

OFICINAS DE BIOTECNOLOGIA PARA O ENSINO MÉDIO



APOIO:



SEMANA
NACIONAL DE
CIENCIA E
TECNOLOGIA - 2019
Bioeconomia: Diversidade e Riqueza para o
Desenvolvimento Sustentável



EDITORA
UNIVATES

Márcia Inês Goettert
Daiane Heidrich
Aline Viana
Ana Paula Mörschbacher
Cláudia Schlabitx
Emelin Pappen
(Org.)

OFICINAS DE BIOTECNOLOGIA PARA O ENSINO MÉDIO

1ª edição



EDITORA
UNIVATES

Lajeado, 2021



Universidade do Vale do Taquari - Univates

Reitora: Profa. Ma. Evania Schneider

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

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



EDITORA
UNIVATES

Editora Univates

Coordenação: Prof. Dr. Carlos Cândido da Silva Cyrne

Editoração e capa: Glauber Röhrig e Marlon Alceu Cristófoli

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>

O23

Oficinas de biotecnologia para o ensino médio / Daiane Heidrich
(Org.) - Lajeado : Editora Univates, 2021.

83 p. ; il. color.

ISBN 978-65-86648-40-9

1. Práticas de ensino. 2. Biotecnologia. 3. Ensino médio. I. Heidrich,
Daiane II. Título.

CDU: 371.38:57.08

Catálogo na publicação (CIP) – Biblioteca Univates
Bibliotecária Maria Helena Schneider – CRB 10/2607



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

COMISSÃO ORGANIZADORA

Dra. Márcia Inês Goettert ^{1, 2}

Dra. Daiane Heidrich ^{1, 2}

Me. Aline Viana ¹

Me. Ana Paula Mörschbacher ¹

Me. Cláudia Schlabititz ¹

Me. Emelin Pappen ¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - Univates

² Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas - Univates

PREFÁCIO

A biotecnologia é um tema de passado, presente e futuro. Ela é a arte de modificar os processos biológicos trazendo um novo tempo de conhecimento e no desenvolvimento. A Biotecnologia é uma ciência aplicada que utiliza os conhecimentos das ciências básicas para propor soluções biológicas nas mais diversas áreas da vida. Neste sentido, é fundamental agregar conhecimentos, trabalhando de forma multidisciplinar.

Ao considerarmos que a biotecnologia está conectada ao passado, através de processos biológicos da fabricação de alimentos como pão, queijos e vinhos, que foram um marco histórico na alimentação humana e estão presentes até hoje em nosso dia-a-dia; ao considerarmos que em nosso presente está conectada aos processos de produção alimentar em larga escala através de uma agricultura e controle de pragas baseadas em tecnologias do DNA recombinante; e ao consideramos que está conectada ao futuro, conectando-se aos avanços em saúde humana e animal, à produção agrícola sustentável e a uma nova relação entre espécies e a natureza; podemos dizer que a biotecnologia faz parte e está muito mais presente em nossas vidas do que possamos imaginar.

As novas gerações serão as grandes responsáveis por incorporar a biotecnologia em todas as profissões das ciências da vida e com isso, transformar as formas de relações dos próximos séculos. O presente livro traz uma forma didática para abordar a biotecnologia, popularizando a ciência e estimulando aos jovens a conhecer a área e a contribuir aos avanços científicos.

O Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Univates, através de seus pesquisadores e colaboradores estão de parabéns em abordar a temática ao Ensino Médio, pois assim estabelecem um importante canal com a comunidade, para apresentar através de uma linguagem didática, os conhecimentos baseados em biotecnologia presentes em nosso cotidiano.

Professor Dr. Tiago Collares

Diretor do CDTec - UFPel

Coordenador Adjunto da Área de Biotecnologia – Capes

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	
INTRODUÇÃO	7
CAPÍTULO 2	
BIOTECNOLOGIA E O ENSINO MÉDIO	9
CAPÍTULO 3	
SEGURANÇA EM LABORATÓRIOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS	10
3.1 Vestimenta adequada em laboratório e equipamentos de proteção	10
3.2 Normas gerais de segurança em laboratório	12
CAPÍTULO 4	
PROTOCOLOS DAS OFICINAS DE BIOTECNOLOGIA PARA O ENSINO MÉDIO ...	14
4.1 OFICINA: Infertilidade e biotecnologia aplicada à saúde	15
4.2 OFICINA: Do DNA à bancada - Extração do DNA humano	19
4.3 OFICINA: Produção de sorvetes e sorbet à base de Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC)	23
4.4 OFICINA: Biotecnologia e produção de alimentos derivados do leite	28
4.5 OFICINA: Antioxidantes realmente melhoram sua saúde?	32
4.6 OFICINA: Confeção de sabonetes utilizando óleos essenciais (Cravo da Índia)	40
4.7 OFICINA: EXTRAÇÃO DO DNA BACTERIANO, uma ferramenta importante para identificação de bactérias	45
4.8 OFICINA: Microbiologia: Avaliação de Colônias, Coloração de Gram e Microscopia de bactérias e fungos	49
4.9 OFICINA: Processos de vermicompostagem e análise de solos	59
4.10 OFICINA: Controle Biológico e suas aplicabilidades	62
4.11 OFICINA: Características e Potencialidades Biotecnológicas de Frutos e Sementes Nativas	67
CONSIDERAÇÕES FINAIS	74
AGRADECIMENTOS	76
GALERIA DE FOTOS	77

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

A Biotecnologia abrange diferentes áreas da Ciência, dentre elas Biologia, Química e Engenharia. Ao longo dos anos, diversas definições lhe foram atribuídas, porém, a velocidade com que evolui faz com que os conceitos fiquem constantemente desatualizados. Conforme Maria Antonia Malajovich, Biotecnologia é “uma atividade baseada em conhecimentos multidisciplinares, que utiliza agentes biológicos para gerar produtos úteis ou resolver problemas”. Assim, entende-se que a Biotecnologia impacta no dia a dia da população, promovendo benefícios em diversos campos, seja na saúde, agricultura, indústria ou meio ambiente.

Neste contexto, o Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec) da Universidade do Vale do Taquari (Univates) alicerça suas pesquisas nas áreas Agroalimentar e da Saúde, sendo que já foram obtidos resultados importantes para a produção sustentável de alimentos e nos cuidados com a saúde humana. Com intuito de divulgar suas pesquisas e promover a conscientização dos jovens da região do Vale do Taquari, no estado do Rio Grande do Sul, os professores do PPGBiotec promovem, anualmente, oficinas para os alunos do ensino médio da Região. Nelas são abordados os avanços alcançados pelos pesquisadores, ressaltando a importância da Ciência e da Tecnologia para o desenvolvimento das pesquisas voltadas para o bem-estar da população, sustentabilidade e estímulo a bioeconomia.

Em 2019, em sua sétima edição, as oficinas foram organizadas por 12 professores, 22 discentes de graduação e 21 discentes de pós-graduação da Univates e ofertadas de forma gratuita ao longo da Semana Nacional de Ciência e Tecnologia utilizando a infraestrutura da Universidade e contando com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI). Foram realizadas 11 diferentes oficinas, totalizando 460 vagas oferecidas para estudantes do Ensino Médio dos 36 municípios do Vale do Taquari e do município de Venâncio Aires, pertencente ao Vale do Rio Pardo. Diferentes práticas rotineiras dos pesquisadores e estudantes da instituição foram abordadas com o objetivo de proporcionar e disseminar o conhecimento científico, inspirando os jovens de diferentes classes sociais através do contato com ambiente acadêmico e motivando-os a completar seus estudos, além de repassarem o aprendizado para a população do local onde vivem.

A área de Biotecnologia possui pesquisas extremamente inovadoras. O PPGBiotec da Univates possui professores e acadêmicos que são conveniados com empresas da região, tendo como objetivo o desenvolvimento de produtos inovadores. Estes produtos

devem ser de conhecimento da sociedade, e são abordados nas oficinas, buscando estimular o caráter empreendedor e inovador dos alunos que participaram deste evento, podendo abranger outros setores, multiplicando o conhecimento produzido dentro da Universidade para a população.

Sendo assim, ao abordar as práticas utilizadas nas pesquisas do PPGBiotec, as oficinas têm por objetivo divulgar e popularizar a ciência e o conhecimento gerado na Universidade entre os alunos de Ensino Médio, despertando neles o interesse pelo ambiente acadêmico e divulgando as bolsas de Iniciação Científica de Ensino Médio, que são oferecidas pelo CNPq e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), em editais ao longo do ano, oportunizando a inserção na Universidade e a vivência científica destes jovens. Ao ingressar na academia, esses alunos, inspirados na trajetória dos professores pesquisadores, poderão potencializar e inovar as pesquisas existentes que visam estudar a diversidade e a riqueza da nossa região buscando o desenvolvimento sustentável aliado a geração de produtos e serviços que possam fomentar a bioeconomia.

Ainda, o Vale do Taquari é uma região que concentra várias empresas do ramo alimentício. A Univates possui curso técnico em Alimentos voltada, principalmente, para o desenvolvimento regional. As pesquisas realizadas vêm sendo focadas nas demandas específicas da população. As oficinas ofertadas fazem com que estas prioridades sejam reconhecidas pelos alunos do Ensino Médio podendo, além de divulgar os resultados obtidos, aproximar a população em geral das pesquisas desenvolvidas na Universidade. Desta forma, neste e-book são disponibilizados os protocolos que foram utilizados nas Oficinas de Biotecnologia para o Ensino Médio de 2019 para que possam ser reproduzidos nos laboratórios das escolas, enriquecendo os conteúdos abordados em sala de aula e inspirando professores e jovens estudantes a seguir no caminho da ciência.

Referência:

MALAJOVICH M. A. Biotecnologia 2011. Rio de Janeiro, Edições da Biblioteca Max Feffer do Instituto de Tecnologia ORT, 2012.

CAPÍTULO 2

BIOTECNOLOGIA E O ENSINO MÉDIO

A Biotecnologia tem por objetivo o desenvolvimento de produtos e/ou processos biológicos utilizando a tecnologia. O ensino da Biotecnologia busca incentivar a construção de uma base técnico-científica na sociedade, estimulando o desenvolvimento multidisciplinar. Assim, partimos do pressuposto que o primeiro contato dos alunos com a Biotecnologia acontece em casa, onde eles presenciam a utilização de técnicas biotecnológicas na preparação de alimentos, como por exemplo, na produção de pão, iogurte, kefir, queijos e vinhos. Na escola, o contato da Biotecnologia é na sua maioria abordado na teoria, em disciplinas como Ciências para o Ensino Fundamental, e Química e Biologia no Ensino Médio. Assim, sutilmente, o ensino da Biotecnologia vem sendo abordado social e institucionalmente.

Ao ocorrer a aplicação de aulas práticas, utilizando ainda técnicas caseiras e rudimentares, os alunos conseguem ter a experiência, visualizar o que é e para que serve a Biotecnologia. Os alunos podem aprender desde a extração de óleos essenciais de plantas nas aulas de Química, reconhecimento de plantas e de frutos nativos, e sua posterior aplicação na alimentação com estímulo ao desenvolvimento de produtos comestíveis e identificação de microrganismos, como fungos e bactérias, que podem ser abordados em aulas de Biologia. É na escola que os jovens têm a oportunidade de aprender sobre o DNA, conhecendo sua importância e como ele rege as bases da genética. Assim, percebe-se que a escola é um local de grande importância para a propagação do ensino da Biotecnologia.

O entendimento sobre a formulação de alimentos, como derivados do leite, de cosméticos, de controle biológico utilizando ácaros, desenvolvimento de medicamentos, como antioxidantes e antibióticos, desenvolvimentos de técnicas de identificação de microrganismos e plantas fazem parte de uma necessidade da sociedade, e estimulam os alunos a aprender mais, e então poder entrar em um mercado de trabalho competitivo e exigente. A ciência básica permite o estímulo à curiosidade, o que estimula o interesse dos adolescentes em seguir no campo da pesquisa, levando assim ao desenvolvimento da sociedade (Malajovich, 2016).

Referência:

MALAJOVICH, Maria Antonia. **Biotecnologia**. Axcel Books do Brasil Editora, 2016.

CAPÍTULO 3

SEGURANÇA EM LABORATÓRIOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS

Antes de iniciar o trabalho em um laboratório é fundamental conhecer os procedimentos de segurança que permitirão a atuação com um mínimo de risco. Lembre-se sempre de que **você é responsável pela sua segurança e pela de seus colegas**. Deve-se trabalhar com seriedade e atenção, pois os acidentes – inclusive os fatais – são frequentemente causados por distrações, brincadeiras e outras atitudes impróprias para o ambiente.

3.1 Vestimenta adequada em laboratório e equipamentos de proteção

Todas as pessoas que frequentam um laboratório químico ou biológico devem utilizar jaleco de algodão com manga comprida, calça comprida (de material não sintético, como jeans ou algodão) até abaixo do tornozelo, encostada no calçado, e calçado fechado (preferencialmente em couro) sem salto alto. Além disso, os cabelos longos devem ser mantidos presos e deve-se evitar o uso de jóias, principalmente anéis, brincos e gargantilhas longas, mantas ou cachecóis.

Jaleco, calça comprida e calçado fechado são considerados Equipamentos de Proteção Individual (EPI), pois protegem o corpo do usuário de acidentes com produtos químicos ou materiais contaminados. Além destes itens básicos, dependendo da atividade realizada, pode ser necessária a utilização de outros EPIs, como:

- Óculos de proteção: protegem os olhos contra poeiras e respingos.



- Luvas: protegem as mãos contra produtos químicos, microrganismos e de fatores físicos, como altas ou baixas temperaturas. O material adequado deve ser selecionado de acordo com a atividade.



- Respiradores: protegem o usuários de partículas, poeiras, microrganismos, devendo ser selecionados de acordo com a necessidade.



Nos laboratórios químicos e biológicos existem ainda os Equipamentos de Proteção de Uso Coletivo (EPC):

- Cabine de exaustão: protege os usuários do laboratório durante manipulação de produtos químicos, tóxicos, vapores agressivos, partículas ou líquidos em quantidades e concentrações perigosas, prejudiciais para a saúde.
- Cabine de fluxo laminar vertical / cabine de segurança biológica: protege o usuário e o ambiente de contaminações com o microrganismo que está sendo utilizado.

3.2 Normas gerais de segurança em laboratório

Além das regras já mencionadas, segue uma lista de regras gerais de segurança em laboratórios:

- Caso você tenha alguma ferida exposta, esta deve estar devidamente protegida.
- Conheça a localização e o uso correto dos equipamentos de segurança disponíveis.
- Antes de iniciar qualquer operação, conheça as principais características dos produtos e equipamentos que irá manipular.
- Assegure-se de que todos os agentes que oferecem algum risco estão rotulados e estocados corretamente.
- Consulte os dados de segurança existentes antes de utilizar reagentes químicos com os quais não esteja familiarizado, e siga os procedimentos apropriados ao manusear ou manipular agentes perigosos.
- Não prove ou cheire produtos químicos.
- Siga os procedimentos de descarte adequados para cada reagente ou material de laboratório. Não despeje nada no ralo sem saber se pode! Cuide de você, das pessoas ao seu redor e do ambiente!



Fonte: <https://abrilveja.files.wordpress.com/2019/02/saude-curativo-20120617-009.jpg>



Fonte: <http://www.cpap.embrapa.br/destaques/Lab/charge.jpg>

- Nunca pipete ou “sugue” com a boca - utilize sempre pipetador.
- Utilize sempre uma capela ou fluxo para manusear materiais voláteis.
- Lave as mãos ao final dos procedimentos de laboratório e remova todo o equipamento de proteção, incluindo luvas e aventais, para minimizar os riscos de contaminações pessoais e em outras áreas.

- Limpe imediatamente todo e qualquer derramamento de produtos e reagentes.
- Os materiais descartados devem ser colocados nos locais adequados e etiquetados.
- Mantenha as bancadas sempre limpas e livres de materiais estranhos ao trabalho. Limpe a bancada após terminar o trabalho.
- Rotule imediatamente todo e qualquer preparado, reagente ou solução, e amostras coletadas.
- Não utilize vidros trincados. Vidraria danificada deve ser consertada ou descartada.
- Não coloque vidro quente sobre superfícies frias ou molhadas e vidro frio sobre superfícies quentes.
- Não olhe por cima de qualquer recipiente que esteja sendo aquecido.
- Antes de acender o bico de Bunsen, verifique se a bancada próxima está livre de materiais inflamáveis e se as mangueiras estão livres de vazamentos.

Além disso, cada laboratório possui suas especificidades, tendo assim um conjunto de normas próprias. Verifique as normas específicas do laboratório antes de qualquer atividade.

Referências:

CIENFUEGOS, Freddy. **Segurança No Laboratório**. Rio De Janeiro: Interciência, 2001.269 p.

HIRATA, Hiroyuki, M., HIRATA, Crespo, R. D., FILHO, M., (eds.), J. **Manual de Biossegurança**. Barueri, SP : Manole, 2012.

POSTMA, James M.; ROBERTS, Julian L.; HOLLENBERG, Leland. **Química No Laboratório**. Barueri, SP: Manole, 5ª Edição, 2009.546 p.

SALVATIERRA, Clabijo Mérida. **Microbiologia - Aspectos morfológicos, bioquímicos e metodológicos**. São Paulo : Érica, 2014.

CAPÍTULO 4

PROTOSCOLOS DAS OFICINAS DE BIOTECNOLOGIA PARA O ENSINO MÉDIO

A seguir estão descritos os protocolos realizadas em outubro de 2019, durante o evento “Oficinas de Biotecnologia para o Ensino Médio”, que ocorreu durante a Semana Nacional de Ciência e Tecnologia (SNCT) do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI - Governo Federal).

Em cada protocolo estão os nomes e *links* dos currículos dos professores responsáveis pela Oficina e dos demais participantes (alunos do PPG em Biotecnologia da Univates) que elaboraram o protocolo.

Além dos autores, os protocolos apresentam: introdução; objetivos; citação da adaptação do protocolo original; equipamentos, materiais e reagentes que serão necessários para execução da atividade; descrição da técnica; e referências utilizadas na elaboração do protocolo. Além disso, alguns protocolos contêm questões a serem respondidas pelos estudantes.

4.1 OFICINA: Infertilidade e biotecnologia aplicada à saúde

AUTORES

Ana Paula Binato de Souza - lattes.cnpq.br/4863781496752732

Manoela Pasini - lattes.cnpq.br/6160363120893994

Ana Micaela Camini - lattes.cnpq.br/3069727727521116

Paloma Rogeria Claas - lattes.cnpq.br/6642062611949460

Ivan Cunha Bustamante Filho - lattes.cnpq.br/5447836974424243

INTRODUÇÃO

Como característica dos seres vivos, o processo de reprodução é responsável por garantir a viabilidade de vida na Terra. Desta forma, podemos abordar a infertilidade como a incapacidade de desenvolvimento deste processo.

Infertilidade em humanos define-se pela incapacidade de conceber após um período de doze meses de tentativas. Esta condição pode ser relacionada a diversos fatores, tanto biológicos como ambientais. A partir do diagnóstico e determinação da causa da infertilidade sexual a orientação pelo melhor tratamento ou metodologia de fertilização é indicada por especialista (SCHMIDT et al. 2005; SOKOL, 2009). A biotecnologia permitiu o desenvolvimento de tratamentos alternativos para a reprodução humana, incluindo a inseminação artificial e a fertilização in vitro, resultados de anos de estudo que viabilizam atualmente o nascimento de milhares bebês em todo o mundo (GONÇALVES, et al. 2008).

