

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES – MCTIC
CENTRO DE TECNOLOGIAS ESTRATÉGICAS DO NORDESTE – CETENE

PRESTAÇÃO DE CONTAS ORDINÁRIA ANUAL RELATÓRIO DE GESTÃO DO EXERCÍCIO DE 2017

Relatório de Gestão do exercício de 2017 apresentados aos órgãos de controle interno e externo como prestação de contas ordinária anual a que esta Unidade está obrigada nos termos do art. 70 da Constituição Federal, elaborado de acordo com as disposições da Instrução Normativa TCU nº 63/2010, da Decisão Normativa TCU nº 108/2010 e da Portaria-TCU nº 123/2011.

Recife/PE, janeiro de 2018.

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO

II. RESUMO DOS RESULTADOS DE P&D

Nanotecnologia

Biotecnologia

Microeletrônica

III. RESUMO DOS RESULTADOS REFERENTES À PRESTAÇÃO DE SERVIÇO

IV. OUTROS PROJETOS/PROGRAMAS DESENVOLVIDOS

V. INDICADORES DE DESEMPENHO

TCG – TERMO DE COMPROMISSO DE GESTÃO

Relatório de Resultados – Exercício de 2017

I. INTRODUÇÃO

Ao longo do ano de 2017 o CETENE deu continuidade à priorização de linhas de pesquisa estratégicas associadas ao desenvolvimento estratégico da Região NE.

Além disso, o CETENE vem intensificando as iniciativas que estão dando suporte ao Sistema de Atendimento Multiusuário, ampliando em 2017 suas ações voltadas a incentivar e dar suporte a linhas de pesquisa de outros institutos e centros de pesquisa em vários Estados da Federação.

Desta forma, continuam sendo priorizadas as ações de P&D resumidas em três categorias:

1. Projetos de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (PD&I) de interesse estratégico institucional;
2. Prestação de Serviços Tecnológicos para os setores econômicos;
3. Atendimentos aos usuários acadêmicos, para o apoio à realização das pesquisas das Instituições Científicas e Tecnológicas (ICTs).

Visando a um melhor atendimento a diferentes demandas de análise, o CETENE está implantando em seus laboratórios as diretrizes de qualidade. Esta iniciativa objetiva um melhor gerenciamento da infraestrutura do CETENE para alcançar novas metas de análise prestadas a outras iniciativas de desenvolvimento tecnológico.

Com relação às atividades de P&D, o CETENE obteve resultados nas seguintes linhas de pesquisa, abaixo listadas por núcleo de ação de desenvolvimento tecnológico:

- **Nanotecnologia – Nanomateriais:**
 - **N1** – Desenvolvimento de formulações contendo nanopartículas de prata para prevenção e combate a cárie;
 - **N2** – Sínteses e aplicações de nanoestruturas de carbono luminescentes;
 - **N3** – Síntese, caracterização e aplicações das nanopartículas de prata: estudo de suas propriedades bactericidas, toxicológicas e seu potencial no tratamento das lesões de cáries;
 - **N4** – Filmes estruturados com corantes nanoparticulados para sistemas fotovoltaicos; e
 - **N5** – Sistemas fotoquímicos nanoestruturados para produção de hidrogênio e suas aplicações;
- **Biotecnologia – Verde e Branca:**
 - **BV1** – Estabelecimento de protocolo *in vitro* de multiplicação em larga escala de essências florestais da Mata Atlântica visando o reflorestamento, o enriquecimento de mata e o florestamento;
 - **BV2** – Gerenciamento dos Projetos da Biofabrica;
 - **BV3** – Prospecção de antioxidantes em sementes de castanheira (*Bertholletia excelsa* Bonp.) (*Lecythidaceae*);
 - **BV4** – Avaliação de indicadores de produtividade de mudas micropropagadas desde estufas agrícolas até o seu desenvolvimento dentro de campos da região Nordeste;

- **BV5** – Utilização da técnica de NanoPCR (*Nanomaterial-assisted Polymerase Chain Reaction*) para diagnose dos patógenos de cana-de-açúcar *Xanthomonas albilineans* e *Leifsonia xyli subsp. xyli* em amostras puras e mistas;
 - **BV6** – Micropropagação invitro de *Guadua augustifolia* a partir de microestacas para produção massal de mudas;
 - **BV7** – Otimização dos processos produtivos de mudas micropropagadas na Biofábrica Governador Miguel Arraes do CETENE, visando a melhoria dos indicadores de qualidade, desempenho e produtividade;
 - **BV8** – Bioprospeção de leveduras oleaginosas industriais: fonte de biomassa alternativa com potencial na produção de biodiesel;
 - **BV9** – Análise de compostos fenólicos de interesse biotecnológico de uvas e derivados comercializados em Pernambuco como impressão digital;
 - **BV10** – Bioprospeção de actinobactérias e fungos *Trichoderma* como promotores de Crescimento obtidos de *Saccharum officinarum*;
 - **BB1** – Otimização da produção bacteriana de PHA, síntese e caracterização da membrana plástica;
 - **BB2** – Solubilização de fosfatos por fungos isolados da rizosfera de vegetais;
 - **BB3** – Produção biotecnológica de polihidroxialcanoatos por bactérias para síntese de polímeros biodegradáveis;
 - **BB4** – Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação e quantificação de compostos por cromatografia líquida de ultra eficiência, associado a espectrometria de massas;
 - **BB5** – Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação de compostos por cromatografia gasosa por ionização de chama;
- **Tecnologia da Informação e Comunicação – Sistemas Eletrônicos de Aplicação Específica:**
 - **T1** – Protótipo de leitor RFID – Khronus;
 - **T2** – Desenvolvimento de módulo em hardware de detecção de pedestres baseado em CNN para sistemas de vigilância;
 - **T3** – SELIDVAF – Sistema Embarcado de Localização Indoor para Deficientes Visuais em Ambientes Públicos;
 - **T4** – Sistema para Monitoramento Remoto de Acumuladores Elétricos.

Em 2017, os vários projetos em execução no CETENE alcançaram resultados de excelência mantendo-se rigorosamente dentro das metas previstas nesta ação orçamentária. Cabe esclarecer que os recursos disponibilizados pela União permitiram a viabilidade de parte das ações previstas para 2017.

Além das atividades de pesquisa, indicadas abaixo, o CETENE atuou na prestação de serviço tecnológico para diferentes instituições em nove estados da Federação.

Análise da execução da ação

Os projetos internos de PD&I, durante o período de 2017, permitiram promover o desenvolvimento tecnológico na fronteira do conhecimento (Nanotecnologia, Biotecnologia Verde, Biotecnologia Branca e Microeletrônica) de forma a atender parte das prioridades da região Nordeste. Os principais resultados para o ano de 2017 estão apresentados por Núcleo de Competência a seguir.

II. RESUMO DOS RESULTADOS DE P&D

NANOTECNOLOGIA

Ao longo do ano de 2017 o CETENE atuou no desenvolvimento de cinco projetos da área de Nanotecnologia. O CETENE destaca-se por apresentar uma das mais completas infraestruturas em nanotecnologia do país. O Programa de Nanotecnologia foi concebido como instrumento para promover o desenvolvimento industrial do Nordeste utilizando a nanotecnologia como ferramenta de mobilização empresarial, de inovação e geradora de novos negócios. Foram alcançados em 2017 os seguintes resultados:

N1 - Desenvolvimento de formulações contendo nanopartículas de prata para prevenção e combate a cárie

Resumo do trabalho

Estima-se que, ao longo da vida, 90% da humanidade será acometida por lesões de cárie, já tendo sido demonstrado que problemas dentários a partir da primeira infância terão consequências deletérias também no crescimento e no desenvolvimento cognitivo. Segundo o IBGE (2008), 17 milhões de crianças no Brasil entre 0 e 9 anos nunca foram ao dentista.

A proposta deste projeto é o desenvolvimento de tecnologias para a prevenção e tratamento de cáries, de acesso universal e custo reduzido. Isto será possível através da utilização de formulações contendo nanopartículas de prata cuja aplicação dispensa, *a priori*, a necessidade de equipamento clínico.

A utilização de formulações a base de nanopartículas de prata permite o tratamento sem a necessidade do uso da broca em diversos casos, como foi demonstrado recentemente por nosso grupo de pesquisa. Os ensaios clínicos realizados até aqui demonstraram que cáries superficiais podem ser eliminadas com uma única aplicação e sendo efetivas por períodos de até 12 meses em 67% dos casos. Este número é superior a 90% se forem consideradas somente cáries em dentes anteriores e de 81%, levando em conta períodos de 7 dias. Estes resultados são muitíssimo promissores, mas seu desempenho precisa ser melhorado para que possa ser encontrar aplicação efetiva.

O objetivo deste projeto é o desenvolvimento de tecnologia baseada na ação bactericida e bacteriostática de nanopartículas metálicas para a prevenção da ocorrência de lesões em dentes provocadas pela cárie, paralisação destas lesões, assim como promover a remineralização do dente afetado.

Espera-se obter, ao final do projeto, formulações com eficiência acima de 75% na paralisação da cárie após uma única aplicação durante um período de 12 meses e para a prevenção de cárie e obter formulações de dentifrício contendo nanopartículas de prata eficiente na prevenção à cárie.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

Em 2017, foi realizado um novo ensaio clínico utilizando uma formulação aprimorada de nanopartículas de prata. Os resultados estão sendo consolidados e deverão ser publicados na forma de artigo científico no próximo ano. Neste mês de novembro, iniciamos um novo

estudo, com aplicação de nova formulação em mais de 1500 pacientes.

Também foram preparadas formulações de dentifrícios contendo colóide de AgNPs, água, hidroxietilcelulose, carbopol 940, NaOH, sílica amorfa, sacarina sódica, pirofosfato de sódio, fluoreto de sódio, flavorizante de morango, corante alimentício vermelho e dodecil sulfato de sódio e, para efeito de comparação, um dentifrício de composição idêntica, sem prata.

As nanopartículas de prata foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de absorção no UV-visível e ensaios de concentração inibitória mínima foram realizados para dentifrício sem e com AgNPs.

A Figura 1(a) apresenta um espectro de absorção no UV-visível de um colóide de prata que apresenta absorção com máximo em torno de 400 nm, que é associado à ressonância de plasmon de prata com dimensões nanométrica. Na Figura 1(b) é apresentada uma imagem de microscopia eletrônica de transmissão, que possibilita identificar que as nanopartículas tem morfologia esférica com dimensões de $3,51 \pm 1,26$ nm.

O dentifrício foi preparado com concentração de 200 ppm de nanopartículas de prata, com pH = 5,6, que está dentro da faixa exigida pelo INMETRO, que é de 4,5 a 10,5. O dentifrício apresentou tempo de prateleira (estabilidade) de, aproximadamente seis meses, que é suficiente para realizar os ensaios microbiológicos, mas inferior aos cremes dentais comerciais, cuja validade chega a 3 anos.

