCl<sub>3</sub>; 0,002 CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; 0,012 ZnSO<sub>4</sub>; pH 7,0, e 50 mL para 200 mL de meio de produção B contendo (g.L<sup>-1</sup>): 50 sacarose; 1,5 NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2,5 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 5,0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2,0 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,3 MgSO<sub>4</sub>. Os frascos foram mantidos em incubadora agitadora orbital a 28 °C e 180 rpm, por 72 h. Foram retiradas amostras nos tempos de 0, 24, 48 e 72 h, em triplicata. A recuperação da xantana foi realizada com centrifugação a 10.000 x g por 15 min, precipitação com etanol 96% (4:1 v.v<sup>-1</sup>) e a xantana foi seca a 56 °C até peso constante. Para todas as cepas estudadas observou-se aumento da produção de xantana com o passar do tempo de fermentação, sendo que no tempo de 72 h, os isolados de *X. arboricola* pv *pruni* 03, 15, 31, 66, 73, 76 apresentaram valores de produção de xantana (g.L<sup>-1</sup>) no meio A de 4,54±0,43, 8,44±0,29, 10,57±0,69, 15,03±0,27, 9,43±0,21, 5,31±0,11, respectivamente, e no meio B de 11,05±0,09, 18,20±0,54, 11,52±0,43, 26,02±0,18, 10,29±0,14, 6,43±0,33, respectivamente. A cepa controle produziu (g.L<sup>-1</sup>) em 72 h no meio A 6,08±0,05 e no meio B 9,23±0,14. Em suma, as bactérias que foram cultivadas em meio B (MPII) obtiveram maiores produções de xantana, sendo que nesta, todos os isolados de *X. arboricola* pv *pruni* obtiveram maiores rendimentos que a cepa de *X. campestris* pv *campestris* NRRL B-1459.

**Palavras-chave:** xantana; patovar *pruni*; fermentação; biopolímero.

# Avaliação da expressão da enzima $\beta$ -galactosidase recombinante utilizando subprodutos da indústria de laticínios como indutores

Juliane Carraro Nunes<sup>1</sup>, G. Volpato<sup>1</sup>, G. Renard<sup>2</sup>, J. M. Chies<sup>2</sup>, C. F. V. de Souza<sup>3</sup>, B. C. de Andrade<sup>3</sup>, P. Pauli<sup>1</sup>, M.L.V. Ferreira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal do Rio Grande do Sul - IFRS

<sup>2</sup>Quatro G Pesquisa e Desenvolvimento Ltda

<sup>3</sup>Universidade do Vale do Taquari - Univates

<sup>4</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

**Resumo:** A  $\beta$ -galactosidase tem especial importância para a indústria, sendo utilizada na preparação de produtos lácteos com baixo teor de lactose. Uma etapa fundamental na produção de enzimas recombinantes, envolve a sua expressão, que pode ser realizada por diferentes indutores, sendo o isopropil- $\beta$ -D-1-tiogalactosídeo (IPTG) o mais utilizado, porém sua eficácia é baixa, pelo custo e toxicidade para o cultivo. A lactose pode ser uma alternativa mais benéfica para a indução do cultivo, pois não apresenta toxicidade às células, assim como tem um baixo custo. Além disso, possibilita a utilização de resíduos da indústria de laticínios ricos em lactose, como o soro de leite e o permeado do soro de leite, que representam um alto impacto ambiental devido a elevada carga orgânica presente. O objetivo deste trabalho foi verificar a eficiência destes subprodutos como indutores e suas concentrações na expressão da enzima  $\beta$ -galactosidase de *Kluyveromyces sp.* em *Escherichia coli*. Células de *E. coli* BL21 (DE3) foram transformadas com o gene da  $\beta$ -galactosidase de *Kluyveromyces marxianus*, contendo cauda de histidina, ligado ao vetor de expressão pET 30a(+). Os cultivos foram realizados em triplicata, em frascos Erlenmeyer, contendo 50 mL de meio de cultivo Luria-Bertani (LB) contendo canamicina (50  $\mu$ g/mL), mantidos em agitação orbital de 180 rpm a 30 ° C. Em cada cultivo foi adicionado 10 % de pré-inóculo padronizado com densidade óptica (OD) de 0,1 a 600 nm. Os cultivos foram induzidos com OD entre 0,4 e 0,6, foram testados lactose, soro de leite e permeado de soro de leite nas concentrações de 1 g/L, 10 g/L e 20 g/L. Amostras foram coletadas 9h e 24h após a indução, centrifugadas e o sobrenadante foi desprezado, os pellets foram ressuspensos, rompidos por sonicação e centrifugados para separação das frações solúveis e insolúveis. A expressão da  $\beta$ -galactosidase foi analisada em ambas as frações, por meio de SDS-PAGE. A quantificação da proteína foi determinada pelo método de Bradford (1976). A atividade enzimática foi determinada através de método espectrofotométrico utilizando o-nitrofenol- $\beta$ -D-galactopiranosídeo (ONPG) como substrato. As maiores atividades foram de 16,5, 36,0 e 44,0 U/mgproteína, para soro de queijo, lactose e permeado de soro, respectivamente, quando utilizada a concentração de 10 g/L. Os resultados obtidos demonstraram a possibilidade de utilizar os subprodutos, soro de queijo e permeado de soro, como indutores da enzima  $\beta$ -galactosidase.

**Palavras-chave:**  $\beta$ -galactosidase, lactose, enzimas, soro de leite, permeado de soro.



**UNIVATES**

R. Avelino Talini, 171 | Bairro Universitário | Lajeado | RS | Brasil  
CEP 95914.014 | Cx. Postal 155 | Fone: (51) 3714.7000  
[www.univates.br](http://www.univates.br) | 0800 7 07 08 09