Na presente oficina, são abordados aspectos do sistema reprodutor masculino e feminino e também como este se comporta frente dos diversos fatores que podem causar infertilidade assim como os métodos utilizados para fertilização.

OBJETIVOS

- Compreender os principais aspectos da fisiologia reprodutiva humana
- Conhecer as principais causas de infertilidade relacionadas ao homem e a mulher.
- Discutir as técnicas de reprodução assistida usualmente utilizadas.
- Conhecer como a biotecnologia vem contribuindo para melhorar a fertilidade.
- Conhecer instrumentos e práticas laboratoriais.
- Desenvolver o espermograma, exame físico-químico do sêmen, analisando as características morfológicas e fisiológicas do espermatozoide.

PROTOCOLO ADAPTADO DE:

HAFEZ, Elsayed Saad Eldin, and B. Hafez. “**Reprodução animal.**” (2004): 513.

EQUIPAMENTOS, MATERIAIS E REAGENTES NECESSÁRIOS

Microscópio ótico (com aumento mínimo de 40x)

Amostra de sêmen suíno doado por central de produção de sêmen.

Bolsa de água quente

Termômetro

Lâminas e lamínulas para microscopia.

Corante Eosina.

Corante Cristal de Violeta ou Giemsa.

Formalina 10%.

Palito de madeira.

Papel absorvente.

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

A fim de exemplificar a técnica utilizada na avaliação da fertilidade masculina, e minimizar riscos éticos e de biossegurança, sugere-se realizar a atividade de espermiograma com amostra de sêmen suíno diluído em meio de preservação comercial. Este pode ser cedido por produtores rurais.

1. A Coleta de sêmen suíno é feita em central de inseminação artificial, são acrescentados diluentes que auxiliam no processo de conservação. Após a coleta e diluição, o sêmen deve ser transportado em caixas térmicas com temperatura aproximada de 17°C. É necessária a utilização de gelox, porém deve-se ter cuidado para não entrar em contato direto com o frasco de sêmen. Nestas condições, a amostra de sêmen pode ser utilizada até 5 dias, dependendo do diluente utilizado.
2. Aquecer as lâminas e lamínulas em cima da bolsa de água quente a 37°C.
3. Agitar suavemente a amostra de sêmen, separando e aquecendo uma alíquota de 1 mL em banho-maria.
4. Utilizando um microscópio ótico de campo claro as lâminas podem ser visualizadas com um aumento de 40x, utilizando diferentes técnicas para análise das seguintes características:

Motilidade

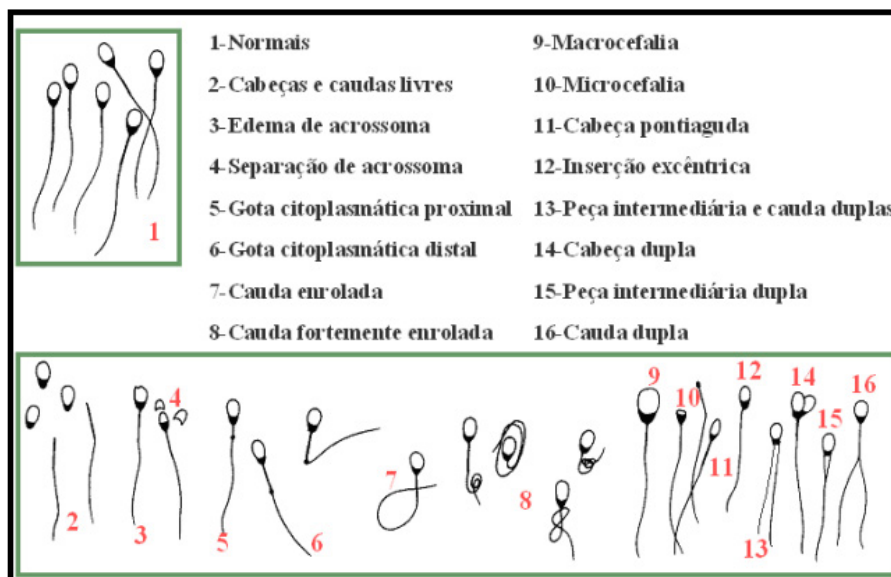
- 1. Adicionar uma gota (ou 50 uL) na lâmina, e cubra a gota suavemente com uma lamínula aquecida. Manter a lâmina aquecida a 37°C até a visualização.
- 2. Observe 4-5 campos e fazer uma contagem de 100 espermatozoides. Identificar e indicar o número de espermatozoide. Estacionários, mobilidade não progressiva, mobilidade progressiva grau I, II e III.

Vitalidade

- Adicione uma gota da amostra de sêmen e uma gota de corante (Eosina) e misturar delicadamente com um palito.
- Cobrir com uma lamínula e retirar o excesso com papel.
- Observar no microscópio fazendo uma contagem de 100 espermatozoides em 4 ou 5 campos. Identificar e indicar o número de espermatozoides:
- Viáveis (não adquirem cor, mas movimento é observado); pouco viáveis (adquirem cor, e movimento é observado); não viáveis (adquirem cor, e movimento não é observado).

Morfologia

- Colocar uma gota de sêmen de um lado de uma lâmina e fazer uma dispersão, com a ajuda de outra lâmina.
- Deixe secar ao ar.
- Cubra com formalina a 10% por um minuto e retire o excesso. Enxaguar com água corrente.
- Adicionar uma gota de corante: cristal violeta ou Giemsa
- Enxaguar com água corrente e deixe secar
- Observar ao microscópio, em 4 ou 5 campos e de uma contagem total de 100 espermatozoides, identificar o número de espermatozoides: Normais, macrocefálicos, microcefálicos, bicéfalos e outras alterações, conforme figura abaixo.



Fonte: CRBA, 2013.

REFERÊNCIAS:

Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exames andrológicos e avaliação de sêmen animal**. 2013. Disponível em: <http://cbra.org.br/br/publicacoes/manual-de-exame-andrologico/>

GONÇALVES, Paulo Bayard Dias; DE FIGUEIREDO, José Ricardo; DE FIGUEIRÊDO FREITAS, Vicente José. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. Editora Roca, 2008.

SCHMIDT, L.; CHRISTENSEN, Ulla; HOLSTEIN, B. E. The social epidemiology of coping with infertility. **Human reproduction**, v. 20, n. 4, p. 1044-1052, 2005.

SOKOL, Rebecca Z. Endocrinology of male infertility: evaluation and treatment. In: **Seminars in reproductive medicine**. © Thieme Medical Publishers, 2009. p. 149-158.

4.2 OFICINA: Do DNA à bancada - Extração do DNA humano

AUTORES:

Fabiane Dresch - lattes.cnpq.br/9641671721211576

Alexandre Martins - lattes.cnpq.br/3055720495917577

Luisa Capra - lattes.cnpq.br/0430055718981834

Magali Conte - lattes.cnpq.br/5793681344040709

Mônica Wlach - lattes.cnpq.br/3904967096692558

Amanda Bürgel - lattes.cnpq.br/7049486152031426

Verônica Contini - lattes.cnpq.br/3166654315161244

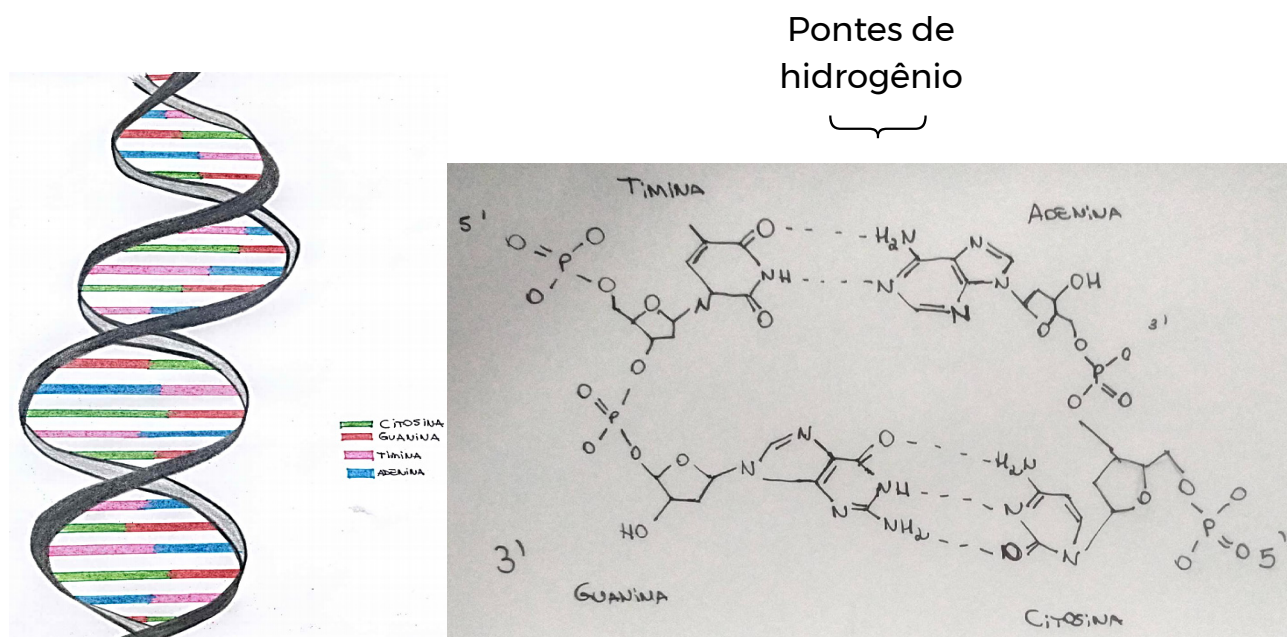
INTRODUÇÃO

As células vivas são capazes de preservar e de transferir a informação genética para as novas gerações por meio da complementaridade estrutural das moléculas de ácidos nucleicos: o DNA e o RNA. Nesse protocolo vamos falar apenas do ácido desoxirribonucleico, também conhecido como DNA. O DNA é o ácido nucleico que constitui o material genético da maioria dos seres vivos. O DNA é formado por nucleotídeos, e cada nucleotídeo é formado por uma molécula de desoxirribose, uma molécula de fosfato e uma base nitrogenada, que pode ser púrica ou pirimídica.



Fonte: Da autora Magali Conte.

As bases púricas encontradas no DNA são adenina e guanina; e as bases pirimídicas são citosina e timina, sendo que a adenina liga-se à timina e a guanina liga-se à citosina através de pontes de hidrogênio.



Fonte: Da autora Magali Conte.

A extração do DNA é a primeira etapa para a realização de diversas outras técnicas, que permitem, entre tantas aplicabilidades, realizar a triagem para doenças genéticas, a análise de diferentes populações e espécies extintas, teste de paternidade, análises forenses, e ainda a detecção de bactérias, vírus e protozoários parasitas.

OBJETIVOS

- Mostrar de forma prática e simples as estruturas e funções do DNA;
- Mostrar a importância do DNA para a funcionalidade das células;
- Realizar uma extração simples com materiais do dia-a-dia.

PROTÓCOLO ADAPTADO DE:

Chiesse, A. et al. **Extração da molécula de DNA em frutas como ferramenta para auxiliar o ensino de biologia em turmas de ensino médio em uma escola no município de Volta Redonda-RJ.** 2006

EQUIPAMENTOS, MATERIAIS E REAGENTES NECESSÁRIOS

- Banho à 60 °C (pode ser um banho-maria);
- Caixa de isopor com gelo;
- 1 copo descartável;
- 1 espátula de madeira ou cotonete;
- 1 tubo de ensaio;

Estantes para tubos de ensaio;

Micropipeta de 500 μL (pipeta Pasteur);

1 proveta para 15 mL ou um medidor de plástico;

15 mL de solução de sacarose a 3% (1 colher de chá de açúcar em 100 ml de água);

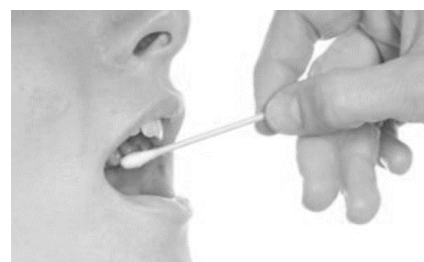
Etanol absoluto gelado;

Sal de cozinha;

1 mL de detergente neutro diluído a 25%.

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

1. Higienizar a boca fazendo bochechos com água ou se possível escovando os dentes;
2. Delicadamente raspar a mucosa bucal com uma espátula de madeira ou cotonete (Estimular secreção "Saliva");



3. Colocar aproximadamente 15mL de água com açúcar na boca (1 colher de chá de açúcar em 100 ml de água);
4. Bochechar vigorosamente por 30 segundos;



5. Recolher o volume obtido do bochecho no mesmo copo descartável. Mergulhar a espátula ou cotonete usado na raspagem da mucosa no volume obtido do bochecho.
6. Transferir apenas 5 mL do volume obtido no passo anterior para um tubo de ensaio e adicionar uma pitada de sal de cozinha. Homogeneizar invertendo o tubo.
7. Adicionar 500 μL de detergente neutro diluído (com água) a 25% e homogeneizar cuidadosamente.
8. Aquecer a 60 °C por 10 min. Resfriar 5 min no gelo.
9. Adicionar álcool gelado (absoluto se possível) pelas bordas do tubo lentamente, até que se alcance pelo menos 1cm de espessura. O DNA, insolúvel no álcool, ficará visível.



Sugestão de questões para serem respondidas pelos grupos de estudantes após (ou durante) a realização da extração de DNA.

1. Por que é necessário colocar uma “pitada” de sal de cozinha?
2. Em que etapa do procedimento ocorre o rompimento das membranas das células? Explique.
3. Qual a função do detergente de cozinha?
4. Qual o papel do álcool?
5. Por que você não pode ver a dupla hélice do DNA extraído?
6. Considerando os procedimentos da extração do DNA genômico, você espera obtê-lo sem quebras mecânicas e/ou químicas?

REFERÊNCIAS:

Chiesse, A. et al. Extração da molécula de DNA em frutas como ferramenta para auxiliar o ensino de biologia em turmas de ensino médio em uma escola no município de Volta Redonda-RJ.

Revista PIBID - UGB/FERP. (2016); 1 (1), 3-8. Disponível em: http://www2.ugb.edu.br/Arquivossite/Pibid/pdfdoc/v1_BIOLOGIA_EXTRACAO-DA-MOLECULA-DE-DNA-EM-FRUTAS.pdf.

4.3 OFICINA: Produção de sorvetes e sorbet à base de Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC)

AUTORES

Aline Viana - lattes.cnpq.br/1326502291238152

Elisete Maria de Freitas - lattes.cnpq.br/7345668866571738

Raul Antonio Sperotto - lattes.cnpq.br/0884712531887046

INTRODUÇÃO

O termo Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) foi criado em 2008 pelo biólogo e professor Valdely Ferreira Kinupp, e refere-se a todas as plantas que possuem uma ou mais partes comestíveis, sendo elas espontâneas ou cultivadas, nativas ou exóticas, que não sejam comuns, não sejam corriqueiras, não sejam consumidas no dia a dia pela grande maioria da população de uma região, país ou mesmo do mundo. Grande parte das PANC são espontâneas, sendo comumente encontradas em hortas, canteiros, quintais e jardins. Muitas delas são denominadas “inço”, pois ocorrem em áreas de plantas cultivadas. No entanto, as PANC possuem grande potencial nutricional, ecológico e econômico (Kinupp, 2007; Kinupp & Lorenzi, 2014; Biondo *et al.*, 2018).

Nutricionalmente, as PANC normalmente apresentam em sua composição alto teor de proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais, atingindo níveis mais elevados que as plantas comestíveis convencionais. O consumo dessas plantas é muito benéfico à saúde humana, pois favorece a diversificação da dieta alimentar (Kinupp, 2007; Kinupp & Lorenzi, 2014; Biondo, Fleck & Sant’anna, 2017; Biondo *et al.*, 2018).

As PANC possuem importância ecológica por serem adaptadas às condições ambientais, uma vez que a maioria delas são nativas ou espontâneas, crescendo sem a necessidade de insumos e agroquímicos. Além disso, as PANC são abundantes, têm baixos custos de produção, e causam pouco impacto ambiental. Mais importante ainda, algumas PANC têm altos valores nutricionais e podem atender às características funcionais requeridas para humanos (Aschemann-Witzel & Peschel, 2019; Campanaro *et al.*, 2019).

Além de trazer diversificação aos cardápios, a utilização das PANC pode representar uma fonte extra de renda familiar, uma vez que muitas espécies têm grande potencial econômico, como hortaliças, ornamentais, frutíferas, até mesmo no preparo de pães, bolos, sucos e sorvetes. Isso pode ocorrer principalmente em países como o Brasil, em que a biodiversidade tem um grande potencial de uso alimentar a ser ainda pesquisado (Kinupp & Lorenzi, 2014; Thorntor *et al.*, 2018). Porém, em razão da falta de conhecimento, essas plantas ainda são muito pouco utilizadas na nossa dieta (Biondo *et al.*, 2018), uma vez que não existem informações básicas sobre essas espécies, se são comestíveis ou não,

suas formas de preparo, partes que podem ser utilizadas. Dessa forma, estes recursos alimentares ainda são economicamente desconhecidos (Kinupp & Lorenzi, 2014).

Dessa forma, faz-se necessário o estudo do potencial alimentício das espécies presente em cada região, valorizando a produção local e agregando valor às espécies nativas e/ou espontâneas. O cenário mundial atual é de mudança, visto que com o aumento populacional, algumas pessoas optam por um consumo mais saudável e diverso. Também há um aumento nos movimentos em prol de uma dieta mais nutritiva, valorizando a produção local, sem causar danos ao meio ambiente (Schinaider *et al.*, 2017; Bedin *et al.*, 2018).

OBJETIVOS

- Proporcionar aos alunos do ensino médio a vivência de uma aula prática de produção de sorvete e *sorbet*.
- Promover ações que despertem o interesse e o reconhecimento das PANC para uso alimentícios e em preparações culinárias que podem servir como fonte de renda.
- Desenvolver de maneira simples o uso sustentável das PANC.

PROTOCOLO ADAPTADO DE:

Wrobel, A. M.; Teixeira, E. C. O.; Canteri, M. H. G.; Monteiro S. A. 2017. **Elaboração e avaliação sensorial de um sorvete de chocolate com adição de biomassa de banana verde (*Musa spp*)**. Trabalho de Conclusão de Curso de Tecnólogo em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa.

EQUIPAMENTOS, MATERIAIS E REAGENTES NECESSÁRIOS

1 *freezer* ou ultra *freezer*

2 liquidificadores ou 2 multiprocessadores

2 batedeiras com *bowl* de metal

10 raladores

4 espátulas

EPIs: aventais, luvas e toucas

40 potes de plástico (80 mL) descartáveis, com tampa

2 kg de açúcar

2 litros de leite integral

1 pote de emulsificante Emustab

300 g de frutas (Figura 1)

300 g de PANC (araçá, butiá, jaracatiá, bananinha do mato, anona - fruta-do-conde, uvaia, graviola, jabuticaba e tuna cacto).

Figura 1. Amora nativa (*Rubus sellowii* Cham. & Schltdl.), cereja nativa (*Eugenia involucrata* DC.), erva-mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) e ameixa amarela (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.).



Fonte: *Rubus sellowii* - <https://www.colecionandofrutas.com.br/rubusellowii.htm>; *Eugenia involucrata* - <http://www.odairplantas.com.br/muda/46/cereja-do-rio-grande>; *Ilex paraguariensis* - <https://guaiba.com.br/2019/03/27/erva-mate-e-destacada-em-setor-do-espaco-casa-da-emater-na-expoagro/>; *Eriobotrya japonica* - <https://www.gazetadopovo.com.br/viver-bem/comportamento/amora-pitanga-nespera-frutas-de-rua/>.