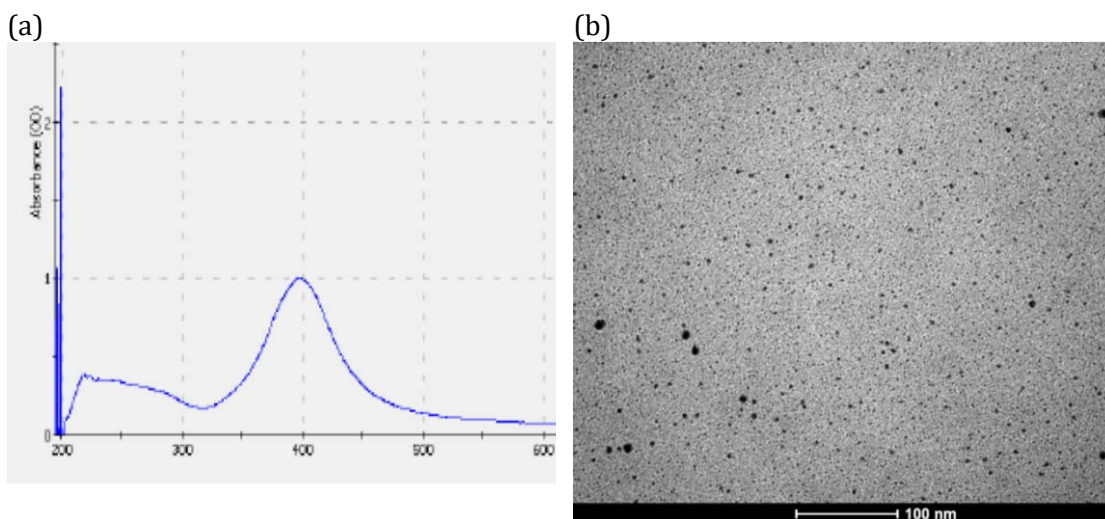


Figura 1. (a) espectro de absorção na região do UV-visível de colóide de nanopartículas de prata. (b) imagem de microscopia eletrônica de transmissão de nanopartículas de prata.

Foram realizados ensaios de determinação de concentração inibitória mínima (CIM), comparando formulações de dentifrícios preparadas com e sem a adição de nanopartículas de prata. A Figura 2 apresenta imagens do procedimento de preparação da pasta, seu aspecto quando pronto e um esquema ilustrativo do ensaio de CIM.

As CIMs foram de 180 ppm e 30 ppm, respectivamente para dentifrício sem com nanopartículas na formulação, demonstrando que a adição da prata torna a formulação 6x mais eficiente em inibir o crescimento do *S. mutans*, que é o principal patógeno causador da cárie.

Conclusões:

- formulações de dentifrícios contendo prata nanométrica apresentam estabilidade de até 6 meses;
- o dentifrício contendo nanopartículas de prata apresenta eficiência muito superior para a inibição de *S. mutans* em comparação com a fórmula sem adição de prata.

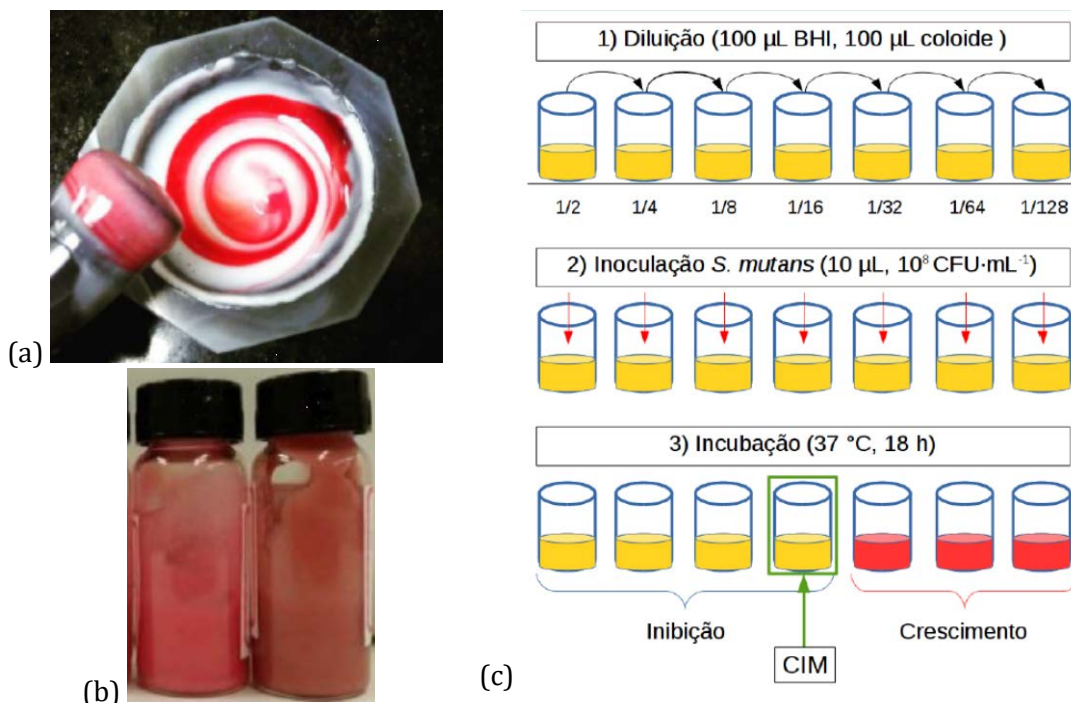


Figura 2. (a) preparação do dentifrício; (b) amostras de dentifrício sem (esquerda) e com (direita) adição de nanopartículas de prata; (c) esquema ilustrativo para determinação da CIM.

N2 – Sínteses e aplicações de nanoestruturas de carbono luminescentes

Resumo do trabalho

Os NTCs são o foco de diversos estudos, especialmente na preparação de compósitos, considerados como um material promissor para explorar efeitos sinérgicos decorrentes das suas propriedades únicas. Em particular, NTCs tem sido decorado com nanopartículas metálicas (tais como; Ag, Au, Fe, Pt, Pd, Ni e óxidos metálicos, etc.) e poliméricas para aplicação em sensores químicos¹¹, células solares¹², tratamento da água¹³, ensaios celulares¹⁴ e como agente de contraste de imagem¹⁵.

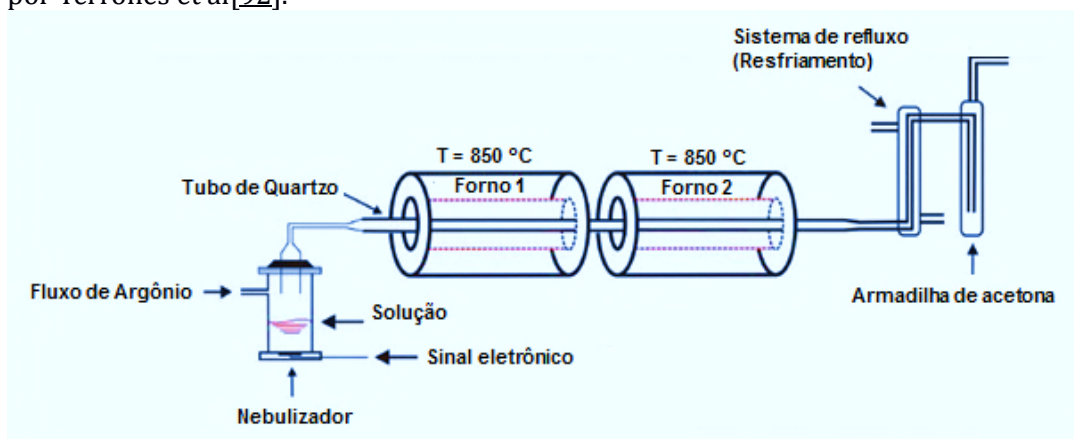
Estes compósitos são bem conhecidos por apresentar um fenômeno de percolação, o que leva à hipótese da existência de uma estrutura de rede interligada, em que nanotubos individuais estão em contato com outros nanotubos, bem como com o material hospedeiro circundante. A utilização de partículas de prata de dimensões nanométricas como agentes antimicrobianos e, mais especificamente, como bacteriostáticos e bactericidas tem recebido bastante atenção na literatura científica¹⁶.

Tendo em vista as aplicações biomédicas, os NTCs são usados no ancoramento de nanopartículas de prata (Ag-NPs), com um método que torna as Ag-NPs eventualmente biocompatíveis, de maneira que os NTC podem ser facilmente dispersos e funcionalizados para ancorar as partículas, ao que se soma seu potencial como carregadores de fármacos. Devido ao fato de que os NTC apresentam resposta a emissão no infravermelho próximo, eles têm um grande potencial como agentes de contraste de imagem e biossensor, pelo que a detecção do NTC facilita a penetração de tecido e reduz o fundo fluorescente. Neste contexto, pretendemos realizar em colaboração com outros pesquisadores, a decoração de nanoestruturas de carbono com partículas metálicas.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

O processo de pirólise em aerossol envolve o uso de soluções contendo o hidrocarboneto líquido e de metal precursor (ver Esquema 1).

Os MWCNT foram produzidos usando ferroceno/tolueno (2,5% m/v) com fluxo de argônio, segundo o método descrito por Kamalakaran et al[96]. Os CNx foram crescidos da mesma forma, com a modificação de benzilamina em lugar de tolueno (2,5%), segundo o relatado por Terrones et al[92].



Esquema 1. Ilustração representativa do equipamento CVD.

Durante a síntese dos NTCs são produzidas algumas impurezas, como partículas do catalisador utilizado (Fe), carbono amorfo, além de folhas de grafeno empilhadas com essas impurezas, que podem interferir nas propriedades dos nanotubos, influenciando fortemente a gama de aplicações possíveis. Assim, etapas subsequentes de purificação se fazem ainda necessárias, diversos processos físicos e químicos de purificação fora sugeridos, os quais se encontram discutidos na literatura [6, 97, 98].

Os nanotubos funcionalizados são mais fáceis de serem dispersos em solventes orgânicos e água, o que pode melhorar a dispersão e a homogeneidade dos MWCNTs dentro da matriz polimérica.

Podemos observar a morfologia dos MWNTs pelo uso de microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HRTEM). Note na Fig. 1 que as paredes do MWNT funcionalizado apresentam alguns defeitos na superfície da estrutura. No entanto, na Fig. 2 os CNx funcionalizados não apresenta defeitos o que indica que a camada externa relativamente ordenada.