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

Receita base para sorbet:

300 g de PANC congelada em pedaços pequenos

Xarope a gosto

Bater no *mixer* até formar uma massa homogênea

Receita do Xarope:

100 g de açúcar

100 mL de água

Em uma panela, aquecer até dissolver todo o açúcar. Desligar e deixar esfriar.

Receita base para sorvete:

300 mL de leite integral

150 g de açúcar

300 g de polpa de PANC

20 g de emulsificante Emustab

O processo de elaboração do sorvete foi realizado conforme diagrama apresentado na Figura 2. Após a realização de todas as etapas, o sorvete foi retirado da batedeira, embalado em potes, e armazenados em *freezer*, em temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, para a etapa de endurecimento.

Figura 2. Diagrama compreendendo as oito etapas do processo de elaboração do sorvete.



Dependendo do objetivo da aula, pode ser feita uma dinâmica inicial onde se abordam diferentes conteúdos. Por exemplo, pode-se expor as espécies de plantas para que os alunos digam quais são conhecidas e quais são comestíveis, apresentando à turma as plantas que serão utilizadas na elaboração do sorvete/*sorbet*. Discorrer sobre a diversidade e potencial nutritivo das PANC (comparar os nutrientes das PANC e de plantas convencionais).

Fazer a polpa de cada planta com os alunos.

Fazer o sorvete e o *sorbet*.

Deixar as polpas das frutas já congeladas no *freezer* para facilitar o preparo.

REFERÊNCIAS:

Aschemann-Witzel, J.; Peschel, A. O. 2019. Consumer perception of plant-based proteins: The value of source transparency for alternative protein ingredients. **Food Hydrocolloids**, 96, 20-28. 10.1016/j.foodhyd.2019.05.006

Bedin, E.; Torricelli, C.; Gigliano, S.; De Leo, R.; Pulvirenti, A. 2018. Vegan foods: Mimic meat products in the Italian market. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, 13, 1-9. 10.1016/j.ijgfs.2018.04.003

Biondo, E.; Fleck, M.; Sant'anna, V. 2017. Centesimal and mineral analysis of native wild strawberries from Southern of Brasil. In.: ConferenceSeries.com. Journal of Food Processing & Technology: Open Access. **Agri World & Euro Food and Beverage**, Amsterdam, v. 8. Issue 1, 101p.

Biondo, E.; Fleck, M.; Kolchinski, E. M.; Voltaire, S. A.; POLESI, R. G. 2018. Diversidade e potencial de utilização de plantas alimentícias não convencionais no Vale do Taquari, RS. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, 4(1), 61-90. 10.21674/2448-0479.41.61-90

Campanaro, A.; Tommasi, N.; Guzzetti, L.; Galimberti, A.; Bruni, I.; Labra, M. 2019. DNA barcoding to promote social awareness and identity of neglected, underutilized plant species having valuable nutritional properties. **Food research international**, 115, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.031>

Kinupp, V.F. 2007. **Plantas alimentícias não-convencionais da região metropolitana de Porto Alegre, RS**. Tese (Doutorado em Agronomia), Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, v.2, 562p.

Kinupp, V.F.; Lorenzi, H. 2014. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. São Paulo:Plantarum, 768p. ISBN: 978.85.86714.46.7

Schinaider, A. D.; da Silva, L. X.; Schinaider, A. D.; Liberalesso, A. M. 2017. O estado da arte do consumo vegano na produção científica internacional. **Estudos Sociedade e Agricultura**, 25(3), 528-544.

Thornton, P. K.; Kristjanson, P.; Förch, W.; Barahona, C.; Cramer, L.; Pradhan, S. 2018. Is agricultural adaptation to global change in lower-income countries on track to meet the future food production challenge?. **Global environmental change**, 52, 37-48. 10.1016/j.gloenvcha.2018.06.003

Wrobel, A. M.; Teixeira, E. C. O.; Canteri, M. H. G.; Monteiro S. A. 2017. Elaboração e avaliação sensorial de um sorvete de chocolate com adição de biomassa de banana verde (*Musa spp*). Trabalho de Conclusão de Curso de Tecnólogo em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa.

4.4 OFICINA: Biotecnologia e produção de alimentos derivados do leite

AUTORES:

Adriano Gennari - lattes.cnpq.br/6880549726005673

Cláudia Schlabititz - lattes.cnpq.br/3427576764664542

Daniel Kuhn - lattes.cnpq.br/2164018760361843

Claucia Fernanda Volken de Souza - lattes.cnpq.br/4215540900949347

INTRODUÇÃO

As bactérias ácido-láticas (BALs) são grupos de microrganismos que tem como principal característica a produção de ácido lático pela fermentação de carboidratos. São Gram positivas, não formadoras de esporos, catalase e oxidases negativas e anaeróbias facultativas (SILVA et al., 2018). As bactérias ácido-láticas são encontradas em diversos ambientes, inclusive na microbiota natural de humanos e animais (BRUNO, 2011). Espécies de BAL pertencentes aos gêneros *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* e *Streptococcus* desempenham uma importante função na produção de produtos lácteos fermentados (FOX et al., 2017; DOMINGOS-LOPES et al., 2017).

Os microrganismos necessitam de condições ideais para se multiplicar. Entre os alimentos de origem animal, o leite apresenta as melhores condições para o desenvolvimento microbiano. Fatores como o pH, elevada atividade de água e concentração de nutrientes tornam o leite um alimento com condições favoráveis para a multiplicação de microrganismos (MONTEL et al., 2014).

As culturas de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* compõem os microrganismos utilizados na fabricação de iogurtes. Estas bactérias são as responsáveis pela produção dos compostos voláteis, tais como diacetil, acetaldeído e ácido acético, que conferem características sensoriais ao iogurte (MUNIANDY et al., 2017). O fermento comercial para a produção de iogurte pode conter bactérias de outros gêneros e espécies, como *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus*.

O iogurte é considerado uma opção saudável para incluir na dieta, devido a sua composição de proteínas, vitaminas e cálcio, por exemplo. Esse produto lácteo fermentado pode ser elaborado de duas maneiras: industrial e caseira. Na produção industrial é utilizada uma ampla infraestrutura, que envolve máquinas e equipamentos, enquanto na produção caseira são empregados utensílios domésticos.

OBJETIVOS

- Aproximar o conhecimento científico da realidade do aluno.

- Possibilitar aos alunos uma compreensão acerca do uso de bactérias no processo de fabricação de iogurte.
- Apresentar aos estudantes os princípios biotecnológicos envolvidos na elaboração de produtos lácteos fermentados.

PROTOCOLO ADAPTADO DE:

ROBERT, N. F. **Dossiê técnico: Fabricação de iogurte.** Rede de tecnologia do Rio de Janeiro, 2008.

EQUIPAMENTOS, MATERIAIS E REAGENTES NECESSÁRIOS:

Geladeira

Medidor de pH

Estufa (caso não tenha, leia as dicas abaixo da descrição da técnica)

Termômetro

Gelo

Espátulas ou colheres

Frascos de vidro com boca larga

Leite integral pasteurizado

Fermento lácteo para iogurte

Açúcar cristal ou refinado

Polpa de morango congelada ou 250 g de morangos *in natura*

Corante alimentício vermelho ou rosa

Aroma de morango

Goma xantana

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

A figura 1 apresenta o fluxograma do processo de elaboração de iogurte, no qual está escrito abaixo.

1. Aquecer 1 litro de leite pasteurizado a 43 °C (não utilizar leite cru);
2. Adicionar o fermento lácteo;
3. Incubar em estufa a 43 °C até atingir o pH 4,5;
4. Resfriar em banho de gelo até 4 a 10 °C;
5. Adicionar 100 g de açúcar e homogeneizar;
6. Adicionar 50 g de polpa de morango ou 250 g de morangos processados no liquidificador e homogeneizar;
7. Adicionar 0,7 g de goma xantana e homogeneizar.

A goma xantana pode ser dissolvida em um volume menor de leite (em 10 mL de leite) antes de ser adicionada na mistura. Com isso, a goma xantana ficará mais homogênea em toda a mistura.

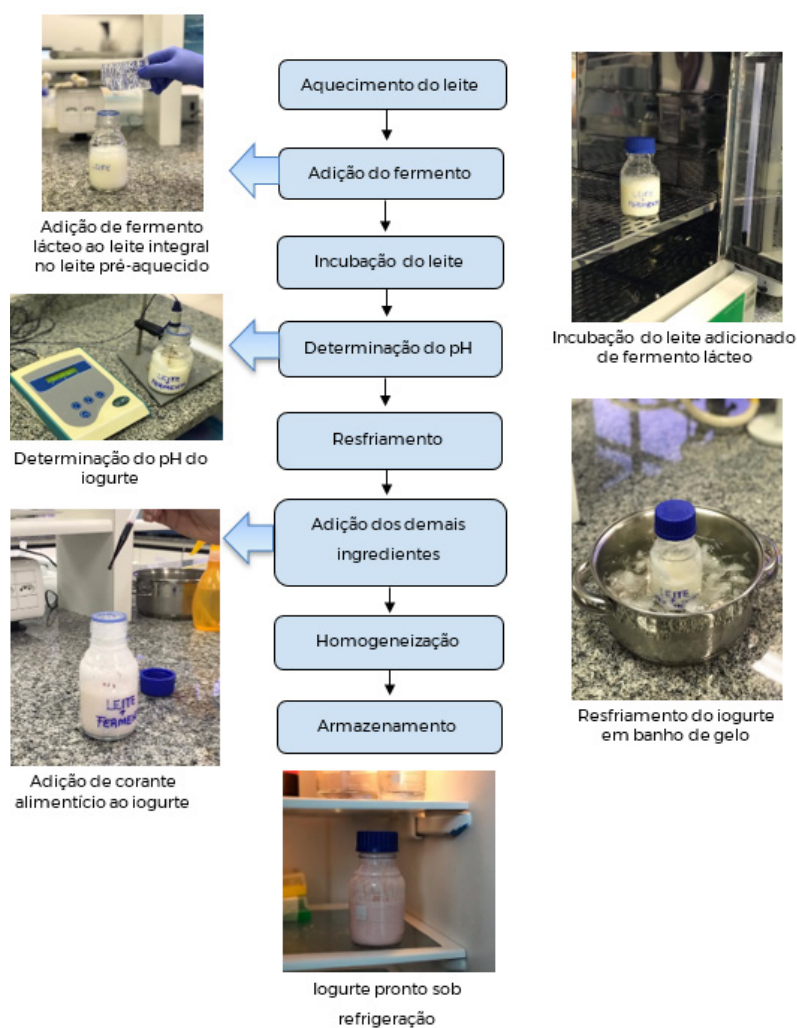
8. Adicionar o corante e o aroma a gosto e homogeneizar;
9. Armazenar em geladeira por 12 horas antes do consumo;
10. Consumir em, no máximo, 7 dias.

Dicas

O fermento lácteo para iogurte pode ser adquirido em lojas de produtos naturais. O fermento pode ser substituído por iogurte natural (um pote de 180 g para 1 litro de leite).

Na ausência de uma estufa, pode-se colocar o leite com o fermento dentro de uma caixa de isopor, e na mesma caixa colocar um recipiente com água morna/quente. Isso fará com que a temperatura se eleve, melhorando a ação das bactérias. Outra possibilidade seria substituir a caixa de isopor por um forno previamente aquecido a 50 °C. Quando o leite com o fermento for transferido para o forno, ele deverá estar desligado para manter a temperatura em aproximadamente 43 °C.

Figura 1. Fluxograma do processo de elaboração do iogurte



Fonte: Dos autores.

REFERÊNCIAS:

BRUNO, L. M. **Manual de Curadores de Germoplasma – Micro-organismos: Bactérias Ácido-Láticas**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 15, 2011.

DOMINGOS-LOPES, M. F. P.; STANTON, C.; ROSS, P. R.; DAPKEVICIUS, M. L. E.; SILVA, C. C. G. Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. **Food Microbiology**, v. 63, p. 178-190, 2017.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of Cheeses Science**. 2. ed. New York: Springer, 2017.

MONTEL, M-C.; BUCHIN, S.; MALLEY, A.; DELBES-PAUS, C.; VUITTON, D. A.; DESMASURES, N.; BERTHIER, F. Tradition chesses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. **International Journal of Food Microbiology**, v. 177, p. 136-154, 2014.

MUNIANDY, P.; SHORI, A. B.; BABA, A. S. **Comparison of the effect of green, white and black tea on Streptococcus thermophilus and Lactobacillus spp. in yogurt during refrigerated storage**. Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences, v. 22, p. 26-30, 2017.

ROBERT, N. F. **Dossiê técnico: Fabricação de iogurte**. Rede de tecnologia do Rio de Janeiro, 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 1ª ed. digital. São Paulo: Edgard Blücher LTDA; 535p., 2018.

4.5 OFICINA: Antioxidantes realmente melhoram sua saúde?

AUTORES

Diorge Jônatas Marmitt - lattes.cnpq.br/8456597948914373

Débora Bublitz Anton - lattes.cnpq.br/2386519462144289

Geovana Reichert Barin - lattes.cnpq.br/8544563673467464

Stephanie Rehfeldt - lattes.cnpq.br/1462919055664019

Márcia Inês Goettert - lattes.cnpq.br/5742493416858879

INTRODUÇÃO

Em organismos aeróbios, o oxigênio é indispensável para a produção de energia (ATP) e para a manutenção das funções fisiológicas. Para a produção de ATP, moléculas de O_2 são submetidas a quatro processos de redução subsequentes, até chegarem a um produto final, moléculas de H_2O . Entretanto, metabólitos intermediários conhecidos como espécies reativas de oxigênio (EROS) são inevitavelmente produzidos, ou ainda, espécies reativas de nitrogênio (ERNS), que são grupos de moléculas produzidas no corpo humano, que induzem danos oxidativos a organelas celulares e biomoléculas orgânicas (Ali, Ahsan, Zia, Siddiqui, & Khan, 2020; Poljšak & Fink, 2014). As EROS e ERNS podem ser radicais livres e, nesse caso, possuem um elétron não emparelhado na camada de valência tendendo a reagir com outras moléculas, ou seja, são quimicamente estáveis, mas também precursoras de radicais livres prejudiciais. Entre as EROS, os principais exemplos são o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e radical hidroxila ($\cdot OH$) e o oxidante não radical peróxido de oxigênio (H_2O_2). Já como exemplo de ERNS, podemos citar o óxido nítrico (NO), uma molécula não radical (Ali et al., 2020).

Espécies reativas provocam oxidação nos ácidos graxos poli-insaturados nos lipídios da membrana plasmática, oxidação de proteínas, quebra da fita do DNA, oxidação do RNA, despolarização mitocondrial e morte celular (apoptose), o que seria incompatível com a vida caso não houvesse nenhum mecanismo compensatório. Nesse sentido, os antioxidantes são moléculas capazes de reagir diretamente com as espécies reativas reduzindo sua capacidade de oxidante ou até mesmo impedindo sua produção. Antioxidantes podem apresentar-se de maneiras diferentes, uma vez que possuem distintos “alvos” e mecanismos de ação: podem ser naturais ou sintéticos; hidrofílicas ou hidrofóbicas; fontes endógenas ou exógenas (Dikalov & Harrison, 2012; Kasote, Katyare, Hegde, & Bae, 2015; Mittal, Siddiqui, Tran, Reddy, & Malik, 2014; Poljsak, Šuput, Milisav, an, & Milisav, 2013; Prior & Wu, 2013; Schulz, Wenzel, Münzel, & Daiber, 2014). Os antioxidantes, como o ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), carotenoides e polifenóis (por exemplo, flavonoides), são atualmente considerados os principais antioxidantes exógenos.

De fato, estudos clínicos indicam que uma dieta rica em frutas, vegetais, grãos integrais, legumes e ácidos graxos insaturados pode contribuir na prevenção de doenças como câncer, por exemplo (Abdali, Samson, & Grover, 2015; Alleva et al., 2012; Cook & Samman, 1996; Kalyanaraman, 2013; Prior & Wu, 2013; Saha et al., 2017; Williamson & Manach, 2005)

Apesar de parecerem “vilões” à primeira vista, espécies reativas desempenham funções fisiológicas e, portanto, necessárias. Ou seja, durante uma infecção bacteriana, monócitos (células de defesa) englobam bactérias e liberam H_2O_2 , o que leva à morte bacteriana. Outro exemplo inclui o NO, que participa na regulação da liberação de neurotransmissores no sistema nervoso central e periférico e contribuição no controle da pressão sanguínea (Di Meo, Reed, Venditti, & Victor, 2016). Seguindo a mesma linha de raciocínio, um consumo excessivo de suplementos antioxidantes pode provocar intoxicações, interferir no sistema imunológico (ao combater bactérias) e em mecanismos de defesa essenciais para a remoção de células danificadas, incluindo aquelas que são pré-cancerosas e cancerígenas. Nesse sentido, para obter os efeitos benéficos à saúde é importante alcançar um equilíbrio entre a produção de espécies reativas e a sua neutralização por antioxidantes. Ou seja, efeitos “pró” e “anti” oxidativos dos antioxidantes dependem da dose e, portanto, uma maior quantidade não é necessariamente melhor (Poljsak, Šuput, & Milisav, 2013).

Produtos naturais, microrganismos, plantas e/ou moléculas, por exemplo, são considerados uma das maiores fontes na obtenção de novos compostos, inclusive antioxidantes. Conforme revisão realizada por Newman & Cragg (2016), aproximadamente 70% dos fármacos foram desenvolvidos a partir de produtos naturais e de seus derivados sintéticos ou semissintéticos. O Brasil possui um vasto potencial para pesquisa nessa área, visto que detém cerca de 20% da biodiversidade mundial (Brasil, 2006), embora apenas parte do percentual de produtos naturais tenham sido estudada em relação ao ponto de vista farmacológico. Nesse sentido, os relatos da medicina popular são importantes para a seleção de espécies com potencial terapêutico, a fim de direcionar estudos a partir de dados etnofarmacológicos, resultando na identificação de uma quantidade maior de fitoconstituintes (Marmitt et al., 2016).

Os benefícios da biotecnologia também podem ser reconhecidos na saúde, visto que sua aplicação tecnológica inclui medicamentos e produtos farmacêuticos (Akhondzadeh, 2015). O emprego da biotecnologia pode resultar em alternativas na produção de novos produtos bem como em novas formas de produzir produtos existentes. Exemplos da primeira incluem possíveis substâncias medicinais que são produzidas em pequena quantidade no corpo humano e que não podem ser sintetizadas tais como insulina. Por outro lado, a produção de novas formas de produtos já existentes incluem a identificação e o isolamento de compostos bioativos oriundos de produtos naturais, a fim de serem utilizados na terapia de doenças (Gaisser; Nusser, 2010; Demain; Adrio, 2012) e, nesse

contexto, destaca-se a oficina “Antioxidantes realmente melhoram sua saúde?” vinculada ao projeto de pesquisa “Biotecnologia e Farmacologia de Produtos Naturais”.

Diferentes metodologias podem ser empregadas para determinar a capacidade antioxidante de um composto, extrato ou de outras fontes biológicas. O ensaio DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) é baseado na captura do radical DPPH por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorvância a ser avaliada em espectrofotômetro (Mensor et al., 2001). É considerado um método já validado, preciso, fácil e econômico que apresenta resultados altamente reprodutíveis e que considera não apenas a concentração de antioxidantes mas também o tempo necessário para a captura do radical até atingir um platô (Kedare & Singh, 2011).

OBJETIVOS

- Determinar o potencial antioxidante de sucos de frutas, natural e industrializados;
- Comparar com uma solução antioxidante de referência, ácido ascórbico 1 mg/mL, segundo o método *in vitro* DPPH adaptado de Mensor et al. (2001).

PROTOCOLO ADAPTADO DE:

Mensor, F.S.; Menezes, C.C.; Leitão, A.S.; Reis, T.C.; dos Santos, C.S.; Coube, S.G. **Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method.** Phytotherapy Research, 15, 127-30, 2001.

EQUIPAMENTOS, MATERIAIS E REAGENTES NECESSÁRIOS

- Espectrofotômetro;
- 40 cubetas para espectrofotômetro;
- Agitador de tubos de ensaio ou Falcon;
- Balança analítica;
- 4 cronômetros digitais;
- 4 micropipetas de volume variável (100-1000 µl);
- 4 micropipetas de volume variável (20-200 µl);
- 1 caixa de ponteiros (100-1000 µl);
- 1 caixa de ponteiros (20-200 µl);
- Balão volumétrico;
- Espátulas;
- 40 tubos de ensaio de 10 ml;

4 beakers de 100 ml;

4 descartes para ponteiros;

4 canetas marca-texto para vidraria;

Papel alumínio;

Luvas descartáveis tamanhos “P”, “M” ou “G”, conforme a necessidade dos alunos;

500 ml de álcool etílico 99,8%;

0,004 g de DPPH(α -diphenyl- β -picrylhydrazyl; peso molecular: 394,33 g/mol);

Ácido Ascórbico (pelo menos 1mg para criar a curva padrão);

1 copo de suco de laranja natural, feito poucas horas antes da técnica;

1 caixinha de suco de laranja industrializado.

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

Preparo da solução de DPPH a 0,004%

DICA:

Manter a solução de DPPH protegida da luz (em ambiente escuro) durante toda a prática.

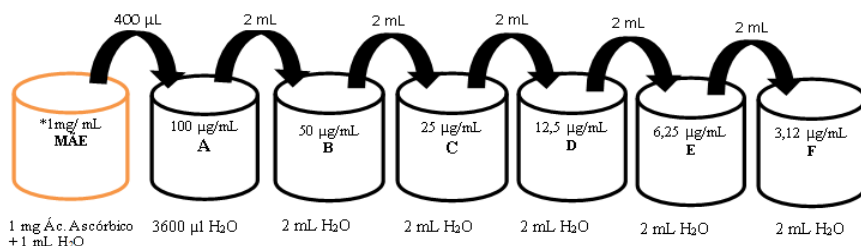
Dissolver 0,004 g de DPPH em álcool etílico e completar o volume para 100 ml em um balão volumétrico com álcool etílico, homogeneizar e transferir para um frasco âmbar, devidamente etiquetado, ou proteger o balão volumétrico com a solução de DPPH com papel alumínio.

Preparo da Curva de Ácido Ascórbico (Vitamina C)

Preparar em tubos de ensaio as diluições do ácido ascórbico (AA) a partir da solução mãe de 1 mg/mL:

- 1) No primeiro tubo, adicionar 3600 μ L de H₂O + 400 μ L da solução mãe de AA e homogeneizar bem;
- 2) Nos demais tubos, adicionar 2 mL de H₂O;
- 3) Passar 2 mL da solução do tubo 1 para o tubo 2 e homogeneizar bem;
- 4) Passar 2 mL da solução do tubo 2 para o tubo 3 e homogeneizar bem (repetir este processo para as demais diluições, conforme indicado na figura abaixo);

Curva-padrão de ácido ascórbico (controle positivo)



Fonte: Dos autores.

Separe 5 tubos de ensaio e adicione em todos 1000 µL de DPPH. Em seguida, adicionar 500 µL de cada diluição da curva-padrão do ácido ascórbico (conforme figura abaixo);

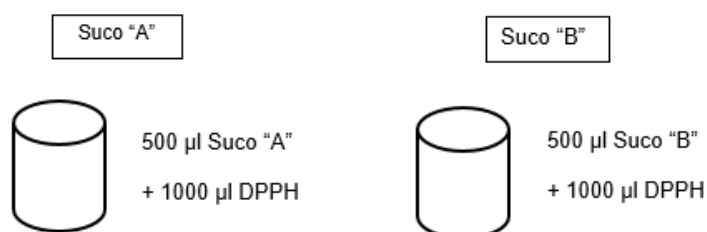


Fonte: Dos autores.

DICA:

O controle positivo serve para assegurar que a reação irá ocorrer na presença do antioxidante.

Amostras: Em dois tubos de ensaio, adicionar 500 µL de cada suco (separadamente) + 1000 µL DPPH.



DICA:

O número de amostras a serem analisadas fica a critério do professor.

Branco das amostras: Em dois tubos de ensaio, adicionar 500 µL de cada suco (separadamente) + 1000 µL de etanol.

Controle negativo (CN): Em um tubo de ensaio, adicionar 500 µL de etanol + 1000 µL de DPPH.

- Este controle negativo pode também ser utilizado para zerar o espectrofotômetro antes de e efetuar a leitura das amostras incubadas com a solução etanólica de DPPH.

DICA:

O controle negativo serve para assegurar que nenhuma reação está acontecendo sem a presença do antioxidante

Incubar as diluições da curva-padrão, as amostras e os controles em ambiente escuro por aproximadamente 30 minutos;

Calibração do espectrofotômetro

- Configurar a leitura para um comprimento de onda de 517 nm;

DICA:

Para calibrar o "Branco", utilizar 1 ml de etanol

Leitura das amostras

- 1) Pipetar 1 ml de etanol em uma cubeta e ler em 517 nm - definir como "Branco";
 - 2) Pipetar 1 ml do CN em uma nova cubeta, ler em 517 nm e registrar a absorbância;
 - 3) Pipetar 1 ml de cada diluição da curva-padrão de ácido ascórbico e das amostras em cubetas separadamente;
- Realizar as leituras sempre com o mesmo comprimento de onda, ou seja, 517 nm.
 - Após a estabilização da leitura, registrar o resultado informado pelo espectrofotômetro.
 - Utilize cubetas limpas, íntegras e posicionadas corretamente de forma que a passagem do feixe de luz não seja prejudicada levando a interferências na leitura.

Cálculo da atividade antioxidante (AA):

O ensaio baseia-se na alteração da coloração roxa para amarela; ou seja, quanto mais o radical DPPH (violeta) for reduzido para DPPH-H menor será o valor da absorbância na mistura de reação em 517 nm. Assim, para o cálculo da AA substituir os valores obtidos nos ensaios na fórmula abaixo:

$$\% AA = \frac{100 - (\text{absorbância das amostras} - \text{absorbância do branco} \times 100)}{\text{absorbância do CN}}$$

Os resultados são expressos em porcentagem (%).

DICA:

- Sempre preparar uma nova solução de DPPH. Nunca armazenar o restante para ser utilizado em outro dia ou período;
- O ideal é que as luzes próximas ao local onde o ensaio será realizado permaneçam apagadas, evitando-se a interferência da mesma nas análises. Aconselha-se deixar ligadas apenas as luzes distante do local ou ainda trabalhar com a luz ambiente;
- A eficiência antioxidante é medida à temperatura ambiente, para que o risco de degradação térmica das moléculas testadas seja eliminado.

REFERÊNCIAS:

- Abdali, D., Samson, S. E., & Grover, A. K. (2015). How effective are antioxidant supplements in obesity and diabetes? *Medical Principles and Practice*, 24(3), 201-215. <https://doi.org/10.1159/000375305>
- Ali, S. S., Ahsan, H., Zia, M. K., Siddiqui, T., & Khan, F. H. (2020). Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. *Journal of Food Biochemistry*, 44(3). <https://doi.org/10.1111/jfbc.13145>
- Alleva, R., Di Donato, F., Strafella, E., Staffolani, S., Nocchi, L., Borghi, B., ... Tomasetti, M. (2012). Effect of ascorbic acid-rich diet on in vivo-induced oxidative stress. *British Journal of Nutrition*, 107(11), 1645-1654. <https://doi.org/10.1017/S0007114511004806>
- Akhondzadeh, S. The Importance of Ethics in Medical Biotechnology. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 7(3), 89. 2015.
- Brasil. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf>
- Cook, N. C., & Samman, S. (1996). Flavonoids—Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 7(2), 66-76. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(95\)00168-9](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(95)00168-9)
- Demain, A.L.; Adrio, J.L. Essential role of genetics in the advancement of biotechnology. *Methods in Molecular Biology*, 898, 1-40, 2012.
- Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P., & Victor, V. M. (2016). Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/1245049>
- Dikalov, S. I., & Harrison, D. G. (2012). Methods for Detection of Mitochondrial and Cellular Reactive Oxygen Species. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(2), 121019094741000. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4886>
- Gaisser, S.; Nusser, M. The role of biotechnology in pharmaceutical drug design. *Zeitschrift für Evidenz, Fortbildung und Qualität Gesundheitswes*, 104(10), 732-737, 2010.
- Kalyanaraman, B. (2013). Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biology*, Vol. 1, pp. 244-257. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.01.014>

- Kasote, D. M., Katyare, S. S., Hegde, M. V., & Bae, H. (2015). Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *International Journal of Biological Sciences*, 11(8), 982–991. <https://doi.org/10.7150/ijbs.12096>
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011, August). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, Vol. 48, pp. 412–422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
- Marmitt, D.J.; Faleiro, D.; Kich, D.M.; Leipelt, J.; Flores, N. O; Baldasso, T.; Immich, S.M.; Goettert, M.I. Oficinas de Biotecnologia para o Ensino Médio: Antioxidantes, a Fonte da juventude? *Revista de Ensino de Bioquímica*, 14(3), 46-56, 2016.
- Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2014). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(7), 1126–1167. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5149>
- Mensor, F.S.; Menezes, C.C.; Leitão, A.S.; Reis, T.C.; dos Santos, C.S.; Coube, S.G. *Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method*. *Phytotherapy Research*, 15, 127–30, 2001.
- Newman, D.J.; Cragg, G.M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, 79, 629–661, 2016.
- Poljšak, B., & Fink, R. (2014). The protective role of antioxidants in the defence against ROS/RNS-mediated environmental pollution. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014(i). <https://doi.org/10.1155/2014/671539>
- Poljsak, B., Šuput, D., & Milisav, I. (2013). Achieving the Balance between ROS and Antioxidants: When to Use the Synthetic Antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 11. <https://doi.org/10.1155/2013/956792>
- Poljsak, B., Šuput, D., Milisav, I., an, & Milisav, I. (2013). ROS and antioxidants: whAchieving the balance between en to use the synthetic antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 956792. <https://doi.org/10.1155/2013/956792>
- Prior, R. L., & Wu, X. (2013). Diet Antioxidant Capacity: Relationships to Oxidative Stress and Health. *Am. J. Biomed. Sci*, 5(2), 126–139. <https://doi.org/10.5099/aj130200126>
- Saha, S. K., Lee, S. Bin, Won, J., Choi, H. Y., Kim, K., Yang, G. M., ... Cho, S. G. (2017). Correlation between oxidative stress, nutrition, and cancer initiation. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7). <https://doi.org/10.3390/ijms18071544>
- Schulz, E., Wenzel, P., Münzel, T., & Daiber, A. (2014). Mitochondrial redox signaling: Interaction of mitochondrial reactive oxygen species with other sources of oxidative stress. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(2), 308–324. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4609>
- Williamson, G., & Manach, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *Am J Clin Nutr*, 81, 243S–255S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.230S> [pii]

4.6 OFICINA: Confeção de sabonetes utilizando óleos essenciais (Cravo da Índia)

AUTORES

Emelin Pappen - lattes.cnpq.br/2233288322488137

Ana Paula Morschbacher - lattes.cnpq.br/3319338933200249

Laura Reckziegel - lattes.cnpq.br/3982252355253457

Eduardo Miranda Ethur - lattes.cnpq.br/0536800052883688

INTRODUÇÃO

Os óleos extraídos de plantas possuem inúmeras vantagens que podem ser aproveitadas pelo ser humano. Estes óleos chamados essenciais são produzidos pelos vegetais como produto de seu metabolismo secundário, possuindo normalmente odor e formado por vários compostos voláteis. Sabe-se que eles possuem ações antifúngicas, antioxidantes, antimicrobianas e também inseticidas (Miranda et al. 2015). A sua utilização está associada às terapias integrativas, que tem o objetivo de promover o bem-estar do corpo, da mente e da saúde em geral utilizando produtos naturais que possuem custo baixo (DESCHAMPS et al. 2013; MONTIBELER et al. 2018).

As moléculas químicas presentes nos óleos essenciais podem desenvolver sua ação através da inalação dos princípios voláteis ou através de absorção cutânea proporcionada pelo uso de cremes ou sabonetes contendo os óleos (GNATTA; DORNELLAS; SILVA, 2011; BRITO et al. 2013).

OBJETIVOS

- Extrair óleo essencial do cravo da Índia
- Confeccionar sabonetes contendo óleo essencial

PROTOCOLO ADAPTADO DE:

RODELLA, Fernanda Messias. **Extração e atividade antibacteriana do óleo essencial do cravo-da-Índia**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA. Assis – São Paulo 2015.

EQUIPAMENTOS, MATERIAIS E REAGENTES NECESSÁRIOS

Chapa de aquecimento

Balança

Manta de aquecimento

Becker

Bastão vidro

Balão de fundo redondo 500mL

Ponte de destilação

Grampos

Conjunto de garras

Mufa

Erlenmeyer 250mL/Becker 250mL para coleta

Proveta 50 mL

Bastão vidro

Espátula

Funil para líquidos

Mangueiras

Funil de separação

Balão de fundo redondo

Cortiça

Forma para confecção de sabonetes

Cravo da Índia

Base glicerizada transparente

Diclorometano PA

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

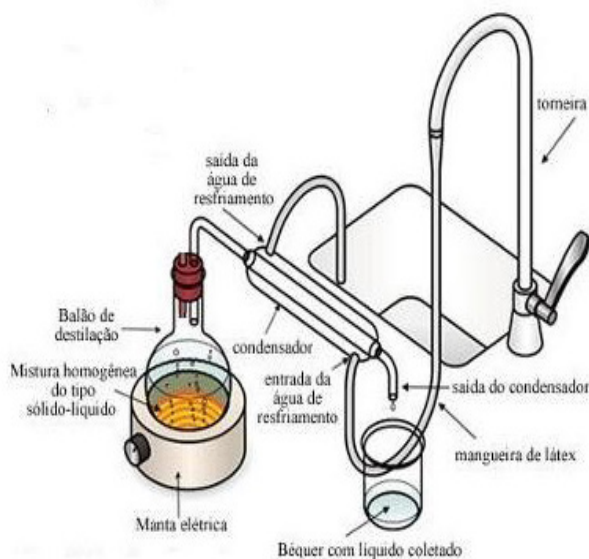
- Extração Óleo essencial de cravo da Índia

1 - Montar o sistema de destilação simples de acordo com a figura 1;

Obs: *Pode-se utilizar bico de Bunsen em vez de chapa de aquecimento.

*Pode-se utilizar erlenmeyer ou becker para recolhimento do material destilado.

Figura 1: Sistema de destilação simples



Fonte: <https://www.ufjf.br/quimica/files/2015/06/AULA02.pdf>.

- 2** – Pesar 50gramas de cravo da índia na balança;
 - 3** – Colocar o cravo da índia no balão de fundo redondo 500mL que vai ser aquecido;
 - 4** – Acrescentar 250mL de água deionizada;
 - 5** – Ligar a chapa de aquecimento a aproximadamente 150°C;
 - 6** – Após iniciar a fervura da água manteve-se a chapa em temperatura aproximada de 100°C;
- Obs:** Prestar atenção ao nível de água do balão, quando este diminuir, acrescentar mais água.
- 7** – A extração do óleo essencial de cravo pode ser mantida por no mínimo 60 minutos, podendo estender-se por mais tempo;
 - 8** – Transferir 200mL do liquido que contem água mais o óleo essencial extraído e que foi recolhido no erlenmeyer/becker para o funil de separação que está no suporte;
 - 9** – Acrescentar 100 mL do reagente diclorometano no funil de separação 500mL;
- Obs:*** Realizar essa etapa em capela de exaustão de gases.
- * A pessoa que manipular deverá utilizar óculos de proteção e luvas, além dos EPI utilizados.
- 10** – Tampar o funil de separação;
 - 11** – Inverter o funil de separação;

12 - Agitar o funil de separação em movimentos circulares, aproximadamente por 1 minuto, e neste tempo ir abrindo a torneira ocasionalmente para ocorrer a liberação dos vapores produzidos pelo solvente, de acordo com a figura 2;

Obs: *Os movimentos NÃO devem ser realizados de maneira brusca. *É importante realizar a abertura da torneira para aliviar a pressão interna do funil devido aos vapores produzidos, isso evitará que a tampa seja projetada.

Figura 2: Manipulação do funil de separação



Fonte: <https://www.ufff.br/quimica/files/2015/06/AULA02.pdf>.

13 - Recolocar o funil de separação no suporte e deixar em descanso por aproximadamente 1 minuto;

Obs: Será observada a formação de duas fases.

14 - Recolher a fase orgânica (incolor) em um becker, de acordo com a figura 3;

Figura 3: Fase aquosa e fase orgânica



Fonte: <https://www.ufff.br/quimica/files/2015/06/AULA02.pdf>.

15 - Transferir a fase orgânica para um balão de fundo redondo e levar ao rota-evaporador.

16 - Ligar o banho-Maria do rota-evaporador a 40°C e ligá-lo até o solvente evaporar

17 - Acondicionar o óleo essencial extraído em um vidro com conta gotas e reservar.

- **Confeção dos sabonetes**

1 - Pesar 50g da base glicerizada em um becker;

2 - Aquecer o becker que tem a base glicerizada em chapa de aquecimento a aproximadamente 60°C;

3 – Aguardar a base glicerizada liquefazer;

Obs: * Mexer a base que está se liquefazendo com bastão de vidro para acelerar o processo.

4 – Pingar 5 gotas do óleo essencial de cravo da índia que foi extraído na base líquida, homogeneizar a base utilizando o bastão de vidro;

5 – Verter a base nas formas para sabonete e aguardar solidificar;

Obs: Pode-se colocar os cravos inteiros como decoração dentro dos sabonetes.

6 – Embalar os sabonetes;



Fonte: Dos autores.

REFERÊNCIAS

BRITO, A. M. G. et al. Aromaterapia: da gênese a atualidade. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, v. 15, n. 4, p. 789-793, 2013.

DESCHAMPS, Cícero et al. Avaliação de genótipos de *Mentha arvensis*, *Mentha x piperita* e *Mentha spp.* para a produção de mentol. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 178-183, 2013.

GNATTA, Juliana Rizzo; DORNELLAS, Eliane Vasconcellos; SILVA, Maria Júlia Paes da. The use of aromatherapy in alleviating anxiety. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 24, n. 2, p. 257-263, 2011.

MIRANDA, Cíntia Alvarenga Santos Fraga et al. Atividade alelopática de óleos essenciais de plantas medicinais na germinação e vigor de aquênios de alface. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 1783-1797, 2015.

RODELLA, Fernanda Messias. Extração e atividade antibacteriana do óleo essencial do cravo-da-índia. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA. Assis – São Paulo 2015.