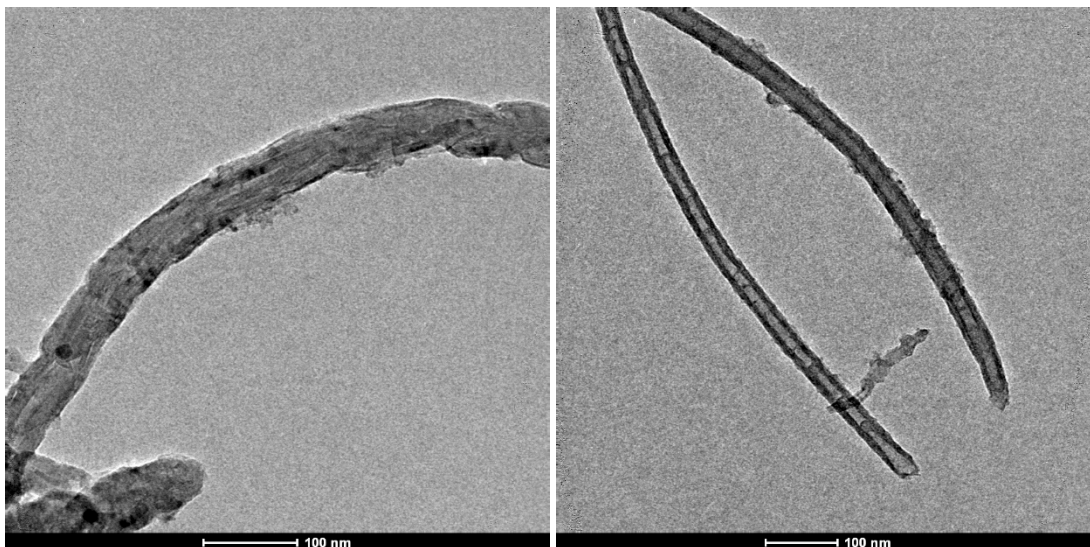


Fig. 1. MWCNT funcionalização com amino. Fig. 1. CNx funcionalização com amino.

Na fig. 3 apresenta os CNx funcionalizados por grupos carboxílicos, onde pode ser observado a morfologia das nanoestruturas tubulares tipo bambu, e a presença de estruturas ocas entre a estruturas de bicamadas das paredes, enquanto que a fig. 4 mostra a estrutura interna do CNx funcionalizados que apresentam alguns defeitos na superfície da estrutura cristalina.

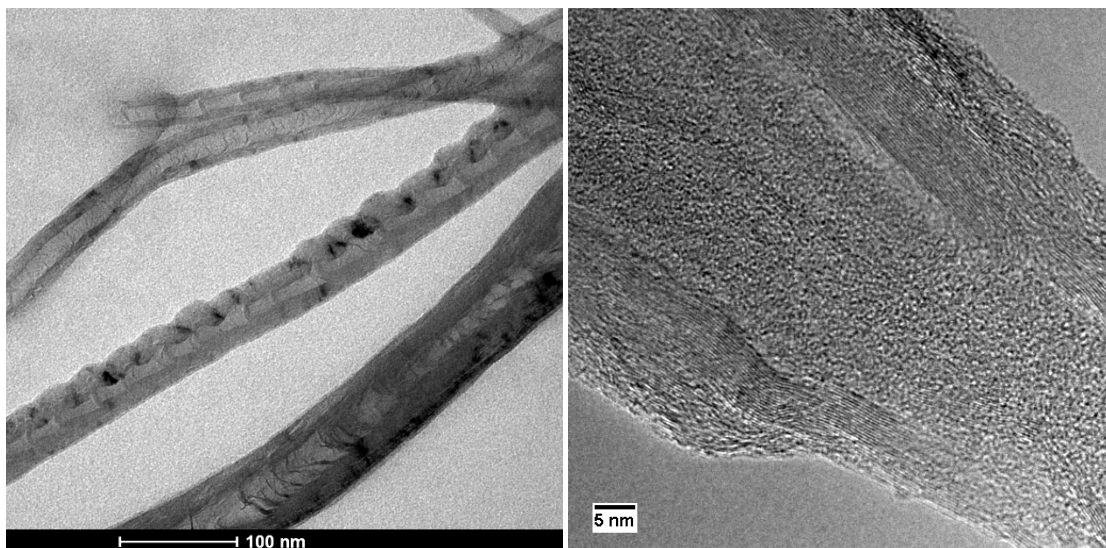


Fig. 3. CNx funcionalização carboxílica. Fig. 4. Estrutura interna e parede do CNx.

N3 - Síntese, caracterização e aplicações das nanopartículas de prata: estudo de suas propriedades bactericidas, toxicológicas e seu potencial no tratamento das lesões de cáries

Resumo do trabalho

Atualmente, estima-se que mais do 90% da população mundial é atingida pelas lesões de cáries, sendo a principal causa de sofrimento, dor e perda do dente. No Brasil, apesar das

diversas medidas de prevenção adotadas com o objetivo de reduzir a incidência de cáries dentária, hoje em dia continua sendo um problema muito sério. O índice médio de dentes cariados, perdidos e obturados (CPOD) em crianças de 12 anos de idade foi de 2,1 em 2010, valor que está por encima da média mundial que para esse mesmo ano foi de 1,67. Segundo dados do IBGE, cerca de 30 milhões de brasileiros afirmaram nunca ter ido ao dentista devido a serviços de saúde orais indisponíveis, inacessíveis ou inadequados.

Este projeto é resultado de uma parceria entre o Departamento de Química Fundamental/UFPE e a Faculdade de Odontologia Pernambuco/UPE. Baseados nos resultados obtidos e publicados recentemente pelo nosso grupo, relacionados com a eficiência das nanopartículas de prata em inibir o crescimento e formação do biofilme bacteriano do *Streptococcus mutans* e em deter a progressão das lesões de cáries em crianças com dentes decíduos, esta pesquisa visa:

- 1) Estudar o mecanismo de ação do coloide, contendo nanopartículas de prata (AgNPs) e quitosana, contra o biofilme bacteriano e entender seu papel no processo de remineralização das lesões de cáries;
- 2) Formular um creme dental à base de AgNPs e quitosana;
- 3) Estudar a estabilidade das AgNPs e a liberação de Ag⁺ no creme dental e suas propriedades inibitórias e bactericidas (*in vitro*) contra o *S. mutans*;
- 4) estudar a citotoxicidade do creme dental contendo AgNPs contra diversos sistemas biológicos.

Este projeto, além de toda a parte de síntese e caracterização química e biológica das formulações, também envolve a realização de um ensaio clínico com a finalidade de avaliar o potencial do creme dental no controle e a prevenção das lesões de cáries em crianças e adultos com dentes decíduos e permanentes respectivamente.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

- **Preparação de Nanopartículas de prata de diferente tamanho e forma**

As AgNPs foram sintetizadas mediante redução química em duas etapas. A primeira etapa foram sintetizadas as sementes (AgNPs com diâmetro menor de 10 nm) e na segunda etapa, mais prata iônica é reduzida a prata metálica usando um redutor mais fraco, onde as sementes servem como núcleos de crescimento e o tamanho final das AgNPs foi controlado pela quantidade de sementes adicionadas.

A **Figura 1**, mostra a fotografia das diferentes dispersões coloidais, onde a cor é resultado da presença de AgNPs com diferentes formas e tamanho, as quais absorvem diferentes comprimentos de onda do espectro eletromagnético.



Figura 1. Fotografia dos coloides das sementes e as AgNPs sintetizadas usando 0,8, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, e 0,05 mL de sementes durante a síntese

A **Figura 2** apresenta os espectros de absorção no UV-visível dos diferentes coloides. O espectro correspondente as sementes apresenta uma banda estreita centralizada em 395 nm. Por outro lado, os coloides sintetizados com 0,80, 0,40, 0,30, 0,20, 0,10, 0,05 mL apresentarem bandas mais largas centralizadas em 417, 458, 512, 550, 625 e 715 nm respectivamente. A presença de bandas largas nos espectros é devido à alta dispersividade no tamanho e a forma das nanopartículas

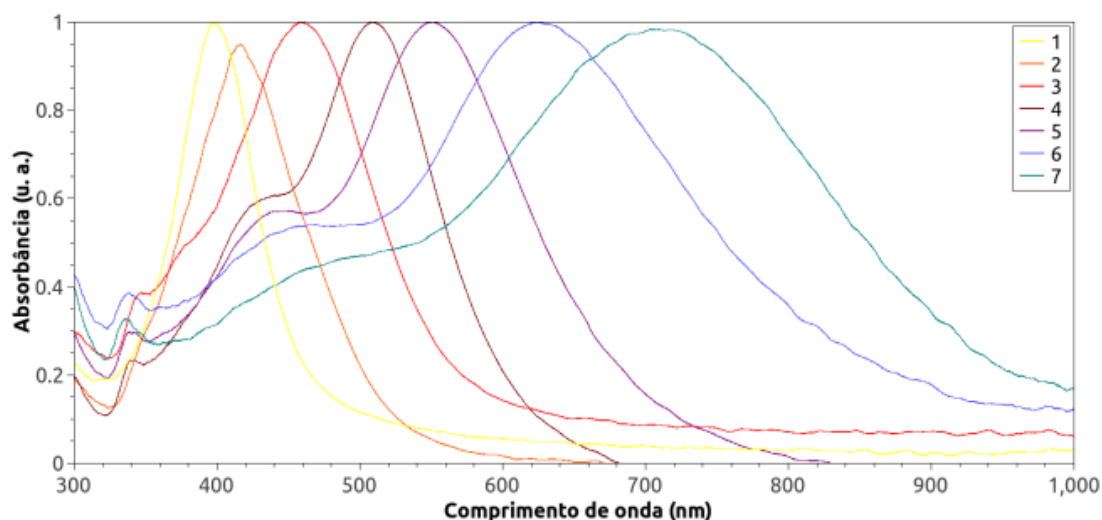


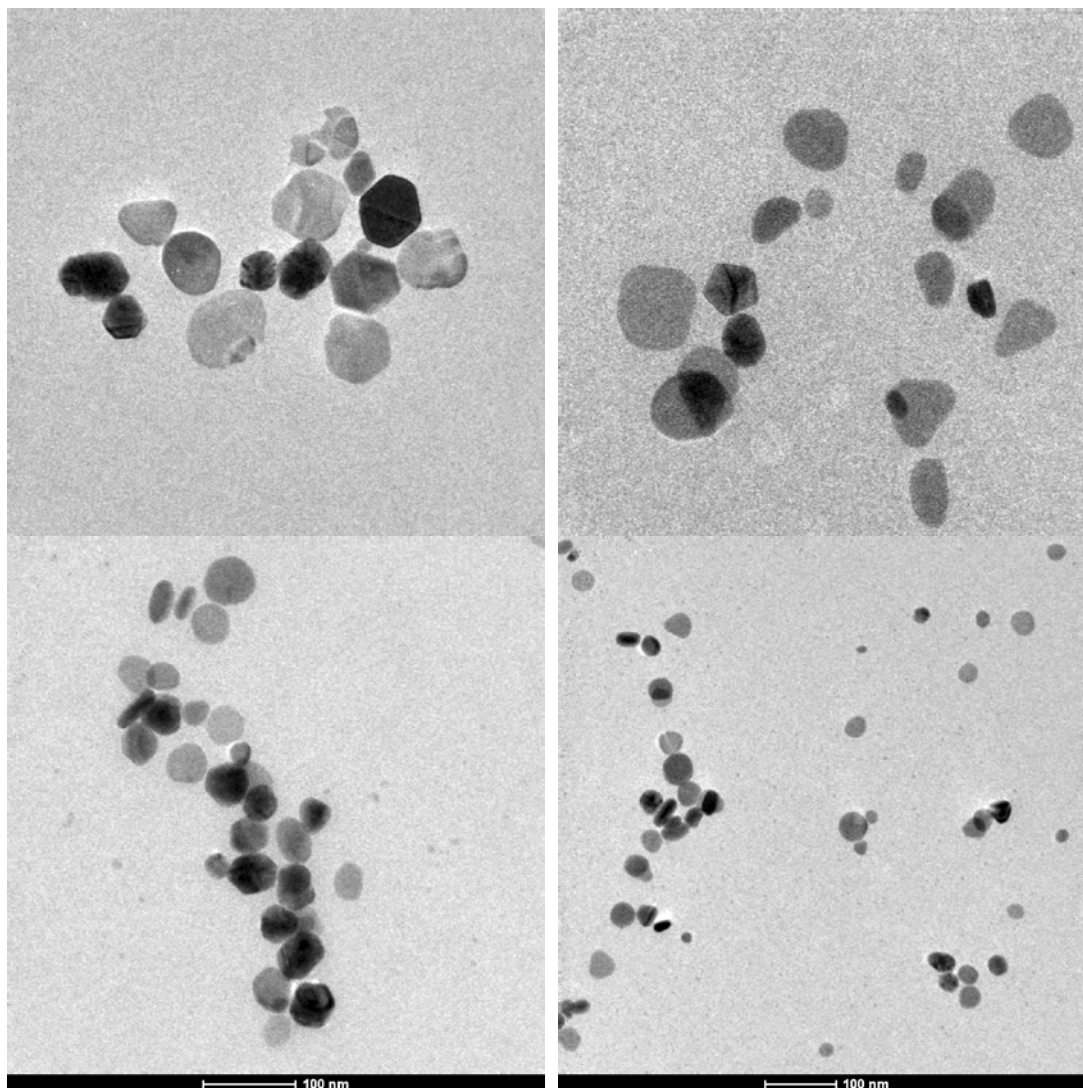
Figura 2. Espectro UV-visível dos coloides das sementes e as AgNPs sintetizadas usando 0,8, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, e 0,05 mL de sementes durante a síntese