4.7 OFICINA: EXTRAÇÃO DO DNA BACTERIANO, uma ferramenta importante para identificação de bactérias

AUTORES

Ana Paula Mörschbacher - lattes.cnpq.br/3319338933200249

Emílio Berghahn - lattes.cnpq.br/8964402932408179

Lucas Gerhardt da Rosa - lattes.cnpq.br/2730658967825877

Camille Eichelberger Granada - lattes.cnpq.br/1836592557536308

INTRODUÇÃO

As bactérias são seres microscópicos que possuem funções importantes tanto no meio ambiente quanto para seres humanos e outros animais. No meio ambiente, estes microrganismos podem agir na decomposição de materiais, degradar compostos químicos e auxiliar o crescimento de plantas. Para os animais, estes podem atuar como defensores do hospedeiro contra doenças e também produzir de antibióticos (GÓMEZ DUARTE et al., 2018; CÁRDENAS; MERCHÁN; LÓPEZ 2019).

A análise do material genético de cada microrganismo é a ferramenta básica para sua identificação. Estas análises visam, além da identificação, fornecer informações sobre o funcionamento bioquímico da bactéria, pela presença de genes específicos para cada função (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO 2010).

OBJETIVOS

- Extrair o DNA genômico de um isolado bacteriano.

PROTOCOLO ADAPTADO DE:

POZZOBON, A.; DAMETTO, A.; SCHORR-LENZ, A. M.; GRANADA, C. E.; STEIN, C.; BLASI, E. A. R.; DIFENTHALER, F. O.; BUFFON, G.; BERTUZZI, G. P.; BUSTAMANTE FILHO, I. C.; GUIMARÃES, J. A.; GENRO, J. P.; WOLLINGER, L. M.; SANTI, L.; GOETTERT, M. I.; OLIVEIRA, M. B.; SEIBEL, P. M.; SPEROTTO, R. A.; SILVA, R. Z.; DORNELLES, T. F.; CONTINI V.; WALDOW, V. A.; SILVA, W. O. B. **Extração e quantificação de ácidos nucleicos**. In: SPEROTTO, R. A. **Protocolos e métodos de análise em laboratórios de biotecnologia agroalimentar e de saúde humana**. Lajeado/RS: Editora Univates, 2014. 329 p. ISBN 978-85-8167-077-5

EQUIPAMENTOS, MATERIAIS E REAGENTES NECESSÁRIOS

Estufa Banho-Maria

Centrífuga para microtubos

Microtubos de 1,5 mL

Micropipetadores automáticos de 2, 20 e 1000 μ L

Pipetador automático de 10 mL

Microponteiros de 2, 20 e 1000 μ L

Ponteiras de 10 mL

Suporte para microtubos

Freezer

Acetato de amônio 8M

Isopropanol PA

Lisozima 20 mg/mL

NaCl 5M

Solução de SDS 20%

Solução TE1

Solução TE2

Solução TES

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

O protocolo de extração de DNA, descrito a seguir, inclui basicamente duas etapas principais: (I) o rompimento das membranas celulares e (II) purificação do DNA em solução. Assim, após o rompimento da membrana celular, a “sopa” de constituintes celulares é purificada até que reste somente o material genético (DNA).

1. Promover o crescimento da cepa de estudo em um meio de cultura específico até atingir a fase de crescimento exponencial;
2. Transferir uma alíquota de 1,5 mL da cultura bacteriana para microtubos de 1,5 mL;
3. Centrifugar por 3 minutos a 12.000 rpm e descartar o sobrenadante com cuidado;
4. Adicionar ao microtubo, 700 μ L de solução TES (solução tampão utilizada para limpeza), homogeneizar e centrifugar por 3 minutos a 12.000 rpm;

	Composição	Quantidade
Solução TES	Tris 1 M (pH 8) EDTA 0,5 M (pH 8) NaCl 5 M Água destilada estéril	1 mL (C_{final} 10 mM) 5 mL (C_{final} 25 mM) 3 mL (C_{final} 150 mM) Complete para 100 mL

* Esta solução deve ser armazenada na geladeira. C_{final} = concentração final.

5. Descartar o sobrenadante e ressuspender o *pellet* adicionando 500 μL de solução TE1 (solução tampão utilizada para inibir a atividade das nucleases);

	Composição	Quantidade
Solução TE1	Tris 1 M (pH 8) EDTA 0,5 M (pH 8) Água destilada estéril	1 mL (C_{final} 10 mM) 5 mL (C_{final} 25 mM) Complete para 100 mL

* Esta solução deve ser armazenada na geladeira. C_{final} = concentração final.

6. Adicionar 25 μL da enzima lisozima 20 mg/mL (enzima utilizada para degradar a parede celular e romper a célula bacteriana) e incubar em banho-Maria por 10 minutos a 37°C;
7. Adicionar ao microtubo 100 μL de SDS 20% (detergente iônico forte utilizado para romper as membranas celulares);
8. Adicionar 200 μL de acetato de amônio 8 M (utilizado para precipitar o DNA bacteriano extraído), homogeneizar com cuidado e deixar no gelo (ou *freezer*) por 30 minutos;
9. Retirar o microtubo do gelo e centrifugar por 5 minutos a 12.000 rpm;
10. Aspirar todo o sobrenadante (fase aquosa) e transferir para um novo microtubo;
11. No novo microtubo, acrescentar 10 μL de NaCl 5 M (utilizado para precipitar as proteínas devido ao excesso de íons no meio) e 0,6 volumes de isopropanol PA gelado (utilizado para tornar o meio hidrofóbico e precipitar o DNA sobre sua própria estrutura);

DICA:

Nesta fase a solução deve ter 500 μL . Se não tiver, completar o volume com TE2.

12. Homogeneizar suavemente e incubar no gelo por 10 minutos;
13. Centrifugar por 10 minutos a 12.000 rpm e descartar o sobrenadante com cuidado;

- 14.** Ressuspender o *pellet* utilizando 15 μ L de solução TE2 (utilizada para manter o DNA extraído em ambiente adequado);

	Composição	Quantidade
Solução TE2	Tris 1 M (pH 8) EDTA 0,5 M (pH 8) Água destilada estéril	1 mL (C_{final} 10 mM) 200 μ L (C_{final} 1 mM) Complete para 100 mL

* Esta solução deve ser armazenada na geladeira. C_{final} = concentração final.

- 15.** Adicionar 2 μ L da amostra em gel de agarose 0,8% e submeter a eletroforese, para verificar a eficiência a extração do DNA.

Observação: a eletroforese em gel de agarose é uma técnica de separação de moléculas que envolve a migração de partículas dispersas em um gel durante a aplicação de uma diferença de potencial. A separação ocorre de acordo com o seu tamanho, pois as partículas de menor massa irão migrar mais rapidamente que as de maior massa. A eficiência da extração do DNA pode ser verificada pelo método de eletroforese em gel de agarose, por leitura da intensidade de fluorescência do brometo de etídeo, um corante que se intercala nas moléculas dos ácidos nucleicos e produz fluorescência sob luz ultravioleta. A quantidade observada sob UV é proporcional à massa total de DNA da amostra colocada no poço da eletroforese. Para quantificá-la, faz-se a foto em câmara polaróide (ou também câmera digital) e compara-se a fluorescência da amostra àquela de um padrão conhecido.

REFERÊNCIAS:

- GÓMEZ DUARTE, Gloria Elizabeth et al. Perfil de resistencia de microorganismos aislados en el Servicio de Microbiología del Hospital Nacional en el año 2017. **Rev. Nac.(Itauguá)**, p. 21-38, 2018.
- CÁRDENAS, Lorena Liseth; MERCHÁN, Maritza Angarita; LÓPEZ, Diana Paola. New antibiotics against bacterial resistance. **Infectio**, v. 23, n. 4, p. 382-387, 2019.
- GUIMARÃES, Denise Oliveira; MOMESSO, Luciano da Silva; PUPO, Mônica Tallarico. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

4.8 OFICINA: Microbiologia: Avaliação de Colônias, Coloração de Gram e Microscopia de bactérias e fungos

AUTORES

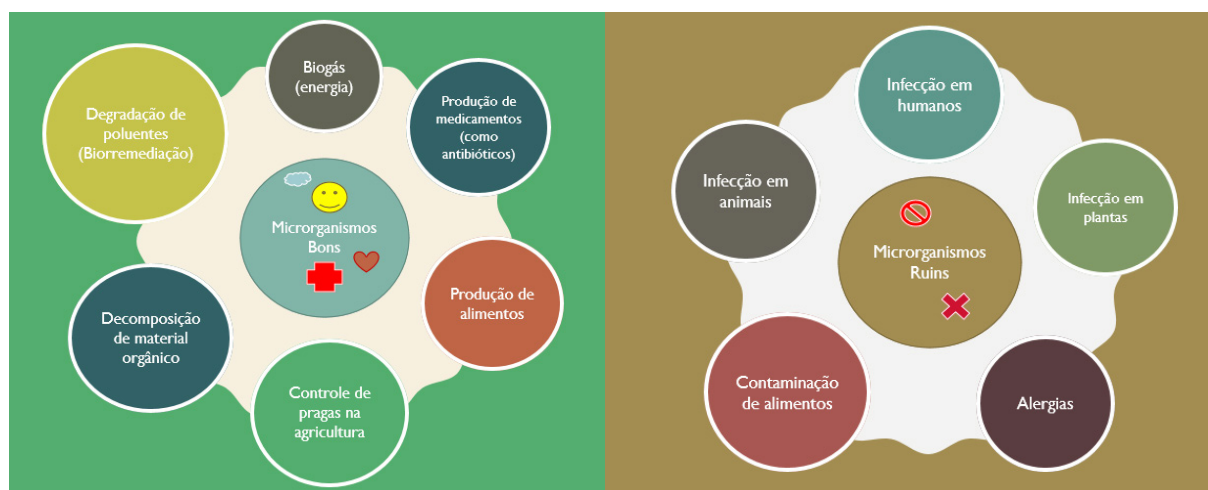
Fernanda Fensterseifer - lattes.cnpq.br/1018536174349615

Daiane Heidrich - lattes.cnpq.br/0246512416355112

INTRODUÇÃO

Microbiologia é a ciência que estuda os microrganismos, seres muito pequenos, que não podem ser vistos a olho nu. Podem ser formados por uma ou mais células. São encontrados em todos os ambientes, tanto na água, ar e terra como em animais. Eles estão classificados em 5 grupos: Bactérias, Fungos, Vírus, Parasitas e Amebas.

Figura 1. Benefícios e Malefícios causados por microrganismos.



Fonte: Do autor.

Bactérias e fungos podem ser benéficos, como apresentado na figura 1, pois decompõem a matéria orgânica, degradam poluentes (biorremediação), controlam pragas na agricultura, podem ser alimentos (cogumelos) ou serem usados para produção de alimentos (como iogurte, queijo, bebidas alcoólicas), medicamentos (como antibióticos), fonte de energia (biogás), além de auxiliar na degradação e a absorção de alimentos. Entretanto, os fungos e bactérias podem trazer malefícios, causando doenças (infecções e alergias) e contaminando alimentos, acarretando em prejuízos e desperdícios (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

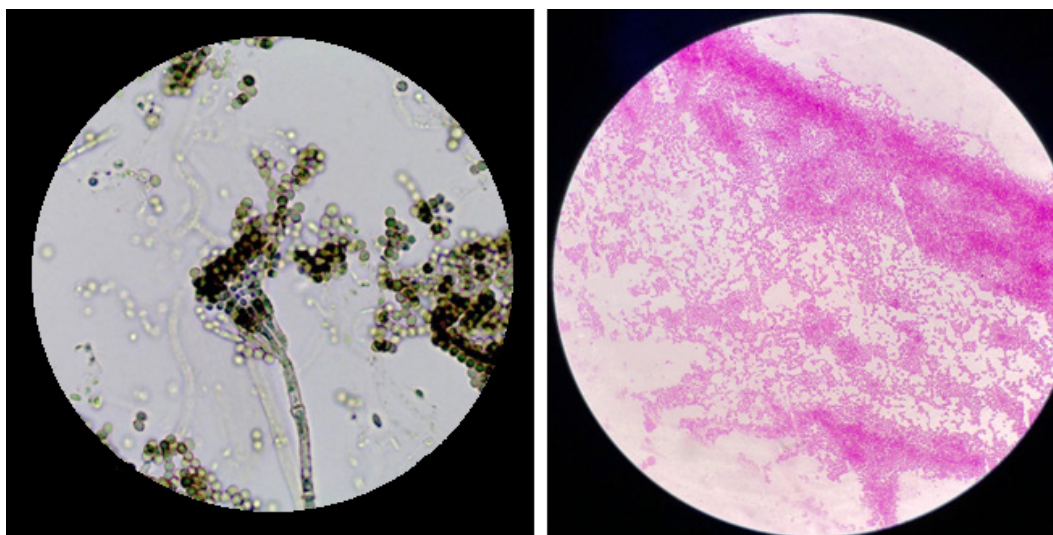
O ambiente está repleto de microrganismos, e um grande número é encontrado em nossa microbiota normal. No entanto, isso não é motivo de preocupação, visto que eles nos protegem de outras doenças e previnem a entrada de outros microrganismos maléficos em nosso corpo (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012, pg 18), como por exemplo, um grande número de bactérias da microbiota no intestino e na boca em um indivíduo sadio

dificulta a invasão por microrganismos que causam doenças (chamados de patogênicos), devido à competição por nutrientes e ligação a sítios receptores, como a superfície das células do hospedeiro (STROHL; ROUSE; FISHER, 2004, p. 23).

Os microrganismos mais comuns que compõe a microbiota oral são os difteróides e *Streptococcus* (STROHL; ROUSE; FISHER, 2004, p.22). Microrganismos difteróides vem implicando em infecções periodontais em roedores, e *Streptococcus mutans* é responsável pela formação de colônias adesivas nos dentes, conhecidas como placas (TANZER, J. M.; G. J. HAGEAGE, JR., 1970).

Como os microrganismos são pequenos, se faz necessário o uso de microscópios, que possibilitam aumentar seu tamanho. Para analisar fungos, geralmente é preciso aumentar seu tamanho de 100 a 400 vezes. Já para bactérias, é necessário aumento de 1.000 vezes para visualizar. Assim, podemos observá-los e caracterizá-los de acordo com suas formas (figura 2).

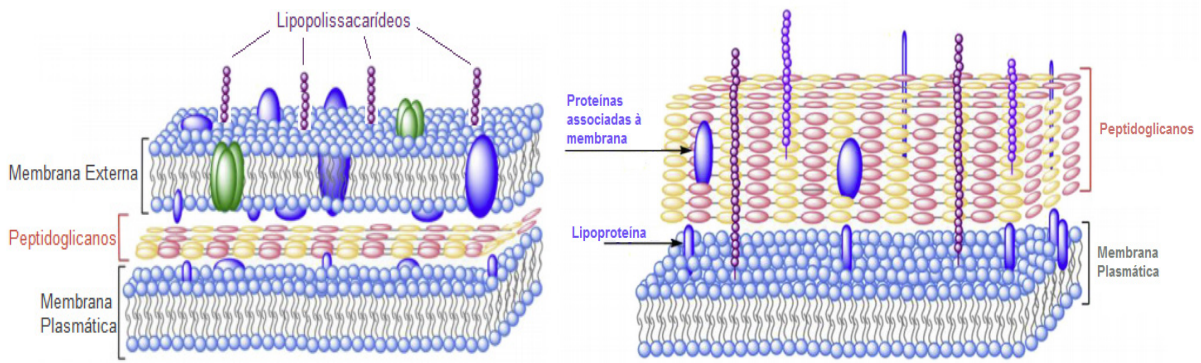
Figura 2. Diferença de tamanho entre fungos e bactérias observados em microscópio. Fungo filamentoso à esquerda - *Penicillium* sp. (400 x) e Bactéria Gram-Negativa à direita - *Salmonella* sp. (1000 x).



Fonte: Adaptado de Oliveira, 2013; Do autor.

Para diferenciar os microrganismos, faz-se necessária a avaliação em microscópio, aliada a métodos de coloração. Christian Gram, em 1884, desenvolveu uma técnica para diferenciar bactérias, que se chama Coloração de Gram. Nesta técnica, as bactérias são separadas em gram positivas e gram negativas, devido a diferença na composição da parede e membrana citoplasmáticas destes dois grupos. As bactérias gram positivas possuem uma parede espessa composta por peptidoglicanos sobreposta à membrana citoplasmática da bactéria. Já as bactérias gram negativas possuem parede celular com fina camada de peptidoglicanos entre duas membranas, sendo que a membrana externa possui lipopolissacarídeos (figura 3) (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Figura 3. Estrutura celular da parede de células gram-positivas (à esquerda) e da parede de células gram-negativas (à direita).

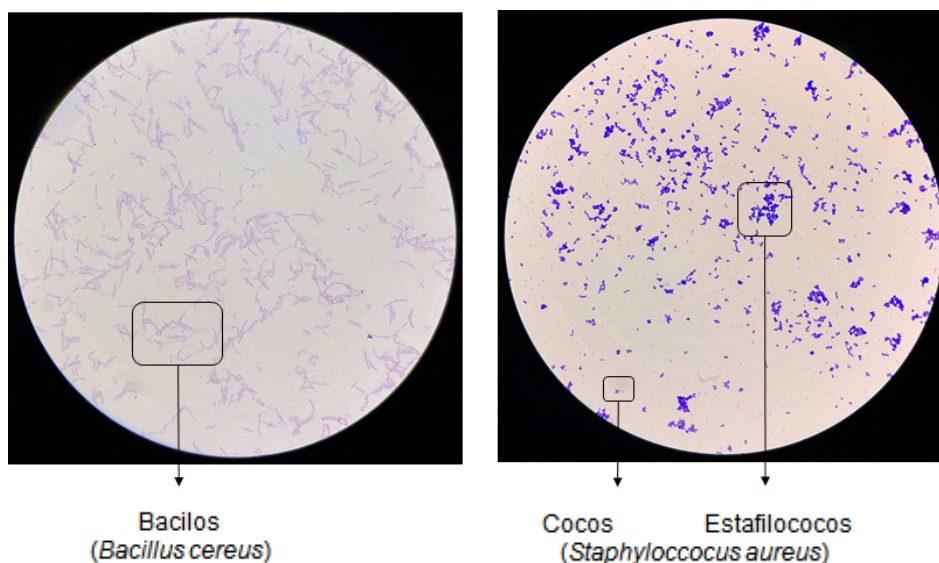


Fonte: Adaptado de Pankratova; Hedersted; Gorton, 2019.

Além disso, as bactérias são classificadas também pelo seu formato (figura 4), tendo como exemplos cocos, bacilos, e podem ter estruturas de movimentação, como flagelos (semelhantes a cílios) (VERMELHO et al., 2019).