A concentração de prata total de cada coloide foi determinada por ICP-MS (Inductively coupled plasma mass spectrometry). Para realizar a análise, em triplicata, 1 mL de cada coloide foi diluído em uma solução de ácido nítrico 2% e foi mantido a 60 °C durante 48 h. O teor de prata das sementes e os coloides sintetizados com 0,80, 0,40, 0,30, 0,20, 0,10, e 0,05 mL foi de 100,13, 115,99, 107,99, 105,55, 105,99, 103,85, 100,99 mg de Ag /L (ppm) respectivamente.

As amostras foram caracterizadas por espalhamento de luz dinâmico (DLS). O tamanho

medido para as sementes foi de 11,63 nm e para os coloides sintetizados com 0,80, 0,40, 0,30, 0,20, 0,10, e 0,05 mL foi de 63,01, 55,26, 61,26, 50,44, 56,83 e 70,12 nm respectivamente.

A **Figura 3** mostra as imagens de microscopia de transmissão características das amostras sintetizadas com 0,05, 0,10, 0,20 e 0,30 mL de sementes. Nessas imagens é possível observar que ditos coloides estão formados por nanopartículas com formas e tamanhos muito polidispersos, o qual está de acordo com o relatado na literatura.



A **Tabela 1** apresenta os resultados preliminares dos testes microbiológicos contra diferentes microrganismos resistentes a antibióticos apenas das AgNPs do coloide de sementes e como controle positivo foi usada uma solução de nitrato de prata (AgNO_3) na mesma concentração de prata do que o coloide. Os resultados mostram que as AgNPs apresentam propriedades inibitórias superiores do que o nitrato de prata e concordam com os valores reportados na literatura.

| | AgNO ₃ | | AgNPs | | LITERATURA | |
|---|-------------------|-------|------------|--------|----------------------------|----------------------------|
| | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| | ppm (mg/L) | | ppm (mg/L) | | ppm (mg/L) | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 | 16 | > 300 | 4 | > 300 | 5-120 | 20-160 |
| Isolado clínico de <i>Staphylococcus aureus</i> | 16 | > 300 | 4 | 16 | Não há dados na literatura | Não há dados na literatura |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 | 16 | 16 | 8 | 16 | 2-14 | 2-14 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (MRSA) ATCC 33591 | 16 | > 300 | 4 | 8 | 4-10790 | 7-10790 |
| Isolado clínico de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à vancomicina (VRSA) | 16 | 32,5 | 4 | 4 | Não há dados na literatura | Não há dados na literatura |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | 8 | 16 | 4 | 8-32,5 | 10-180 | 50-220 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 | 8 | 8 | 4 | 8 | 4-27 | 4-27 |
| <i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603 | 16 | > 300 | 8 | > 300 | Não há dados na literatura | Não há dados na literatura |

As AgNPs com tamanhos menores de 10 nm são eficientes em inibir e destruir diferentes tipos de bactérias, inclusive bactérias resistentes a antibióticos. O coloide é muito estável, não foi observada mudança no espectro UV-visível durante pelo menos 6 meses. A próxima etapa será testar os demais coloides contra esses mesmos microrganismos e determinar seu potencial bactericida e bacteriostático.

N4 – Filmes estruturados com corantes nanoparticulados para sistemas fotovoltaicos

Resumo do trabalho

As células solares conhecidas como *Dye-sensitized solar cells* (DSSC) são dispositivos que fazem parte da terceira categoria de sistemas fotovoltaicos e possuem um relativo baixo custo em conjunto com uma relevante conversão de fótons. Entretanto, estas células encontram-se ainda em estágio de desenvolvimento e não foram amplamente comercializadas. Os conceitos para o aumento da eficiência de células fotovoltaicas explorados visam seu aumento de eficiência a partir de estudos acerca dos seus principais componentes: anodo, catodo, corante sensibilizador ou eletrólito. Portanto, avaliações de desempenho de três diferentes eletrólitos em sistemas fotovoltaicos DSSCs foram desenvolvidas e avaliadas a partir de medidas eletroquímicas de curva J x V, espectroscopia de impedância e curvas de IMPS/IMVS. As células avaliadas consistiram de um anodo de TiO₂, catodo de platina, corante sensibilizador N719 e três diferentes eletrólitos. Os eletrólitos avaliados diferenciaram-se na presença aditivos em sua composição, no qual um deles consistiu de um polímero desenvolvido em nosso próprio laboratório, denominado BTDCVI. Resultados sobre eficiência da célula, resistência de transferência de cargas entre os seus componentes e os mecanismos de transporte de carga foram obtidos. A presença do BTDCVI aumentou em 20% a corrente de curto circuito em relação ao eletrólito padrão de DSSCs. Além disso, este eletrólito aumentou a resistência à transferência de carga do TiO₂ para o eletrólito, evitando eventos de recombinação que diminuem a eficiência do dispositivo solar. Por fim foi

identificado o mecanismo de transporte de carga em presença do BTDCVI, o primeiro ligado ao TiO_2 e outro ligado ao eletrólito.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

Eficiência do Dispositivo solar: Curvas JxV

As curvas J x V são apresentadas na Figura 1, que podem fornecer valores triviais para a identificação do desempenho dos dispositivos fotovoltaicos. Dentre tais valores está a diferença de potencial da célula (V_{oc}), que corresponde à diferença entre o nível de Fermi do elétron no semicondutor e o potencial redox do eletrólito. Quando o V_{oc} é zero, a célula fornece a maior corrente possível, ou corrente de curto-circuito (J_{sc}). Da mesma forma a voltagem máxima é obtida quando a corrente é zero, sendo chamado de potencial de circuito aberto (V_{oc}).

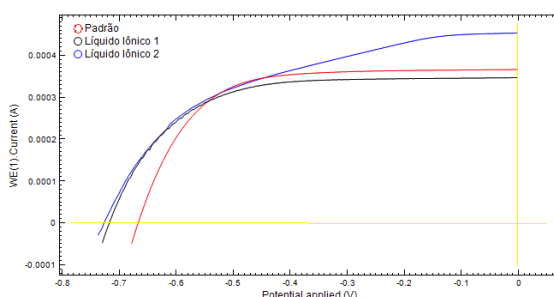


Figura 1. Curva J x V das células fotovoltaicas contendo diferentes eletrólitos.

As medidas obtidas pelas curvas J x V são apresentadas na Tabela 2 e mostram um maior valor de J_{sc} para o Líquido Iônico 2 (contendo o BTDCVI) em relação aos dispositivos solares estudados. O aumento na corrente de curto circuito indica que mais elétrons estão se movendo para os contatos (do anodo para o catodo), e conseqüentemente o aumento na eficiência é observado. O mesmo efeito de aumento da eficiência e de J_{sc} não é observado para o Líquido Iônico 1.

Para o líquido iônico 2, em presença do BTDCVI, o V_{oc} apresentou um maior valor numérico. O que indica uma maior diferença entre o nível de Fermi do elétron no semicondutor e o potencial redox do eletrólito.

Tabela 2. Corrente de curto circuito (J_{sc}), potencial de circuito aberto (V_{oc}), fator de forma (FF), eficiência e IPCE calculados a partir de curva J x V.

| Eletrólitos | J_{sc} (mA/cm^2) | V_{oc} (V) | FF (%) | Eficiência (%) | IPCE (%) |
|-------------------------|---|-----------------|-----------|-------------------|-------------|
| Padrão | 1,87 | -0,66 | 67 | 8,35 | 43,78 |
| Líquido Iônico 1 | 1,77 | -0,71 | 64 | 8,12 | 41,78 |
| Líquido Iônico 2 | 2,35 | -0,73 | 49 | 8,44 | 55,02 |

Eventos de transferências: Medidas de Impedância

As medidas de impedância fornecem informações sobre eventos de transferência, eventualmente regidos pela difusão de reagentes ou produtos. O método fornece uma combinação da capacitância química (acúmulo de cargas na banda de condução) com a resistência à recombinação dos elétrons para cada interface de transferência de carga do sistema.

A Figura 2 mostra as medidas de impedância feitas nos três eletrólitos avaliados. Dados de impedância em células fotovoltaicas DSSC, são compostos por três semicírculos: o primeiro atribuído à resistência de transferência de carga entre Pt|eletrólito (R_1), o segundo ao TiO_2 |eletrólito (R_2) e o terceiro à difusão do I_3^- no eletrólito (R_3).

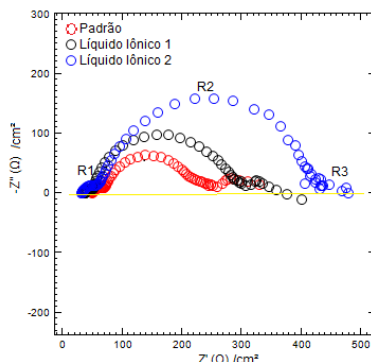


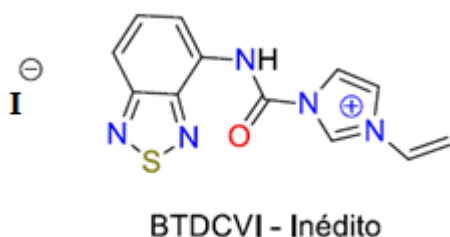
Figura 2. Impedância eletroquímica das células fotovoltaicas contendo diferentes eletrólitos.