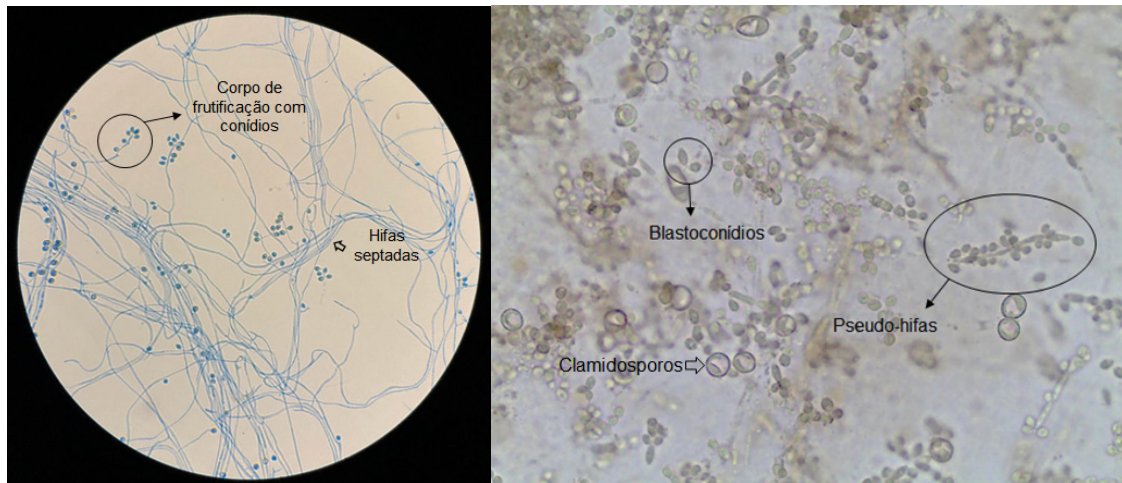
Na figura 5 é possível observar estruturas fúngicas, sendo os fungos filamentosos seres pluricelulares e são assim chamados em função de um “corpo”, chamado de micélio, que consiste em filamentos longos de células conectadas. Esses filamentos são denominados hifas, podendo conter paredes cruzadas (septos), possíveis de visualizar em microscópios. Fungos filamentosos podem se reproduzir de forma sexuada ou assexuada. Na última, há formação de corpos de frutificação, que identificam os gêneros fúngicos. Já as leveduras são fungos unicelulares, podendo ser esféricas ou ovais, e são bastante encontrados na natureza. Elas podem possuir estruturas semelhantes a hifas, denominadas pseudo-hifas, e seus esporos são denominados blastoconídios (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Figura 4: Formas bacterianas (1000 x).



Fonte: Do autor.

Figura 5: À esquerda: *Sporothrix* spp., apresentando hifas septadas, conídios e corpo de frutificação em formato de “margarida” que identifica o gênero deste fungo filamentoso. Coloração com lactofenol azul de algodão (400 x). Fonte: do autor. À direita: *Candida albicans*, levedura encontrada na microbiota do organismo humano. Entretanto, formação de pseudo-hifas indica que ela está causando uma infecção (400 x).



Fonte: Adaptado de Oliveira, 2013.

OBJETIVOS

- Compreender o que é microbiologia e sua importância.
- Verificar a diversidade de microrganismos do ambiente e da mucosa oral.

PRÁTICA 1. Observação da Biodiversidade Microbiana do Ambiente

PROTOCOLO ADAPTADO DE:

DA SILVA, Matheus H.R; et al. **Isolamento e identificação de microrganismos presentes em superfícies de teclados e mouses de uma universidade de Três Lagoas, MS.** Colloq Vitae. 2014; 6(3):83-90.

EQUIPAMENTOS, MATERIAIS E REAGENTES NECESSÁRIOS (para 20 alunos - 10 duplas)

Algodão hidrofílico

Pissetas com álcool etílico 70%

Jaleco (avental) de algodão com mangas compridas e abotoamento frontal.

Máscaras, idealmente, N-95

Luvas de látex ou nitrílicas com ou sem talco

Prática 1:

Bico de bunsen

10 placas de petri descartáveis estéreis 90x15 mm contendo meio Ágar Sabouraud estéril

10 placas de petri 90x15 mm contendo meio Ágar nutriente (ou outro não seletivo para bactérias) para 10 placas estéril

20 swabs estéreis embalados individualmente

Parafilme ou plástico filme

Caneta de tinta permanente para vidro

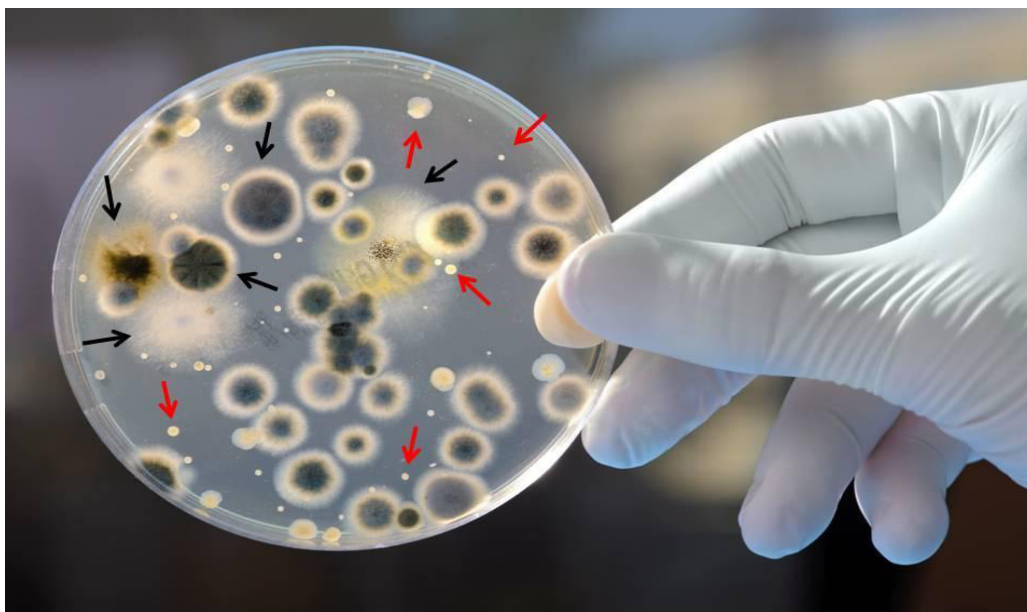
DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

- 1.** Cada dupla: escolha um local para isolamento de microrganismos. Pode ser do próprio corpo ou de materiais inanimados (exemplos: bebedouro, mesa, cadeira, celular, descarga sanitária, entre outros);
- 2.** Limpe a bancada de trabalho com algodão embebido em álcool etílico 70% fazendo movimento vertical retilíneo de trás para frente e após, com um movimento horizontal retilíneo na beira da bancada;
- 3.** Ligue o bico de bunsen com fósforo (Tenha cuidado! Se tiver dúvida, peça ajuda!);
- 4.** Faça um pequeno orifício na extremidade lateral da embalagem (próximo ao final do cabo do swab) - Não jogue a embalagem fora;
- 5.** Retire o swab de dentro da embalagem, pegando somente na parte do cabo;
- 6.** Umedeça os swabs em solução salina 0,89% estéril e passe os swabs umedecidos, friccionando-os por cerca de 10 segundos no local escolhido previamente, para que os microrganismos ali presentes sejam transferidos para os swabs;
- 7.** Recoloque cada swab dentro da sua embalagem original;
- 8.** Próximo ao fogo (idealmente até a 10 cm da chama, para manter a assepsia do ambiente), abra a tampa da placa de petri contendo um dos meios de cultura e passe um dos swabs por toda a superfície do meio de cultura e coloque a tampa na placa;
- 9.** Repita o item 8 utilizando a outra placa e o outro swab; Descarte os swabs no lixo contaminado (lixo branco).
- 10.** Identifique a placa com caneta permanente com nome da dupla, meio de cultura, local de isolamento e data;
- 11.** Vede a placa com plástico filme ou parafilme;

- 12.** Incube as placas a 25 a 30 graus Celsius em estufa microbiológica com a placa invertida para que o meio de cultura não desidrate.
- 13.** Após 2 dias, observe o crescimento de bactérias, principalmente no meio para desenvolvimento bacteriano (meio ágar nutriente) e leveduras, principalmente crescidas em meio indutor do crescimento fúngico (meio ágar Sabouraud). Observe a diversidade microbiana, avaliando a cor (verso e reverso da placa), brilho, textura.
- 14.** Após 7 dias a 14 dias, observe o crescimento de fungos filamentosos (bolor), avaliando a cor da colônia central e das bordas, a formação de pregas nas colônias, tanto avaliações do verso e do reverso das colônias.

As características visuais citadas nos pontos 13 e 14 são chamadas de características macroscópicas, pois você consegue observá-las a olho nu (figura 6).

Figura 6. Colônias de bactérias ou leveduras (setas vermelhas) e fungos filamentosos (setas pretas) vistas a olho nu em meio não seletivo.



Fonte: Adaptado de InfoEscola. Disponível em: <<https://www.infoescola.com/microbiologia/cultura-bacteriana/>>. Acesso em 19.03.2020.

Dicas

- Para avaliação das características microscópicas dos microrganismos crescidos, é necessário avaliar em microscópio óptico!
- Para bactérias: uma pequena quantidade de células bacterianas podem ser suspensas em solução salina 0,89% com auxílio de uma alça de inoculação e fixadas em lâmina (limpa previamente com álcool etílico 70%) na chama para posterior coloração de Gram.

- Para leveduras: uma pequena quantidade delas pode ser suspensa em corante lactofenol azul de algodão diretamente na lâmina e após, deve ser adicionado uma lamínula limpa com álcool etílico 70%.
- Para fungos filamentosos: é necessário tirar um pequeno pedaço com alça de platina da colônia a ser analisada, colocar em cima de uma lâmina, adicionar uma gota de lactofenol azul de algodão e após e pressionar o fungo com o corante com uma lamínula limpa.

PRÁTICA 2: Coloração de gram da mucosa oral

PROTOCOLO ADAPTADO DE:

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 10ª edição. Porto Alegre: Artmed, p. 2012.

EQUIPAMENTOS, MATERIAIS E REAGENTES NECESSÁRIOS (para 20 alunos - 10 duplas)

Microscópio com aumento de 1000x

Bico de bunsen

20 swabs estéreis embalados individualmente

Lâminas

Rolo de papel suave (pode ser papel higiênico)

10 kits de soluções para Gram (contendo: corantes cristal de violeta e fucsina (ou safranina), soluções de lugol e álcool-acetona)

Óleo de imersão

Caixa de fósforos

Pinça de madeira

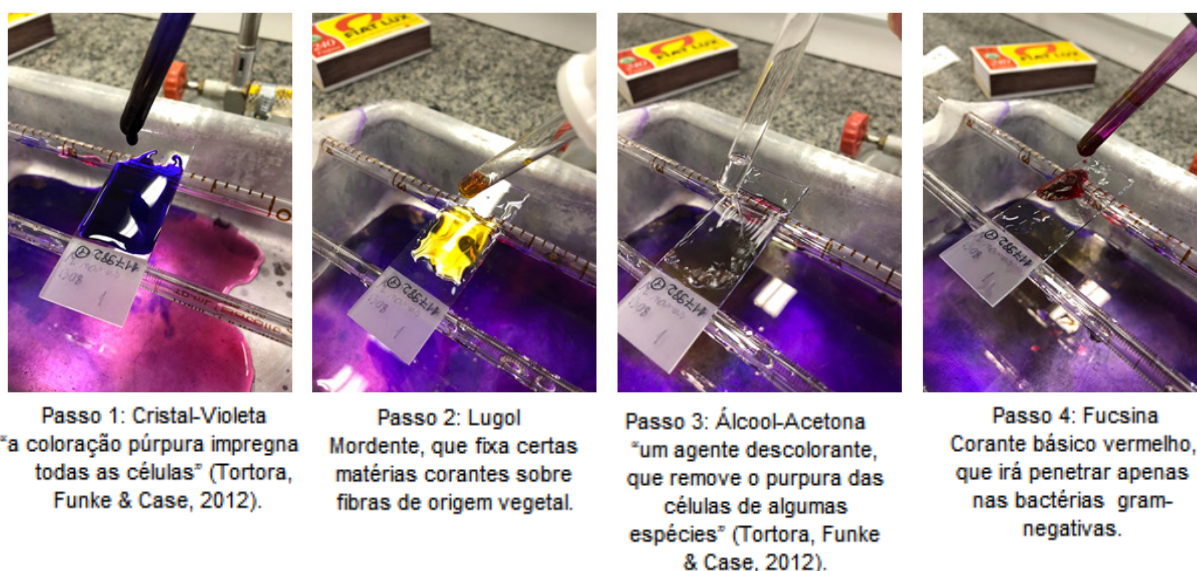
Coloração de gram da mucosa oral

Preparo da lâmina (figuras 7 e 8)

1. Coletar uma amostra da mucosa da boca com auxílio de um swab;
2. Passar levemente a amostra sobre uma lâmina;
3. Fixar a amostra na lâmina na chama do bico de bunsen segurando com pinça de madeira;

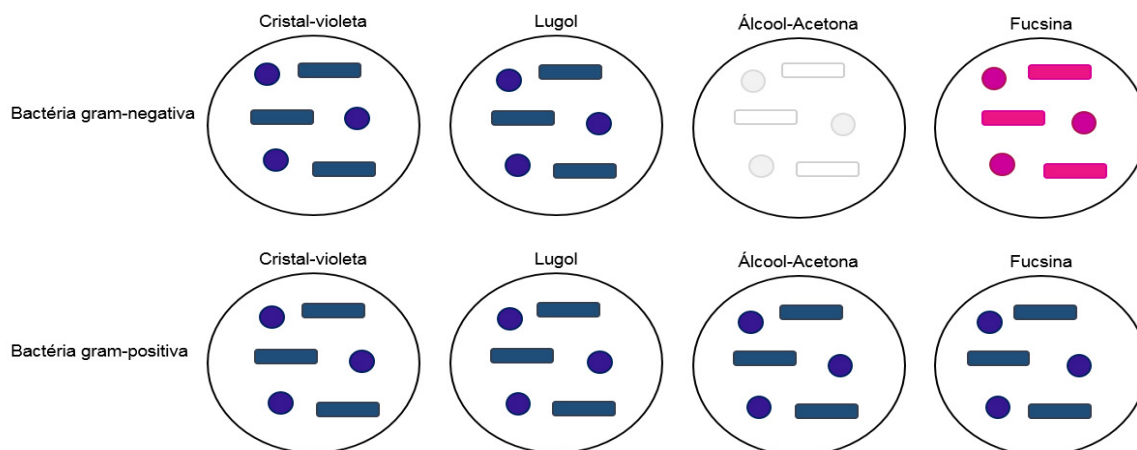
4. Corar a lâmina com cristal-violeta por 1 minuto (nessa etapa, todas as células ficarão coradas de azul/violeta);
5. Lavar com água delicadamente (para tirar o excesso de corante);
6. Cobrir a lâmina com lugol por 1 minuto (nessa etapa, o iodo, presente no lugol, vai formar cristais grandes de iodo+corante dentro das células);
7. Lavar com água delicadamente (para tirar o excesso de lugol);
8. Lavar a lâmina com álcool-acetona até não sair mais cor (nessa etapa, nas bactérias gram-negativas haverá rompimento da camada externa de lipopolissacarídeo, sendo os cristais removidos através da camada delgada de peptidoglicano. Assim, as bactérias gram-negativas ficam sem cor);
9. Lavar com água de forma delicada e abundante (para retirar todo o álcool-acetona);
10. Corar a lâmina com fucsina ou safranina por 1 minuto (nessa etapa, a fucsina irá penetrar apenas as células gram-negativas, corando-as de vermelho/rosa, enquanto que as gram-positivas continuarão azul/violeta);
11. Lavar com água delicadamente (para retirar excesso de corante);
12. Secar um pouco com papel. Mas sem passar o papel sobre a amostra;
13. Terminar de secar na chama do bico de bunsen segurando por prendedor.

Figura 7: Técnica de Coloração Gram.



Fonte: Do autor.

Figura 8: Técnica de Coloração Gram: passo a passo da coloração das bactérias.

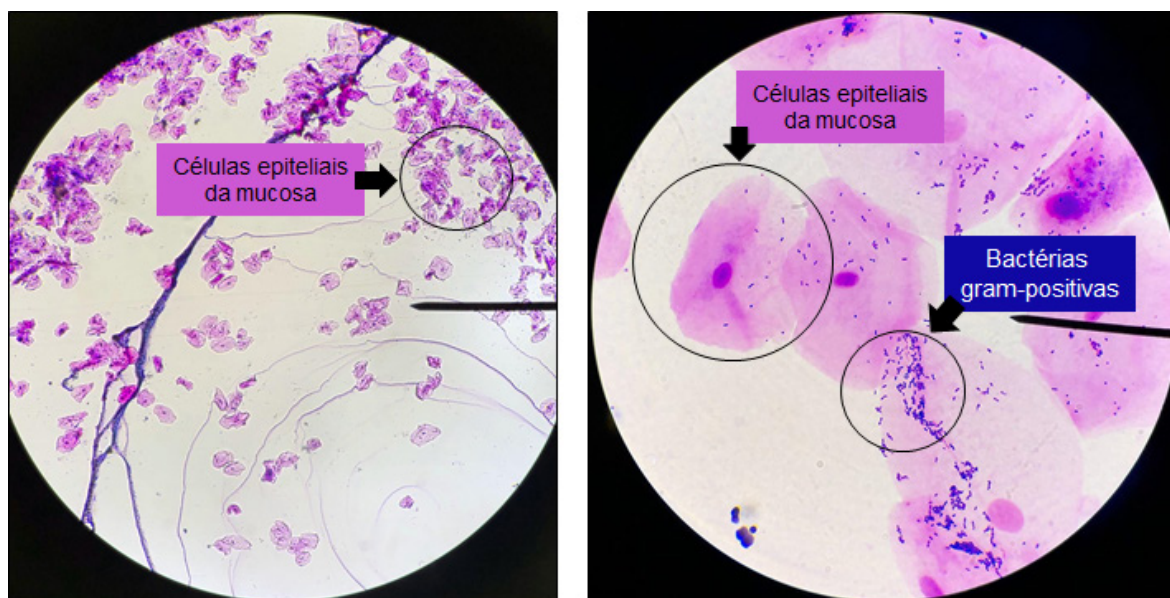


Fonte: do autor

Visualização de microrganismos da mucosa oral

1. Verifique se a platina está baixa e se a objetiva é 10 x. Se não estiver, organize isso.
2. Colocar a lâmina presa na platina;
3. Ligar o microscópio;
4. Aumentar a luz devagar;
5. Ajustar as oculares aos teus olhos (até visualizar um campo único);
6. Ajustar a lâmina na platina de forma que a amostra com cor fique no feixe de luz;
7. Pelo macrométrico, subir a platina até o limite;
8. Pelo micrométrico, baixar a platina até visualização de células (encontrar o foco. Dica: foque em uma célula epitelial);
9. Coloque na objetiva de 40 x. Assim, as células da mucosa oral estarão ampliadas em 400 x;
10. Procure leveduras;
11. Coloque na objetiva de 100 x adicione uma gota de óleo de imersão, para visualização de bactérias. Elas ficarão ampliadas em 1000x (Figura 9).

Figura 9: Células epiteliais e bactérias gram positivas coletadas da mucosa oral.



Ampliação em 100x

Ampliação em 1000x

Fonte: Do autor.

REFERÊNCIAS:

DISALVO, Dr Art. **MYCOLOGY - CHAPTER FIVE FILAMENTOUS FUNGI**. Microbiology and Immunology On-line, dez. 2018. Disponível em: <<https://www.microbiologybook.org/mycology/mycology-5.htm>>. Acesso em: 20 mar. 2020.

OLIVEIRA, Jeferson Carvalhaes de. **Atlas de Micologia Médica**. 2013. Disponível em: <https://controllab.com/pdf/atlas_micologia_laminas.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2020.

PANKRATOVA, G., HEDERSTEDT, L., & GORTON, L. (2019). Extracellular electron transfer features of Gram-positive bacteria. **Analytica Chimica Acta**, p. 32-47, out. 2019. Disponível em: <[doi:10.1016/j.aca.2019.05.007](https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.05.007)>. Acesso em: 20 mar. 2020.