As resistências de transferência de carga em cada interface são representadas qualitativamente pelos tamanhos dos semicírculos formados nas curvas de impedância. A interface TiO_2 |eletrólito (R2) da Figura 2 ilustra que a presença do BTDCVI no eletrólito (Líquido Iônico 2) aumentou consideravelmente a capacitância química do TiO_2 , permitindo que mais elétrons pudessem ser acumulados na banda de condução do anodo. Além disso, o sistema enfrenta uma maior resistência aos processos de recombinação, ou seja, os elétrons permanecem na banda de condução do TiO_2 . As pequenas partículas do TiO_2 não possuem alta barreira elétrica, assim os processos de recombinação dos elétrons injetados na banda de condução do TiO_2 com o I_3^- do eletrólito podem ocorrer com certa facilidade.

A resistência à recombinação precisa ser grande, pois isso permitirá que os transportadores no elemento capacitivo fluam através do circuito externo quando retornarem à situação de equilíbrio. Está bem estabelecido que as taxas de recombinação são principalmente afetadas por dois fatores: (1) a posição dos níveis de energia do semicondutor, em relação ao nível redox e (2) tratamentos da superfície que interrompem transferência de carga no semicondutor sem diminuir a taxa de fotoinjeção promovida pelas moléculas do corante excitado. Assim, acréscimos de aditivos ao eletrólito podem permitir a proteção da superfície do TiO_2 , diminuindo os processos de recombinação.

Portanto, a partir dos dados de impedância e de resistência R2, a adição do Líquido iônico 2 diminuiu consideravelmente a resistência à recombinação de elétrons. Sendo seguido pelo líquido iônico 1, que também promoveu tal diminuição.

O terceiro semicírculo das curvas de impedância (R3) correspondem à difusão do I^- no eletrólito. Para os Líquidos Iônicos 1 e 2 estes semicírculos não foram bem formados. Portanto, o processo de difusão não está bem definido. O BTDCVI é composto por um anel imidazol ligado a aminobenzotiazola e iodeto como contra íon. Assim, o seu grande tamanho molecular pode estar desorganizando a movimentação iônica do I^- pelo eletrólito, impedindo a eficaz formação do circuito.



Mecanismo de Transporte: Curvas IMPS/IMVS

As medidas de IMPS e IMVS são feitas a partir da variação na frequência de luz incidente sobre os dispositivos fotovoltaicos. Para o IMPS o sistema responde a fotocorrente gerada no dispositivo,

enquanto que para o IMVS a resposta é a fotovoltagem.

A Figura 3 indica o gráfico Nyquist para o IMPS, este relaciona a componente imaginária da fotocorrente gerada no sistema com sua componente real. O comportamento do gráfico de percorrer todo o quadrante imaginário negativo e real positivo até chegar em zero, para altas frequências, pode ser entendido em termos do tempo de trânsito. Este tempo de trânsito é controlado pela difusão necessária para os transportadores de cargas gerados na parte externa do filme alcançar o substrato. Este processo de transferência de elétrons pela rede do semiconductor é lento, o que permite que alguns elétrons sejam “roubados” e reduzam elementos presentes no eletrólito (recombinação). Estes elétrons que são roubados da rede semicondutora diminuem a eficiência do sistema fotovoltaico sensibilizado por corantes. Por esta razão a literatura diz que se a vida útil dos elétrons for suficientemente longa, todos os elétrons fotojetados são coletados.

O diâmetro dos semicírculos formados ilustra o tempo levado para que os elétrons da rede semicondutora tenham desaparecido, seja por extração ou recombinação. Assim, um semicírculo formado indica um único sistema de transporte de elétrons. Para o sistema com o Líquido Iônico 2, que é composto por pequenas adições do polímero BTDCVI, são observados a formação de dois semicírculos. Ou seja, a presença do polímero adicionou mais um sistema de transporte de elétrons. O primeiro semicírculo está relacionado com frequências de iluminação mais altas, o que indica a presença de transportadores de carga mais rápidos neste sistema. Muito provavelmente estes transportadores de cargas estão no TiO₂, uma vez que os elétrons são fotojetados pelo corante. O segundo semicírculo está relacionado com frequências mais baixas, o que indica que transportadores mais lentos estão presentes no sistema.

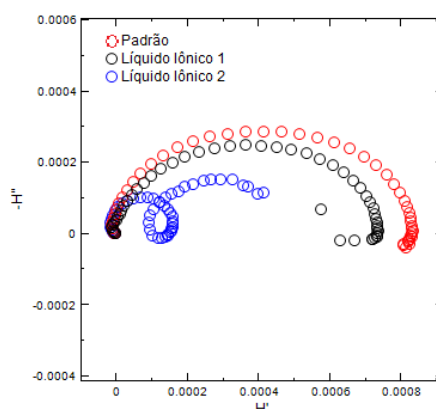


Figura 3. Gráficos Nyquist de IMPS para os eletrólitos avaliados.

A altura dos semicírculos está relacionada à capacidade de acumulação de carga do sistema, uma vez que componentes imaginárias estão relacionadas à capacitores. Assim, a menor altura do primeiro semicírculo formado para o dispositivo com BTDCVI no eletrólito indica que menores quantidades de cargas estão sendo transportadas e acumuladas neste sistema. Este processo faz sentido, já que é necessário tempo para a promoção da capacitância, sendo rápido o processo de trânsito, o sistema não tem tempo de acumular muitas cargas.

Além dos mecanismos de geração e transporte de elétrons, os menores tamanhos de diâmetro dos semicírculos formados para o sistema com o BTDCVI indicam que os elétrons na rede condutora desapareceram mais rapidamente. Portanto, ou a recombinação está sendo maior, ou a passagem dos elétrons através da rede do semiconductor está sendo suavizada e acontecendo de forma mais rápida. A diminuição do tempo médio de residência de um elétron no estado de armadilha pode acelerar o transporte de elétrons e levar a um menor tempo de transporte. A partir dos dados obtidos por impedância, a primeira hipótese de recombinação é descartada, pois a resistência à recombinação para o Líquido Iônico 2 foi maior.

A Figura 4 ilustra o gráfico Bode, que relaciona a componente imaginária da corrente com a

frequência de modulação da luz incidente. Como a frequência é o inverso do período, estes gráficos fornecem o tempo de desaparecimento dos elétrons da rede semicondutora. Estes dados reafirmam os dois sistemas de geração e transporte de elétrons, no qual o primeiro ocorre para tempos menores, enquanto no segundo os elétrons passam um tempo maior para completar o ciclo de desaparecimento.

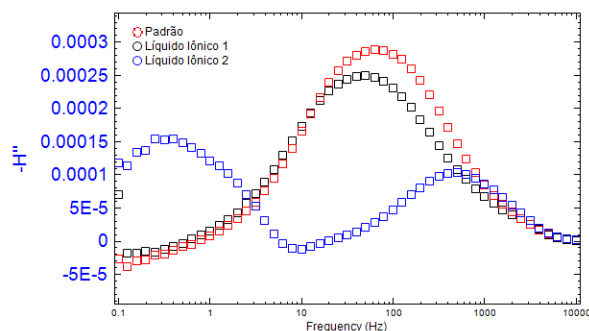


Figura 4. Gráficos Bode de IMPS para os eletrólitos avaliados.

Os gráficos Nyquist e Bode para as medidas de IMVS são fornecidos nas Figuras 5. Nestes gráficos são fornecidas as componentes imaginária e real da voltagem, além do tempo de recombinação dos elétrons. A constante de tempo de recombinação aumentou para o dispositivo na presença do BTDCVI, Líquido Iônico 2, assim os elétrons fotogerados tiveram maior dificuldade de recombinar com o eletrólito. Este dado valida o fato de que não é o processo de recombinação mais acentuado que está retirando mais rapidamente os elétrons da rede do semicondutor, mas a passagem mais rápida do elétron até chegar ao substrato. Para manter a neutralidade da carga em um filme nanoestruturado sob acumulação de elétrons, é essencial que o aumento da carga de elétrons nas nanopartículas seja acompanhado de uma carga iônica positiva na interface semicondutor / eletrólito.

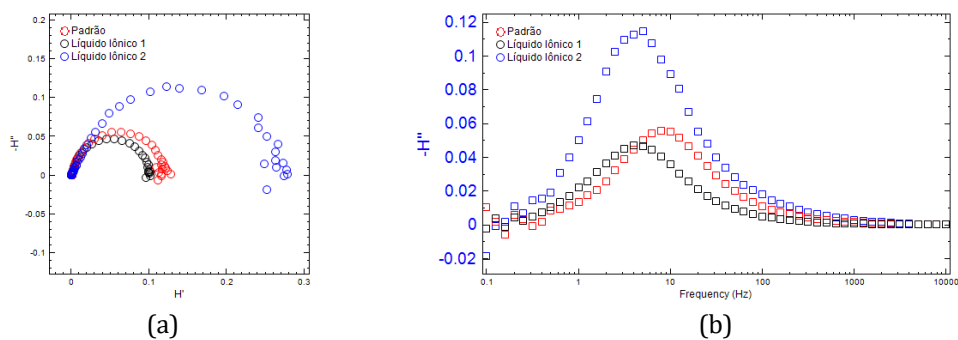


Figura 5. Gráficos (a) Nyquist e (b) Bode de IMVS para os eletrólitos avaliados.

Os tempos de trânsito, tempos de recombinação e a eficiência de coleta para os dispositivos avaliados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Valore do tempo de transporte dos elétrons na banda de condução do TiO₂, tempo de transporte adicional, tempo de recombinação e a eficiência de coleta dos elétrons na camada do TiO₂.

| Eletrólitos | Tempo de Transporte no TiO ₂ (ms) | Tempo de Transporte Adicional (ms) | Tempo de Recombinação do Elétron (ms) | Eficiência Total de Coleta dos elétrons no TiO ₂ (%) |
|--------------------------------------|--|------------------------------------|---------------------------------------|---|
| Padrão | 2,48 | - | 20,3 | 87,6 |
| Líquido Iônico 1 | 3,23 | - | 39,97 | 91,9 |
| Líquido Iônico 2 (com BTDCVI) | 0,30 | 497,61 | 31,97 | 99,0 |

Conclusão

Devido ao maior tempo de recombinação, ao trânsito mais rápido de elétrons no TiO₂ e ao seu maior carregamento: Possibilidade de o polímero BTDCVI estar sendo atraído para a superfície do TiO₂, que se encontra carregado de elétrons em sua banda de condução. Esta adsorção evitaria que os elétrons do I³⁻ se recombinassem nos profundos sítios de aprisionamento promovidos pelo Li⁺. Estes sítios de aprisionamento impedem que os elétrons injetados se transfiram suavemente no TiO₂;

Devido à maior corrente de curto circuito: Criação de cargas no eletrólito pela propriedade de fluorescência do BTDCVI. Esta proposta explicaria o segundo mecanismo de transporte de carga mais lento. Entretanto, após exposição do eletrólito em radiação UV, a fluorescência não foi visualizada;

Em relação ao segundo mecanismo de transporte de cargas: este pode estar relacionado ao processo mais lento de transporte do I⁻ ligado ao BTDCVI e não a geração de elétrons do BTDCVI;

N5 – Sistemas fotoquímicos nanoestruturados para produção de hidrogênio e suas aplicações

Resumo do trabalho

Novos procedimentos de síntese de TiTa₂O₇ nanoestruturado foram propostos para aumentar sua aplicabilidade. Neste trabalho, propomos a síntese de TiTa₂O₇ por oxidação anódica como método de baixo custo e facilmente reproduzível que permite o controle das características morfológicas das nanoestruturas. O filme de óxido nanoestruturado permanece amorfo à temperatura de até 700 ° C e a formação das fases Ta₂O₅ e TiO₂-anatase ocorre apenas a 800 ° C. A 1000 ° C, a transformação de fase de nanotubos amorfos em TiTa₂O₇ ocorre como indicado pelo refinamento de Rietveld. As imagens de microscópio eletrônico de varredura de campo escuro (HAADF-STEM) mostraram a distribuição de elementos Ti e Ta ao longo dos nanotubos nas diferentes temperaturas de calcinação. A análise de XPS identificou a presença de grupos OH na

superfície do material relacionado à formação de Ti (OH) Ta. TiTa207 é notável por suas excelentes propriedades ópticas com uma faixa de 3,08 eV, conforme determinado pela espectroscopia de reflectância difusa.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

Os resultados de DRX para diferentes temperaturas são mostrados nas Figs. 1b e 1c. Os padrões foram indexados com base nos arquivos JCPDS 21-1272 e 21-1276 para TiO₂, anatase e rutilo, respectivamente, e arquivos 25-0922 e 100-1270 para L-Ta₂O₅ e TiNb₂O₇, respectivamente.

No presente trabalho, as reflexões de Bragg da anatase de TiO₂ são observadas apenas a 800 ° C, simultaneamente com a cristalização de Ta₂O₅ (Fig. 1b). Em geral, para a fase anatase, os íons Ti⁴⁺ normalmente se concentram nas extremidades da célula cristalina, facilitando o compartilhamento de planos e bordas e gerando distorções na rede cristalina através do deslocamento de defeitos entre <101> TiO₂ e <001> Ta₂O₅ planos. Este efeito leva a um atraso na formação da fase anatase, que exige a difusão dos átomos (Ti e Ta) que são limitados pelo movimento líquido devido a defeitos que requerem mais energia térmica para a formação da fase anatase TiO₂.

A 1000 ° C, pode-se observar a formação da fase TiTa₂O₇ (~ 27,0%), a fase residual de rutilo TiO₂ (~ 22,0%) e a maior parte da fase Ta₂O₅ (51%). Os pesquisadores Balachandran e Eror relataram que o limite de solubilidade a 1050 ° C é 10 em% Ta em TiO₂ policristalino.

O TiTa₂O₇ é considerado um óxido substitutivo e devido à contração de lantanídeo Ta⁵⁺ que tem um raio iônico semelhante ao Ti⁴⁺ (Ti⁴⁺: 0,61 Å e Ta⁵⁺: 0,64 Å), permitindo a substituição fácil de Ta⁵⁺ na célula cristalina de TiO₂. A boa homogeneidade obtida pela preparação juntamente com o excesso de Ta₂O₅ facilitou a formação da fase TiTa₂O₇ e, conseqüentemente, uma fração significativa (27%) foi obtida a uma temperatura de tratamento térmico relativamente baixa (1000 ° C).

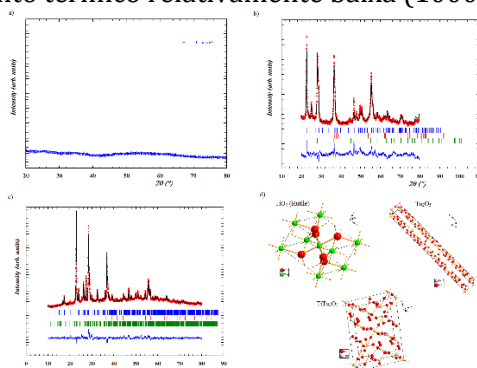


Figura 1- refinamento XRD e Rietveld de NTs: (a) como formado (b) calcinado a 800 ° C (c) calcinado a 1000 ° C d) Projeção da célula unitária para TiO₂, Ta₂O₅ e TiTa₂O₇.

As imagens HAADF-STEM (Figura 2a-c) mostram que a morfologia nanotubular é retida à temperatura de 800 ° C, enquanto as paredes dos nanotubos se rompem a 1000 ° C, resultando em uma mistura de óxidos (TiTa₂O₇) conforme identificado pelo DRX. A ruptura da parede ocorre porque a 1000 ° C, os cristais são maiores do que a espessura da parede dos tubos. A interrupção facilita a solubilidade de Ta em TiO₂, contribuindo para a diminuição da energia térmica necessária para a formação da fase TiTa₂O₇.

O mapeamento EDS (Figuras 2d-f) mostra a contribuição dos átomos de Ti e Ta ao longo dos nanotubos. A fase amorfa (Figura 2d) pode ser observada como uma distribuição aleatória de átomos de Ti e Ta, enquanto que a 800 ° C é possível perceber regiões Ti₄ + e Ta₅ + bem definidas. A 1000 ° C, além das fases TiO₂ (rutilo) e Ta₂O₅, uma nova estrutura é identificada pela XRD como a fase TiTa₂O₇.

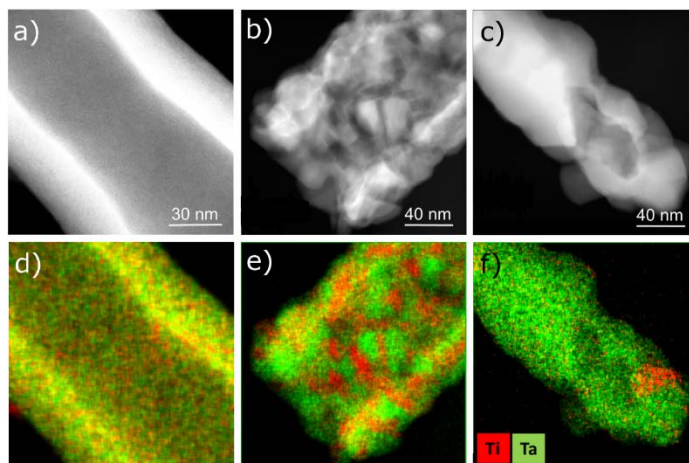


Figura 2- Imagens HAADF de nanotubos a) como formados b) calcinados a 800 ° C c) calcinados a 1000 ° C e mapas de composição EDS de d) formados e) calcinados a 800 ° C f) calcinados a 1000 ° C.

A Figura 3 mostra a análise XPS dos nanotubos formados e após os tratamentos a 800 ° C e 1000 ° C. Os picos a 28,1 eV e 26,2 eV correspondem respectivamente a Ta 4f_{5/2} e Ta 4f_{7/2} (Figura 3a), que caracterizam a presença exclusiva de Ta₅ + independentemente da temperatura.

O espectro de Ti 2p mostrado na Figura 3b prova a presença exclusiva de Ti⁴⁺ + 26,27. O sinal de O 1s é observado (Fig. 3c) em 530.0-530.5 eV consistente com o oxigênio da rede (OLT). Além disso, dois picos adicionais são observados na faixa 532.0-532.7 eV que revela a existência de hidróxidos de superfície (OOH). É importante destacar a maior intensidade do pico de hidroxilas (taxa de área OLT: OOH aproximadamente 2: 1) nas amostras sem calcinação; isto pode ser justificado pelo mecanismo de formação dos nanotubos por oxidação anódica. Após o recozimento a 800 ° C, a relação de área OLT: OOH aumenta consideravelmente para aproximadamente 4: 1, indicando que o número de hidroxilas superficiais diminui. Assim, pode-se considerar que o material calcinado a 800 ° C apresenta apenas os hidroxilas devido aos defeitos de superfície de TiO₂ e Ta₂O₅.

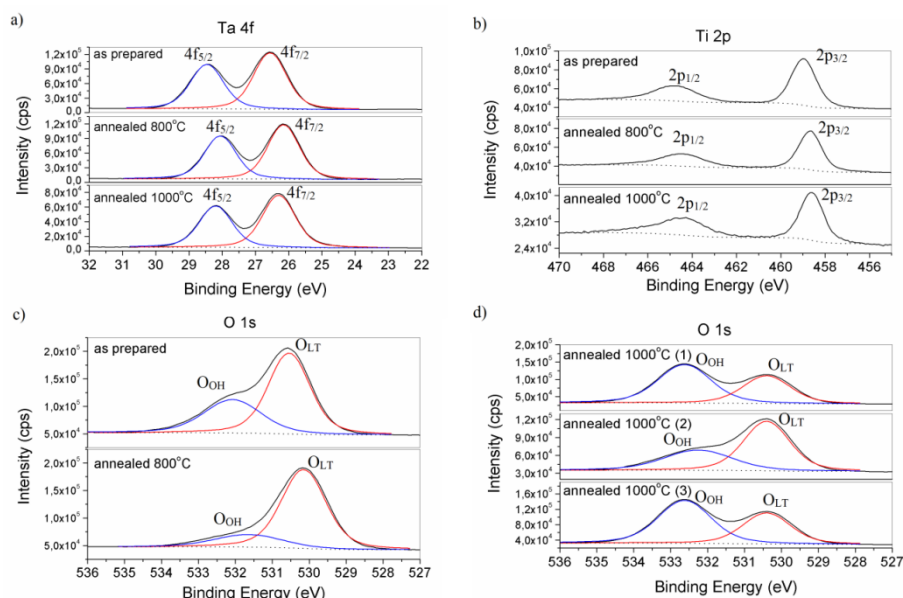


Figura 3- Espectros XPS de alta resolução de a) Ta 4f, b) Ti 2p para as três temperaturas estudadas, c) O 1s para a amostra assimétrica e 800 ° C e d) oxigênio para amostra de 1000 ° C medida em três diferentes regiões.

Na Figura 3d, o espectro de O 1s mostra diferentes proporções de área OLT: OOH. Em geral, a contribuição da banda de hidroxilo é mais intensa que a da amostra sem recozimento. Esse comportamento ocorre devido à ruptura da estrutura do nanotubo e à formação de partículas de óxido menores, o que também provoca o aumento da área de superfície. Esse fenômeno causa a heterogeneidade dos grupos hidroxilo na superfície, como observado na experiência XPS. Esta variação na relação OLT: OOH em três regiões diferentes em amostra de 1000 ° C também pode ser associada à presença de locais fortes de ácido de Brønsted a partir da formação de Ti (OH) Ta (Figura 4). Esta estrutura é formada quando os octaedros TiO₆ e TaO₆ são preferencialmente orientados, de modo que os átomos de oxigênio compartilhados por Ti⁴⁺ e Ta⁵⁺ se ligam aos íons H⁺ nos locais de ácido Ti-OH e Ta-OH.

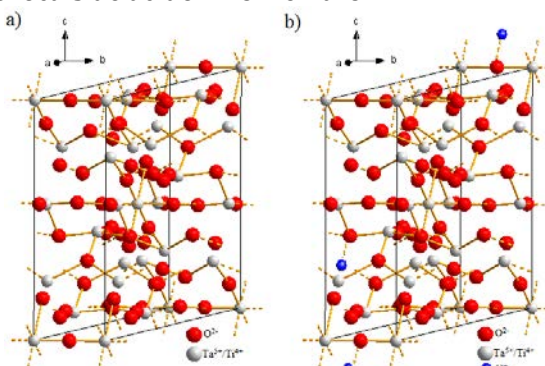


Figura 4- a) Estrutura esquemática TiO₆ e TaO₆ octahedra; b) Estrutura esquemática da formação de Ti (OH) Ta.