STROHL, William A.; ROUSE, Harriet; FISHER, Bruce D. **Microbiologia Ilustrada**. Porto Alegre: ARTMED® EDITORA, 2004.

TANZER, J. M.; G. J. HAGEAGE, JR. Polyphosphate Inhibition of Growth of Plaques Formed by Streptococci and Diphtheroids Implicated in Oral Disease. **Infection and Immunity**, v. 1, n. 6, p. 604-606, 1970. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16557783>>.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **MICROBIOLOGIA**. 10ª edição. Porto Alegre: Artmed, p. 2012.

VERMELHO, Alane Beatriz; PEREIRA, Antônio Ferreira; COELHO, Rosalie Reed Rodrigues; SOUTO-PADRÓN, Thaís Cristina Beata Soares. **Práticas de Microbiologia**. 2ª edição. Rio de Janeiro: EDITORA GUANABARA KOOGAN LTDA., 2019. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527735575/cfi/6/10!/4/2/4@0:0>>. Acesso em: 17 mar. 2020.

4.9 OFICINA: Processos de vermicompostagem e análise de solos

AUTORES

Peterson Haas - lattes.cnpq.br/7500747057637325

Letícia Angeli de Oliveira - lattes.cnpq.br/7126870130905683

Lucélia Hoehne - lattes.cnpq.br/1088266827926373

INTRODUÇÃO

Para um produtor agrícola obter rendimentos em sua lavoura, há alguns elementos-chaves para um bom aproveitamento dos recursos, entre eles, a qualidade do solo. Um solo é considerado produtivo se for capaz de possibilitar a reprodutibilidade biológica, manter a qualidade ambiental e garantir a saúde animal e da planta. Contudo, determinados fatores são responsáveis por prejudicar a qualidade dos solos, interferir em seu equilíbrio e pôr em risco o desenvolvimento vegetal. Entre esses, a diminuição do pH dos solos brasileiros (ou seja, o aumento da sua acidez) acarreta a diminuição da disponibilidade de compostos benéficos às plantas, como Ca, Mg e K, e o aumento da concentração de compostos tóxicos, como cátions de Alumínio (FRIGHETTO & VALARINI, 2000).

Dada a importância do controle do pH do solo, é fundamental o entendimento do funcionamento de análises de pH, sua escala e seus medidores, assim como o estudo de alternativas capazes de recuperar solos contaminados, como a vermicompostagem.

Para a medição do pH de soluções, existem diversos métodos, que incluem desde indicadores naturais e sintéticos que mudam de coloração até equipamentos digitais de medição. Em procedimentos práticos escolares e em minicursos de observação da escala de pH, os professores e docentes normalmente optam por métodos de diferença de coloração de indicadores naturais, como a solução de repolho roxo (TERCI & ROSSI, 2002; ZAPP et al. 2015).

Além disso, o estudo de métodos de análise da qualidade de solo torna-se essencial, tendo em vista que o consumo geral de produtos gera diversos resíduos, sendo que apenas 58,3 % destes possuem uma destinação de descarte adequado. Dessa forma, leis e novos métodos de reaproveitamento destes materiais foram criadas, tal como a vermicompostagem, que está ganhando visibilidade na área de reaproveitamento de resíduos orgânicos devido às suas diversas vantagens relacionadas ao fato de não ser agressiva ao ambiente, não possuir agravantes para solo e água como os fertilizantes químicos, enriquecer o solo e gerar nutrientes para plantas, ser capaz de controlar a toxicidade do solo, conferir maior resistência a pragas e doenças nos cultivos, aumentar a circulação de ar e água no solo, entre outros (NUERNBERG, 2014; CORRÊA & SANTOS, 2015).

OBJETIVOS

- Analisar o pH dos solos usando escala alternativa;
- Construir minhocário caseiro;

PROTOCOLO ADAPTADO DE:

CARLESSO, Wagner Manica; RIBEIRO, Rosecler; HOEHNE, Lucélia. Tratamento de resíduos a partir de compostagem e vermicompostagem. **Revista Destaques Acadêmicos**, ano 3, n. 4, 2011.

EQUIPAMENTOS, MATERIAIS E REAGENTES NECESSÁRIOS

- Tubos de ensaio, estante
- Repolho roxo
- Água deionizada
- Conta-gotas
- Chapa de aquecimento
- Diferentes soluções ácidas e básicas (HNO_3 10%, HNO_3 1%, NaOH 10%, NaOH 1%, vinagre)
- 3 potes plásticos e tampas
- Amostras de solo
- Folhas secas
- Minhocas (*Eisenia andrei*)

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

- ESCALA DE pH COM EXTRATO DE REPOLHO ROXO

1. Cortar pedaços de repolho roxo e adicionar em água a, aproximadamente, 80°C, durante 30 minutos.
2. Filtrar a solução ao final do processo para extrair o pigmento e remover os resíduos.
3. Adicionar 20 gotas da solução em 50 mL das amostras com diferentes níveis de pH, (HNO_3 (1%), HNO_3 (10%), vinagre, água, NaOH (10%) e NaOH (1%)) e visualizar a escala visual de pH a partir da mudança de coloração.

- **CONSTRUÇÃO DE VERMICOMPOSTEIRA VERTICAL**

1. Perfurar duas tampas e o fundo de duas caixas plásticas.
2. Encaixar as três caixas e suas respectivas tampas umas às outras, de modo que a caixa que não teve seu fundo perfurado esteja na base do sistema vertical e a tampa não perfurada esteja no topo da vermicomposteira.
3. Adicionar ao sistema amostras de solo, cascas de frutas e minhocas da espécie *Eisenia andrei*.

Obs.: Manter o solo úmido e arejado para um melhor aproveitamento da produção de húmus e remover o excesso de chorume do fundo da vermicomposteira periodicamente

REFERÊNCIAS:

CARLESSO, Wagner Manica; RIBEIRO, Rosecler; HOEHNE, Lucélia. Tratamento de resíduos a partir de compostagem e vermicompostagem. **Revista Destaques Acadêmicos**, ano 3, n. 4, 2011.

CORRÊA, César Trujillo; dos SANTOS, Jaqueline Santos. Vermicompostagem no tratamento de resíduos orgânicos domésticos. Disponível em: https://www.uniritter.edu.br/files/sepesq/arquivos_trabalhos/3611/1111/1376.pdf. Acessado em: 11 jan 2020.

FRIGHETTO, Rosa Toyoko Shiraishi; VALARINI, Pedro José. Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo: manual técnico. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, 2000. 198p.

NUERNBERG, Ana Cláudia. Vermicompostagem: Estudo de caso utilizando resíduo orgânico do restaurante universitário da UTFPR Câmpus Curitiba - Sede Ecoville.

TERCI, Daniela Brotto Lopes; ROSSI, Adriana Vitorino. INDICADORES NATURAIS DE pH: USAR PAPEL OU SOLUÇÃO? **Quím. Nova**, v. 25, n. 4, p. 684-688, 2002.

ZAPP, Eduardo Zapp; NARDINI, Giuliana S.; COELHO, Juliana C.; SANGIOGO, Fábio A. Estudo de Ácidos e Bases e o Desenvolvimento de um Experimento sobre a “Força” dos Ácidos. **Quím. nova esc.**, v. 37, n. 4, p. 278-284, 2015.

4.10 OFICINA: Controle Biológico e suas aplicabilidades

AUTORES

Rita Tatiane Leão da Silva - lattes.cnpq.br/4988005962906657

Calebe Fernando Juchem - lattes.cnpq.br/7063860397633117

Wesley Borges Wurlitzer - lattes.cnpq.br/3212473940080007

Amália Luisa Winter Berté - lattes.cnpq.br/9945727700835110

Guilherme André Spohr - lattes.cnpq.br/1290292070234524

Guilherme Liberato da Silva - lattes.cnpq.br/9587693374011290

Liana Johann - lattes.cnpq.br/5727931029137352

Noeli Juarez Ferla - lattes.cnpq.br/6071378790176893

INTRODUÇÃO

Pensamento comum é de que frutas e legumes são considerados ricos em nutrientes e vitaminas que se transformam em mais saúde para o corpo. Seria perfeito mesmo, se não fossem na maioria dos casos contaminados com agroquímicos. A produção agrícola intensificou a utilização de agroquímicos, provocando a seleção de populações de pragas resistentes, eliminação de organismos não alvos, contaminação do solo, da água e por conseguinte dos alimentos (GALLO et al., 2002).

Diante de tal cenário, a sociedade científica tem buscado novas tecnologias que garantam a sustentabilidade agrícola, alimentos mais saudáveis e livre de resíduos de agroquímicos (GLIESSMAN, 2005; OLIVEIRA & ÁVILA, 2010), sendo o controle biológico aplicado através da utilização de inimigos naturais, parasitóides e microrganismos entomopatogênicos uma alternativa promissora no controle de populações de pragas agrícolas (EMBRAPA, 2017). Dentre esses inimigos naturais os ácaros das famílias Phytoseiidae e Stigmaeidae e são considerados eficientes predadores de ácaros fitófagos (DUSO & LILLO, 1996) e empregados no controle biológico aplicado em agroecossistemas na atualidade (TIXIER, 2018). Os Stigmaeidae são os ácaros predadores mais abundantes nos agroecossistemas depois dos fitoseídeos (FERLA & MORAES, 2002), sendo de suma importância obter informações que permita reconhecer as espécies de maior importância agrícola e estabelecer estratégias que permita a manutenção dos inimigos naturais associados às culturas e por conseguinte na redução do uso de agroquímicos.

OBJETIVOS

- Reconhecer organismos que podem atingir o *status* de pragas e seus inimigos naturais, que apresentam potencial para serem utilizados em programas de Controle Biológico Aplicado e que atuem no controle de pragas agrícolas com o propósito de substituir os produtos químicos em diferentes culturas agrícolas;
- Conhecer as espécies acarinas fitófagas e predadoras;
- Confeccionar lâminas com os ácaros triados das plantas do entorno da Universidade.

PROTOCOLO ADAPTADO DE:

Jeppson, L.R. et al. Mites injurious to economic plants. Berkeley: University of California, 614p. 1975.

EQUIPAMENTOS, MATERIAIS E REAGENTES NECESSÁRIOS

- Pincéis de ponta fina
- Caixas de lâminas - Precision Glass Line 26.0x76.0mm fosca sem lapidar
- Caixas de lamínulas
- Caixa de luvas (P e M)
- Hoyer
- Caneta permanente
- Folhas de plantas com ácaros
- Jalecos descartáveis

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

Coleta das folhas:

- Coletar folhas (optar por folhas na coloração verde/amarelado) com espécimes acarinas no entorno da Univates;
- Acondicionar individualmente essas folhas em sacos plásticos transparentes;
- Manter as folhas em caixa térmica com Gelox® para manter baixa a temperatura.

Triagem e Montagem das lâminas:

- Observar no microscópio estereoscópico as duas faces das folhas (abaxial e adaxial) e retirar individualmente cada ácaro com o auxílio de um pincel de ponta fina (Figura 1);

- Colocar na lâmina uma pequena gota de Hoyer (Figura 2);
- Colocar o ácaro sobre a lâmina no meio Hoyer (até 10 ácaros por lâmina);
- Fechar a lâmina com a lamínula;
- Identificar a lâmina como auxílio de uma caneta permanente, com as seguintes informações: local, data da coleta, número de ácaros, face da folha que os ácaros foram retirados, nome do coletor (Figura 3).

Secagem das lâminas e Acondicionamento:

- Colocar as lâminas em estufa (60°C) por um período de 10 dias para promover distendimento e clarificação dos ácaros;
- Lutar as lâminas (passar verniz ou esmalte incolor nas bordas da lamínula para fixação na lâmina) (Figura 4);
- Etiquetar e guardar as lâminas em caixas porta lâminas (Figura 5);
- Acondicionar as caixas porta lâminas em sala climatizada, com umidade relativa menor que 40%.

Figura 1: Triagem (retirada dos ácaros das folhas)



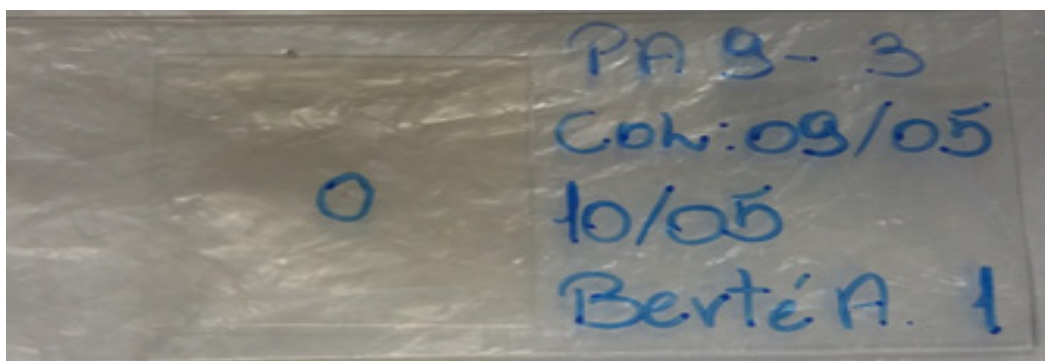
Fonte: Laboratório de Acarologia - LABACARI.

Figura 2: Gota de Hoyer



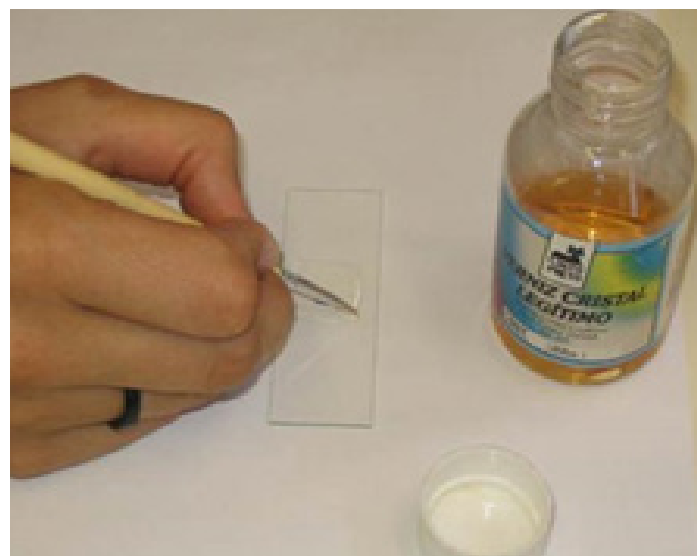
Fonte: Laboratório de Acarologia - LABACARI.

Figura 3: Identificação da lâmina



Fonte: Laboratório de Acarologia - LABACARI.

Figura 4: Lutagem das lâminas



Fonte: Laboratório de Acarologia - LABACARI.

Figura 5: Lâminas guardadas em caixas porta lâminas



Fonte: Laboratório de Acarologia - LABACARI.

REFERÊNCIAS:

De Lillo, E., Duso, C. 1996. 3.2. 6 Currants and berries. In *World Crop Pests* (Vol. 6, pp. 583-591). Elsevier.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2017. Sistema de criação de parasitoide de mosca-minadora. Embrapa Semiárido-Circular Técnica (INFOTECA-E).

Ferla, N.J., Moraes, G.D. 2002. Ácaros (Arachnida, Acari) da seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) no Estado do Mato Grosso, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 19(3), 867-888.

Gallo, D., Nakano O., Neto, S.S., Carvalho, R.P.L., Batista, G.C., Filho, E.B., Parra, J.R.P., Zucchi, R.A., Alves, S.B., Vendramim, J.D., Marchini, L.C., Lopes, J.R.S. Omoto, C. 2002. *Entomologia agrícola*. Piracicaba, FEALQ, 920p.

Gliessman, S.R. 2005. *Agroecologia: Processos ecológicos em agricultura sustentável*. 3ª ed. Porto Alegre. Editora Universidade UFRGS. 653p.

Jeppson, L.R. Keifer, H.H., Baker, E.W. 1975. *Mites injurious to economic plants*. Berkeley: University of California, 614p.

Oliveira, H.N.; Ávila, C.J. 2010. Controle biológico de pragas no Centro-Oeste brasileiro. In: *Controle Biológico* 193 G. Bio: *Revista de Controle Biológico*, p. 11-13.

Tixier, M-S. 2018. Predatory mites (Acari: Phytoseiidae) in agro-ecosystems and conservation biological control: a review and explorative approach for forecasting plantpredatory mite interactions and mite dispersal. *Frontiers in Ecology and Evolution*, v. 6, p.192.

4.11 OFICINA: Características e Potencialidades Biotecnológicas de Frutos e Sementes Nativas

AUTORES

Fernanda Bruxel - lattes.cnpq.br/5189856688619482

Kétlin Fernanda Rodrigues - lattes.cnpq.br/8252184784822885

Júlia Gastmann - lattes.cnpq.br/9905478395359239

Lilian de Fátima Ferreira da Silva - lattes.cnpq.br/4294888630486341

Elisete Maria de Freitas - lattes.cnpq.br/7345668866571738

INTRODUÇÃO

A biotecnologia compreende a manipulação de microrganismos, plantas e animais, com o intuito de obter processos e produtos de interesse para a sociedade. Utiliza ferramentas baseadas nos conhecimentos científicos que empregam uma ampla área de conhecimento, desde a ciência básica (biologia molecular e celular, microbiologia, genética, botânica, etc.), da ciência aplicada (técnicas imunológicas, bioquímicas, decorrentes de processos físicos e químicos) e de outras tecnologias (fermentação, separações, purificações, informática, robótica, controle de processos) (MALAJOVICH, 2016). Dentre suas diversas áreas, a biotecnologia vegetal emprega estudos sobre melhoramento genético de plantas, desenvolvimento de defensivos agrícolas menos prejudiciais ao ambiente, controle biológico em sistemas de plantio, plantas resistentes ao ataque de insetos e à aplicação de herbicidas, bioprospecção de espécies vegetais, dentre outros. As plantas alvos de estudos na biotecnologia possuem potencial para a alimentação humana e animal, para o desenvolvimento de novos medicamentos e para o controle de espécies invasoras em sistemas de cultivo ou ambientes naturais. Várias pesquisas têm enfatizado o uso de plantas nativas, identificando os seus potenciais para exploração econômica local.

O Brasil é detentor da maior biodiversidade do Planeta como consequência das variações climáticas e geomorfológicas existentes ao longo do seu extenso território que favorece a formação de diferentes fitofisionomias (IBGE, 2019). Embora diversas espécies nativas do Brasil vêm sendo utilizadas em pesquisas com a finalidade de identificar diferentes potenciais, o conhecimento produzido ainda se restringe a poucas espécies, considerando o tamanho da biodiversidade do País, e este é pouco divulgado. Um exemplo é *Vasconcellea quercifolia* A.St.-Hil, pertencente à família Caricaceae e conhecida popularmente como jaracatiá ou mamãozinho-do-mato. Estudos desenvolvidos até o momento com a espécie mostram atividade antitumoral do extrato do látex (SILVA et al., 2019), elevado potencial nutricional, tanto dos frutos verdes quanto dos maduros,

indicando a possibilidade de uso para o desenvolvimento de alimentos funcionais (FOLHARINI et al., 2019). Além disso, estudos indicam que *V. quercifolia* é portadora de um gene que a torna resistente ao vírus *Papaya ringspot virus* (PRSV-P) (TORRES et al., 2010, SIAR et al., 2011), causador da mancha anelar no mamão, podendo ser utilizada para o melhoramento genético de *Carica papaya* L., outra Caricaceae.