A espectroscopia de reflectância difusa foi utilizada para estudar as modificações nas propriedades ópticas dos nanotubos em função das diferentes temperaturas de calcinação. Os intervalos de banda foram obtidos a partir do coeficiente de absorção $F(R)$ determinado pela equação de Kubelka-Munk a partir dos valores de reflectância difusa (Figura 5a). O intervalo de banda calculado é obtido como intercepto entre a tangente às curvas e a intercepção do eixo X (Figura 5b). A aplicação da equação $\alpha(h\nu)$

$\sim B (h\nu - E_g)^n$ com $n = 2$ para uma transição permitida indireta é sugerida devido aos resultados altamente precisos obtidos.

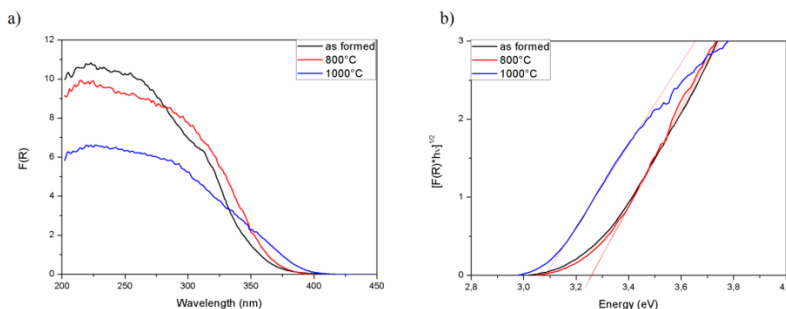


Figura 5- a) Espectroscopia de refletância difusa das amostras a diferentes temperaturas de calcinação e b) construção da curva tangente para as amostras.

Os deslocamentos positivos na banda de absorção dos nanotubos devido ao aumento da temperatura são mostrados na Figura 5a. Os valores de E_g obtidos mostram que a distância entre as bandas diminuiu em 0,15 eV (3,23 eV para 3,08 eV) quando a temperatura de calcinação aumenta de 800 °C a 1000 °C. Este deslocamento pode ser atribuído à transformação das fases cristalinas.

Os nanotubos calcinados a 800 °C são obtidos como uma mistura homogênea de TiO₂ anatase e Ta₂O₅, que apresentam um intervalo de banda teórico de 3.2eV e 3.9eV respectivamente. Assim, quando os pares elétron-buraco são fotogerados, os elétrons excitados na banda de condução de Ta₂O₅ são transferidos para a banda de condução do anatase TiO₂. Este comportamento explica a semelhança entre os valores de E_g obtidos para os nanotubos recozidos a 800 °C e a fase anatase teórica TiO₂ E_g .

Por outro lado, a amostra recozida a 1000 °C mostra a presença da fase TiTa₂O₇ e a transformação da fase de TiO₂ anatase em rutilo. Rutile TiO₂ possui o intervalo de banda teórico de 3,0 eV com a banda de condução posicionada abaixo da relatada para a anatase TiO₂, portanto, espera-se que os pares elétron-buraco sejam transportados para as bandas de TiO₂ rutilo causando o deslocamento observado. Os relatos da literatura indicam que o óxido misto TiTa₂O₇ possui um intervalo de banda próximo ao do rutilo TiO₂, devido à semelhança entre as estruturas cristalinas, uma vez que o TiTa₂O₇ é derivado do rutilo TiO₂.

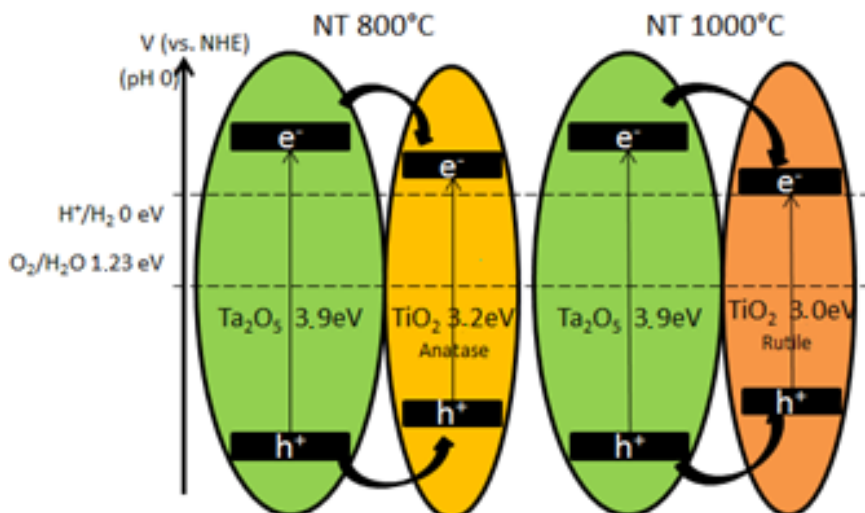


Figura 6- Diagrama esquemático da heterojunção Ta₂O₅ / TiO₂ e a estrutura da banda de condução relativa e valência; As instruções de transferência dos elétrons e buracos gerados pela foto também são fornecidas

Conclusão

O refinamento Rietveld permitiu quantificar as fases cristalinas dos óxidos estudados em função da temperatura. É obtida boa homogeneidade da mistura de óxidos e o método de síntese aplicado maximiza a área de contato facilitando a difusão dos íons Ta⁵⁺ e Ti⁴⁺ e aumentando (a 1000 ° C) a fração da fase TiTa₂O₇ em 2,7 vezes em comparação com outros métodos. A presença de locais ácidos fortes de Brønsted, encontrados por análises XPS para amostras calcinadas a 1000 ° C, mostra a possibilidade de o material atuar como catalisador em reações ácidas. As boas propriedades ópticas do material apresentado neste trabalho indicam que absorve todo o espectro UV, demonstrando seu potencial de aplicação em processos fotoeletroquímicos.

BIOTECNOLOGIA

Ao longo do ano de 2017 o CETENE atuou no desenvolvimento de dez projetos das áreas de Biotecnologia Verde (aplicada à agricultura e meio ambiente) e cinco projetos de Biotecnologia Branca (aplicada a indústria e biocombustíveis). Os laboratórios se encontram com toda a infraestrutura para dar suporte as atividades de pesquisa em escala Laboratorial e Piloto, que se constituem na Biofábrica (localizada na sede) e na Usina Experimental (no município de Caetés).

Foram alcançados em 2017 os seguintes resultados:

BV1 – Estabelecimento de protocolo in vitro de multiplicação em larga escala de essências florestais da Mata Atlântica visando o reflorestamento, o enriquecimento de mata e o florestamento

Resumo do trabalho

Caracterizada por ser constituída por um conjunto de formações florestais e ecossistemas associados, de acordo com o Ministério do Meio Ambiente (MMA)¹, a Mata Atlântica já teve 1.300.000 km² de extensão ao longo de boa parte dos estados brasileiros. Atualmente, estima-se que apenas 22% da mata é remanescente de vegetação nativa e apenas cerca de 7% encontra-se bem conservada em regiões fragmentadas. Apesar de reduzida e fragmentada, é uma das regiões mais ricas do mundo em biodiversidade, avalia-se que existam cerca de 20.000 espécies vegetais, incluindo diversas espécies endêmicas e ameaçadas de extinção. Essa riqueza é maior que a de alguns continentes (17.000 espécies na América do Norte e 12.500 na Europa). Em relação à fauna, os levantamentos já realizados indicam que a Mata Atlântica abriga mais de 2.000 espécies diferentes de animais.

Ainda segundo o MMA, a Mata Atlântica tem importância vital para aproximadamente 120 milhões de brasileiros que vivem em seu domínio, onde são gerados aproximadamente 70% do PIB (Produto Interno Bruto) brasileiro, prestando importantíssimos serviços ambientais. Regula o fluxo dos mananciais hídricos, assegura a fertilidade do solo, suas paisagens oferecem belezas cênicas, controla o equilíbrio climático e protege escarpas e encostas das serras, além de preservar um patrimônio histórico e cultural imenso.

De forma geral, após um processo histórico de fragmentação, degradação e defaunação em larga escala, o cenário atual mostra a baixa cobertura florestal da Mata Atlântica, tendo como consequência paisagens biologicamente empobrecidas, dificultando a conservação da biodiversidade e a sua função no ecossistema (BERTACCHI et al., 2016).

Por estarmos vivendo em uma era de mudanças ambientais sem precedentes, faz-se necessária a motivação de ações globais igualmente sem precedentes para proteger e restaurar os ecossistemas florestais (ARONSON E ALEXANDER, 2013).

Visando minimizar os problemas acometidos pelo desmatamento, o uso de ferramentas biotecnológicas vem se mostrando de grande importância no auxílio dos programas de reflorestamento, florestamento e enriquecimento de mata. Dessa forma, a obtenção de espécies arbóreas a partir da técnica de cultura de tecidos *in vitro* tem se tornado uma

¹ Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/mata-atlantica>>. Acesso em: 08 dez. 17

realidade na produção em massa de mudas, uma vez que é um procedimento capaz de acelerar o processo de quebra de dormência e gerar um grande número de indivíduos em curto espaço de tempo.

Inicialmente, foram introduzidas *in vitro* quatro espécies. São elas: (1) *Bowdichia virgiloides* – Sucupira-preta; (2) *Parkia pendula* – Visgueiro; (3) *Xylopia frutescens* – Embira e; (4) *Caesalpinia ferrea* – Pau-ferro. As duas primeiras foram gentilmente cedidas pelo Jardim Botânico do Recife – JBR e as duas últimas foram coletadas em trechos de Mata Atlântica do Cabo de Santo Agostinho.

Previamente à inoculação das sementes nos meios de cultura foi realizada a desinfestação das mesmas seguindo o seguinte roteiro: a preparação das soluções (água sanitária 15%, álcool 70%) foi feita em câmara de fluxo laminar, limpa com álcool 70% e esterilizada pelo germicida por 20 minutos. As sementes foram, então, imersas solução de álcool 70%, para quebra da tensão superficial, por 1 minuto; seguida pela imersão em solução de água sanitária a 15%, por 20 minutos, para evitar a contaminação bacteriana; seguida de três lavagens com água esterilizada. No caso das sementes de *X. frutescens* e *C. ferrea*, os protocolos de desinfestação sofreram alterações (acrécimo do detergente Tween® 20 e do fungicida e bactericida sistêmico Kasumin®) devido à ineficácia do procedimento padrão para estas, como será melhor explanado nos resultados do projeto.

Para indução da quebra de dormência foi utilizado como meio base o MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose e 6 g.L⁻¹ de ágar. Paralelamente, foi empregado o *Wood Plant Medium* – WPM (LLOYD E Mc COWN, 1981) também acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose, 6 g.L⁻¹ de ágar. Em ambos os casos, foram confeccionados meios com e sem carvão ativo para avaliação da oxidação, característica peculiar das espécies arbóreas. Os explantes foram cultivados em sala de crescimento com fotoperíodo (16h de luz e 8h de escuro) e temperatura controlada, possibilitando a identificação de diferenças no potencial de germinação nas distintas condições testadas.