Existem estudos com inúmeras outras espécies. Como exemplos, frutos de *Bromelia antiacantha* Bertol., família Bromeliaceae, vem sendo investigados com o intuito de verificar o potencial para o desenvolvimento de medicamentos; Já o óleo essencial obtido de folhas de *Hesperozygis ringens* (Benth.) Epling, família Lamiaceae, apresenta ação antiparasitária, acaricida e alelopática (RIBEIRO, et al., 2010). Essa lista de espécies é longa. Mas não podemos deixar de citar outra espécie amplamente utilizada na região sul do Brasil, *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil., da família Aquifoliaceae, conhecida como erva-mate, suas folhas são exploradas comercialmente, no entanto, seus usos vão muito além da sua utilização como bebida. Porém os potenciais identificados nas pesquisas são pouco explorados em razão da baixa divulgação dos resultados pela falta de apoio financeiro de diferentes setores, da falta de investimentos em novas linhas de produção, além da baixa parceria existente entre a comunidade acadêmica e a indústria brasileira.

Para ser possível investigar os potenciais das plantas e explorar as espécies de forma adequada, é importante conhecer as características morfológicas das flores e dos frutos das espécies nativas para garantir a correta identificação das mesmas.

OBJETIVOS

- Compreender que a biodiversidade, em especial as plantas, apresentam potenciais biotecnológicos que podem ser explorados de forma sustentável;
- Identificar as características morfológicas de plantas, principalmente flores e frutos, que apresentam potenciais biotecnológicos;
- Estimular o interesse pela preservação de espécies nativas.

EQUIPAMENTOS, MATERIAIS E REAGENTES NECESSÁRIOS

- Microscópio estereoscópio
- Ramos de plantas nativas;
- Flores de diferentes espécies e de cores variadas;
- Frutas diversas (abacaxi, morango, laranja, abacate, banana, tomate, pitanga, amora, erva-mate, entre outros);
- Faca de cozinha;
- Bandeja branca;

- Tábua de corte;
- Bisturi, pinça, agulha histológica

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

DICA:

Inicialmente deve ser realizada uma aula teórica com apresentação com slides, fazendo uma abordagem sobre o conceito de biotecnologia e de plantas nativas.

1. Separar ramos de plantas nativas com flores e/ou frutos para que os participantes observem as características de folhas (tipo de folha e filotaxia), flores e frutos. São inúmeras as espécies que podem ser usadas nesta parte da atividade: *Rubus sellowii* Cham. & Schlttdl. (amora-preta - Rosaceae), *Eugenia uniflora* L. (pitangueira - Myrtaceae), *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil., *Passiflora caerulea* L. (maracujá - Passifloraceae), *Hibiscus* sp. (hibisco - Malvaceae), *Ricinus communis* L. (mamona - Euphorbiaceae), dentre outras existentes na região e na época da realização da atividade (Figura 1A-1D). Para todas as espécies podem ser usados ramos com flores ou frutos.
2. Os estudantes, de posse dos ramos, observam suas características com orientação dos monitores ou professores e, quando necessário, com o auxílio do microscópio estereoscópico (Figura 2A-2B), observam os tipos de folhas e a filotaxia, presença de glândulas e tricomas.
3. Então observam as partes da flor (pétalas, sépalas, carpelos e estames) e, com o uso de bisturi, fazem cortes nas flores para identificar os detalhes das estruturas reprodutivas (estigma, estilete, ovário com óvulos nos carpelos e filete e antera nos estames). Para esta etapa é imprescindível que os estudantes tenham microscópio estereoscópico. Para facilitar a compreensão de todas as partes da flor (Figura 3A e 3B), imagens podem ser projetadas na forma de slides para que possam esclarecer dúvidas durante a realização da prática. Além disso é importante que eles representem o que visualizaram e identifiquem cada estrutura.
4. Com a compreensão das estruturas da flor, é abordado o tema da polinização e a formação de frutos e sementes, usando animações e slides com imagens bem ilustrativas (Figura 4A-4G). Durante a projeção das imagens e das animações (<https://www.youtube.com/watch?v=6qYZmy2Tbk0>; <https://youtu.be/HqYz7JiFluU>). Logo após, pode ser realizada a visualização e manuseio de frutos (abacaxi, morango, laranja, abacate, banana, tomate, pitanga, amora, erva-mate, outros) para observação das características (cor, cheiro, tamanho, quantidade de sementes e aspectos morfológicos). Então fazem a identificação de suas partes

(endocarpo, mesocarpo, epicarpo e semente) e tipos (simples - baga, simples - drupa, agregados e múltiplos). Esta parte da atividade precisa ser acompanhada de uma apresentação de slides para facilitar a compreensão. Da mesma forma que a prática de flores, os estudantes podem representar as frutas observadas e identificar o tipo de fruto e as estruturas.

5. Para finalizar, as espécies utilizadas na prática são identificadas. E são expostos alguns resultados de pesquisas com espécies nativas da região dos estudantes que estão finalizadas ou em andamento.

Figura 1: A. *Rubus sellowii* Cham. & Schltld. (Autor: Elisete M. Freitas); B. *Eugenia uniflora* L. (Autor: Sérgio Bordignon - http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=11820); C. *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. (Autor: Fernanda Bruxel); D. *Passiflora caerulea* L. (Autor: Elisete M. Freitas).

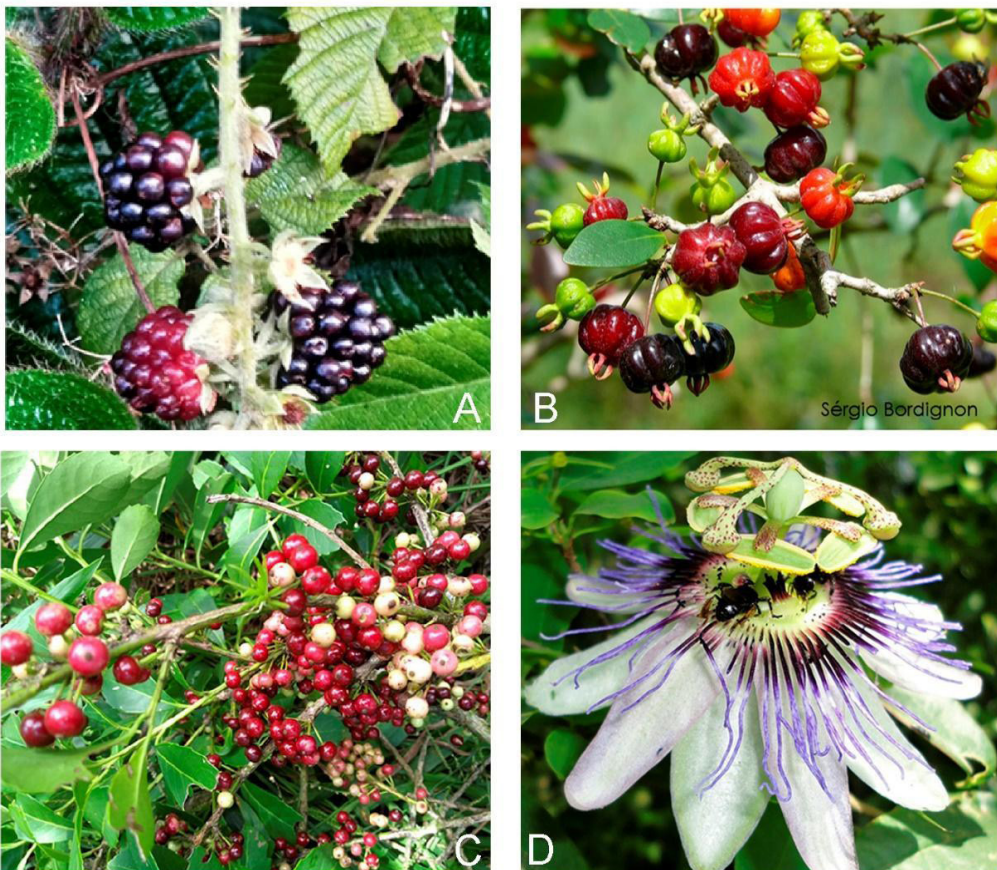
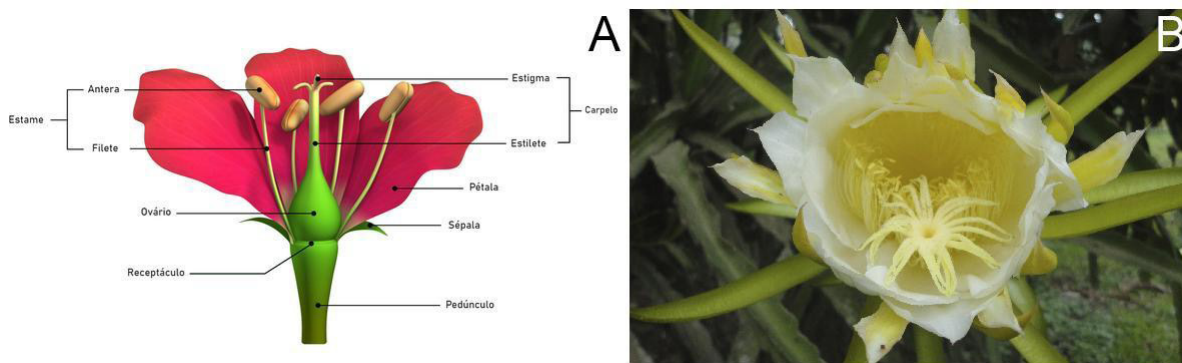


Figura 2: A, B. Estudantes durante a oficina observando as estruturas de flores e frutos em microscópio estereoscópico.



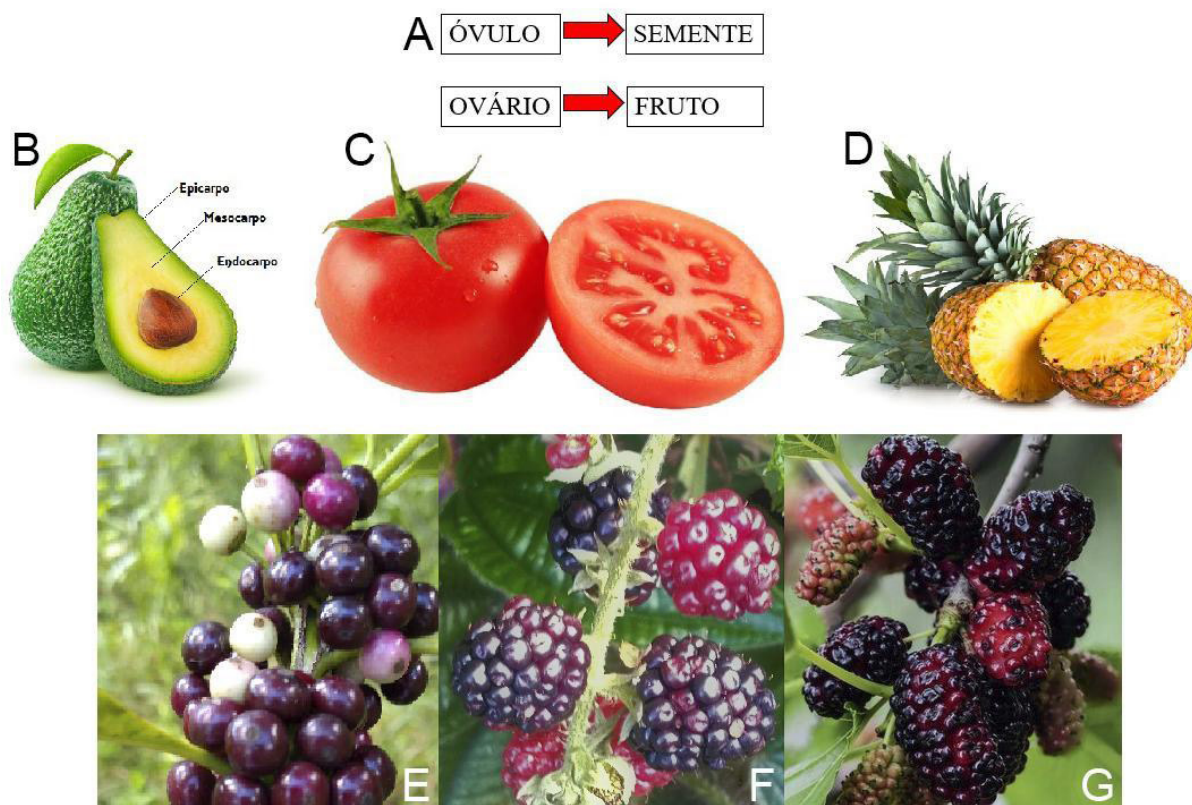
Fonte: Da autora Fernanda Bruxel.

Figura 3: A. Partes da flor (<https://www.todamateria.com.br/tipos-de-flores-e-suas-funcoes/>). B. Flor de *Cereus undatus* Haw. (pitaia) onde pode ser observado o estigma (em destaque na porção central da flor), grande quantidade de estames na parte interna da flor, as pétalas (esbranquiçadas) e as sépalas (amareladas).



Fonte: Da autora Fernanda Bruxel.

Figura 4: A. Ilustração das estruturas das flores que formam frutos e sementes. B. Partes principais de fruto (<https://www.biologianet.com/botanica/frutos.htm>). C. Fruto simples do tipo baya (*Solanum lycopersicum* Lam.) (<https://pontobiologia.com.br/semente-e-fruto/>). D. Frutos simples do tipo drupa de *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. (Autor: Fernanda Bruxel). E. Frutos agregados de *Rubus sellowii* Cham. & Schltldl. (Autor: Elisete M. Freitas). F. Fruto múltiplo de *Morus nigra* L. (<http://www.jardimcor.com/catalogo-de-especies/morus-nigra/>). G. Fruto múltiplo de *Ananas comosus* (L.) Merr. (<https://www.mundoecologia.com.br/natureza/frutos-multiplos>).



Fonte: Da autora Fernanda Bruxel.

REFERÊNCIAS:

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Biomass e sistema costeiro-marinho do Brasil: compatível com a escala 1:250 000 / IBGE**. Coordenação de Recursos Naturais e Estudos Ambientais. Rio de Janeiro: IBGE, 2019.

SILVA, L.F.F.; NÚÑEZ, J.G.; GARCIA, H.O.; PADILHA, G.L.; HOEHNE, L.; ETHUR, E.M.; BRUNO, A.N.; FREITAS, E.M. **Evaluation of antitumor and cytotoxic activity in vitro of latex *Vasconcellea quercifolia* A. St.-Hil. (Caricaceae)**. South African Journal of Botany 127. p. 308-312, 2019.

FOLHARINI, Z.F.; ORLANDI, C.R.; MARTINI, M.C.; BRUXEL, F.; BRIETZKE, D.T.; GONÇALVES, T.E.; FINATTO, J.; ETHUR, E.M.; MOURA, N.F.; HOEHNE, L.; FREITAS, E.M. **Nutritional characterization of *Vasconcellea quercifolia* A.St-Hil.: potential for the development of functional food**. Food Science and Technology. 2019.

MALAJOVICH, M.A. **Biotechnology**. Biotechnology: Ensino e Divulgação. 2° ed. 2016.

SIAR, S.V.; BELIGAN, G.A.; SAJSE, A.J.C.; VILLEGAS, V.N.; DREW, R.A. **Papaya ringspot virus resistance in *Carica papaya* via introgression from *Vasconcellea quercifolia***. Euphytica 181. p. 159-168, 2011.

TORRES, M.J.; TREJO, S.A.; MARTIN, M.I.; NATALUCCI, C.L.; AVILÉS, F.X.; LÓPEZ, L.M.I. **Purification and Characterization of a Cysteine Endopeptidase from *Vasconcellea quercifolia* A. St.-Hil. Latex Displaying High Substrate Specificity**. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58. p. 11027-11035, 2010.

RIBEIRO, V.L.S.; SANTOS, J.C.; BORDIGON, S.L.; APEL, M.A.; HENRIQUES, A.T.; VON POSER, G. **Acaricidal properties of the essential oil from *Hesperozygis ringens* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***. Bioresource Technology. 2010.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este E-book foi elaborado para auxiliar na propagação do conhecimento nas áreas da Biotecnologia, podendo ser aplicado em laboratórios escolares, utilizando as técnicas apresentadas. Além disso, este E-book visa divulgar nossas oficinas anuais para as escolas e seus estudantes da Região do Vale do Taquari, impulsionando o desenvolvimento dos estudantes, incentivando a criatividade, curiosidade e interesse em Ciência e Tecnologia, para melhorar a comunidade em que vivem.

Para avaliar nossas oficinas, ao final deste evento, foi solicitado que os alunos preencherem um questionário, na questão: “O que você achou da oficina?”, as opções fornecidas foram: excelente, boa, regular e ruim. Foi solicitado, de forma optativa, comentários e sugestões. O retorno dos alunos foi positivo, sendo as oficinas consideradas excelentes por 88% dos alunos do Ensino Médio e boas por 12% destes. Além disso, alguns comentários estimuladores para permanência do projeto anual, tais como:

“Muito bom. Quero voltar!”

“Quero voltar um dia”

“Chamar nossa escola mais vezes”

“Maravilhoso e muito interativo”

“Amei esta oficina”

“Já sei a graduação que vou fazer”

“Gostei muito, façam mais!”

“Achei muito interessante a manipulação dos microscópios e um diferente usos de plantas e frutos propiciados pela oficina”

“Muito boas explicações”

“Gostei muito, aprendi bastante e já posso fazer iogurte em casa, só falta o medidor do pH na minha casa”

“Muito boa, deu para aprender várias coisas”

“Empolgante”

Alguns outros depoimentos podem ser visualizados na matéria realizada pela Univates em 21 de outubro de 2019, primeiro dia do evento, em: <<https://www.univates.br/>

noticia/26594-semana-nacional-da-ciencia-e-tecnologia-tem-oficinas-de-biotecnologia-para-o-ensino-medio>, destacando:

“Para mim é importante sentir mesmo como isso aqui funciona, porque só ouvindo ou lendo na internet não é a mesma coisa que ir no local e enxergar, mexer e conversar com outros alunos e professores”

“Aqui é uma oportunidade de ver como realmente se faz na prática, não só a teoria”.

Com esta devolutiva, podemos perceber que uma prática feita é um mundo novo mostrado aos estudantes do Ensino Médio e que nossos objetivos estão sendo alcançados.

AGRADECIMENTOS

O Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia agradece:

Ao apoio financeiro e de divulgação do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) para o desenvolvimento deste evento (Chamada CNPq 09/2019 - SNCT 2019).

À Comissão Organizadora do Evento de 2019, composta pela Profa. Dra. Daiane Heidrich e pelas estudantes de Doutorado do PPGBiotec, Aline Viana, Ana Paula Mörschbacher, Cláudia Schlabitz e Emelin Pappen, pela dedicação na organização do evento e na elaboração deste E-book.

Às mais de 50 pessoas envolvidas na organização das Oficinas de 2019, dentre eles: professores, mestrandos e doutorandos do PPGBiotec e Bolsistas de Iniciação Científica e de Ensino Médio, que prepararam e ministraram as Oficinas e organizaram os protocolos aqui descritos.

Às Escolas que trouxeram seus alunos para o Evento.

Aos pais ou responsáveis dos estudantes, que confiaram a presença de seus filhos aos nossos cuidados durante os momentos de integração.

Aos estudantes, que aceitaram e permitiram que houvesse um tempo para conhecer a Biotecnologia.

GALERIA DE FOTOS

As fotos abaixo foram registradas durante as práticas realizadas nas Oficinas de Biotecnologia para o Ensino Médio de 2019.

















UNIVATES

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