Além dos diferentes meios de cultura empregados, foram implementadas distintas formas de rompimento do tegumento, ou seja (escarificação química com imersão em ácido sulfúrico – H₂SO₄ – por 10 minutos e escarificação mecânica com uso de lixa nº 100) como variáveis e a germinação direta sem uso de artifícios de escarificação.

Dessa forma, o presente projeto teve como objetivo estabelecer protocolo de quebra de dormência *in vitro* para espécies de plantas arbóreas peculiares da porção de Mata Atlântica do estado de Pernambuco, visando a rápida obtenção destas na biofábrica do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste – CETENE com o intuito de distribuí-las para programas de reflorestamento, florestamento e enriquecimento de mata.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

Como as formas de desinfestação, as estratégias de rompimento tegumentar e as avaliações dos meios de cultura diferiram entre as espécies, os resultados serão aqui expostos separadamente para cada espécie, visando uma melhor organização e compreensão dos resultados obtidos.

Para a espécie *B. virgiloides* foram utilizadas 200 sementes, sendo 20 para cada estratégia. O Quadro 1 ilustra todas as estratégias aplicadas:

Quadro 1. Resumo das estratégias completas aplicadas à germinação de *B. virgiloides*.

| Estratégia | Meio de cultura | Presença/ausência de carvão ativo | Escarificação |
|------------|-----------------|-----------------------------------|---------------------------------------|
| E1 | MS | sem carvão | sem escarificação (germinação direta) |
| E2 | MS | com carvão | sem escarificação (germinação direta) |
| E3 | WPM | sem carvão | sem escarificação (germinação direta) |
| E4 | WPM | com carvão | sem escarificação (germinação direta) |
| E5 | MS | sem carvão | escarificação mecânica |
| E6 | MS | com carvão | escarificação mecânica |
| E7 | WPM | sem carvão | escarificação mecânica |
| E8 | WPM | com carvão | escarificação mecânica |
| E9 | MS | sem carvão | escarificação química |
| E10 | MS | com carvão | escarificação química |

Após 30 dias da inoculação das sementes, observou-se que a estratégia E10 foi a mais bem sucedida, apresentando 75% dos exemplares com desenvolvimento avançado de folhas e raízes (Figura 1). E5, E6 e E9 também se mostraram satisfatórias, porém sem o mesmo sucesso (20%, 30% e 35%, respectivamente). Nenhuma das inoculações em WPM com algum tipo de escarificação apontou resultado significativo (E7 e E8). Aquelas introduzidas sem rompimento de tegumento (E1, E2, E3 e E4) não apresentaram resposta alguma. A taxa de contaminação, até essa primeira observação, demonstrou-se irrelevante.

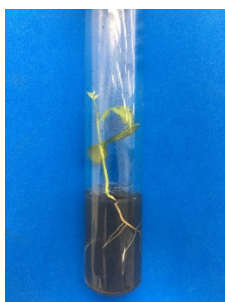


Figura 1. Imagem ilustrando o desenvolvimento da espécie *B. virgiloides*, escarificada com ácido sulfúrico por 10 minutos, após 30 dias da inoculação em meio MS contendo carvão ativo.

A escarificação por meio do ácido sulfúrico é comum para algumas espécies, contudo, sua eficácia dependerá do tempo de exposição da semente ao agente e do genótipo (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007). Dessa forma, para a Sucupira-preta, Smiderle e Sousa (2003), recomendam entre cinco e dez minutos de imersão das sementes em H_2SO_4 para os trabalhos de quebra de dormência em telado. O que corrobora com os resultados aqui obtidos *in vitro*.

Recentemente, foi feita uma nova observação do mesmo experimento (75 dias após a inoculação) e verificou-se que o cenário sofreu algumas mudanças. Dentre os indivíduos com desenvolvimento de folhas e raízes em E10, três apresentaram crescimento inicial, porém com atrofia das folhas que brotaram posteriormente (Figura 2). As restantes estão cada vez mais desenvolvidas como mostra a Figura 3.



Figura 2. Imagem ilustrando as folhas que se desenvolveram normalmente, porém agora encontram-se mortas e a atrofia das folhas que nasceram posteriormente.



Figura 3. Imagem mostrando o bom desenvolvimento de um exemplar inoculado em meio de cultura MS contendo carvão ativo e escarificado quimicamente (75 dias após a inoculação).

Outro dado relevante é o fato de as sementes em E7 e E8 agora apontarem boa taxa de germinação (35% cada) e em E5 e E9 esse valor subiu para 25% e 50%, respectivamente. Em E6 a porcentagem se manteve a mesma. As sementes inoculadas sem sofrer qualquer tipo de tratamento tegumentar continuam sem apresentar resposta alguma.

Também foi possível perceber que 30 dias após a inoculação, as sementes que foram escarificadas mecanicamente e indicaram o aparecimento de parte aérea e raízes, tinham o crescimento desordenado, com algumas de cabeça para baixo. Na última observação (75 dias), as mesmas encontravam-se na posição comum.

A segunda espécie trabalhada foi a *P. pendula* com 120 sementes e seis estratégias, isto é, 20 sementes por estratégia (Quadro 2).

Quadro 2. Resumo das estratégias completas aplicadas à germinação de *P. pendula*.

| Estratégia | Meio de cultura | Presença/ausência de carvão ativo | Escarificação |
|------------|-----------------|-----------------------------------|---------------------------------------|
| E1 | MS | sem carvão | sem escarificação (germinação direta) |
| E2 | MS | com carvão | sem escarificação (germinação direta) |
| E3 | WPM | sem carvão | sem escarificação (germinação direta) |
| E4 | WPM | com carvão | sem escarificação (germinação direta) |
| E5 | MS | sem carvão | escarificação mecânica |
| E6 | MS | com carvão | escarificação mecânica |

Sessenta dias após a introdução nos meios de cultura, apenas dois indivíduos indicaram desenvolvimento de raízes e folhas, sendo um em E5 e outro em E6 (Figura 4).

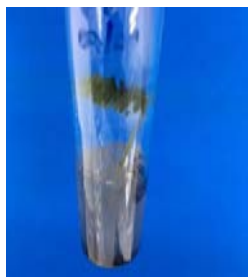


Figura 4. Imagem mostrando o bom desenvolvimento do exemplar de *P. pendula* inoculado em meio de cultura MS contendo carvão ativo e escarificado fisicamente.

Contudo, um grande número de sementes (85%) teve o tegumento rompido e têm indícios de desenvolvimento para a posteridade, tanto em E5 quanto em E6. Da mesma forma da *B. virgiloides*, nenhuma semente inoculada em E1, E2, E3 e E4, ou seja, sem algum método de escarificação, apresentou qualquer tipo de resposta.

A terceira espécie foi a *X. frutescens* que ainda não indicou resultados de germinação devido ao fato de, em todas as tentativas, apresentar 100% de taxa de contaminação endógena por fungo. O primeiro ensaio foi o protocolo padrão de desinfestação (álcool 70% por 1 min; hipoclorito de sódio 2,5% por 20 min; três lavagens em água destilada estéril) e foram inoculadas sementes com e sem escarificação em ambos os meios de cultura em todos os tratamentos de limpeza. A segunda tentativa teve como modificação o acréscimo do detergente Tween[®] 20 ao hipoclorito de sódio. O terceiro teste, além de mantido o detergente, teve a adição do fungicida e bactericida sistêmico Kasumin[®] na terceira água da lavagem final. Por fim, também se tentou deixar a sementes em intumescimento *overnight* em Kasumin[®].

Guerra *et al.* (2013), em um dos poucos trabalhos de cultura de tecidos *in vitro* com o gênero *Xylopi*a, relatam a ineficácia do fungicida Cercobin[®], em diferentes concentrações testadas, para redução da incidência de *Fusarium sp.* na cultura de tecidos usando explantes caulinares de *Xylopi*a *sericea*.

Recentemente (15 dias), foram introduzidas 80 sementes de *C. ferrea* e foram testados quatro meios de cultura distintos (MS e WPM com e sem carvão ativo). Em nenhum dos casos houve processo de escarificação. E, há 7 dias foram postos para germinar *in vitro* mais 80 indivíduos escarificados mecanicamente em meios MS e WPM com e sem carvão ativo. Como nos casos anteriores, o surgimento de resultados significativos tem-se dado apenas cerca de 30 dias depois da inoculação.

Conclui-se, portanto, que para a espécie *B. virgiloides* o tratamento mais rápido e eficaz na quebra da dormência foi a escarificação química com imersão das sementes por 10 minutos em ácido sulfúrico associada à inoculação em meio de cultura MS acrescido de carvão ativo. Para a *P. pendula*, até o momento, independente do meio de cultura, é necessário que se haja o rompimento do tegumento antes da inoculação. No caso da *X. frutescens*, será indispensável esforços para se ultrapassar a barreira da contaminação endógena. Por fim, é preciso que haja mais tempo para observações e, conseqüentemente, conclusões relativas à germinação da *C. ferrea*.

Como a literatura é extremamente pobre em relação ao cultivo *in vitro* das espécies aqui trabalhadas, torna-se grande a probabilidade de boas e inéditas publicações referentes às arbóreas em questão.

Referências

- ALBUQUERQUE, K. S.; GUIMARÃES, R. M.; ALMEIDA, I. F.; CLEMENTE, A. C. S. Métodos para superação da dormência em sementes de Sucupira-preta (*Bowdichia virgiloides* KUNTH.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 6, p. 1716-1721, 2007.
- ARONSON, J.; ALEXANDER, S. Ecosystem restoration is now a global priority: time to roll up our sleeves. **Restoration Ecology**, v. 21, pp. 293–296, 2013.
- BERTACCHI, M. I. F. et al. Establishment of tree seedlings in the understory of restoration plantations: natural regeneration and enrichment plantings. **Restoration Ecology**, v. 24, n. 1, pp. 100–108, 2016.
- GUERRA, C.A.; LAFETA, B. O.; LOPES, F. M.; PENIDO, T. M. A.; SILVA, A. F.; CAMPOS, P. M. Incidência de *Fusarium* na germinação *in vitro* de *Xylopia sericea* St. Hill. In: XVII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XIII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação e III Encontro de Iniciação à Docência, São José dos Campos SP. Anais... Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP, 2013. v. 1. p. 1-4.
- Lloyd, G and BH McCown. 1981. Commercially-feasible micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by shoot tip culture. *Proc. Int. Plant Prop. Soc.* 30:421-427.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A Revised Medium For Rapid Growth and Bio Assays With Tobacco Tissue Cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, pp. 473-497, 1962.
- SMIDERLE, O. J; SOUSA, R. C. P. Dormência em sementes de Paricarana (*Bowdichia virgiloides* Kunth. – Fabaceae – Papilionidae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 2, p. 48-52, 2003.

BV2 – Gerenciamento dos Projetos da Biofabrica

Resumo do trabalho

Biofabrica de plantas ou fábrica biológica agrega conhecimento tecnológico, métodos e técnicas de gestão indispensáveis ao funcionamento fabril. A Biofábrica Governador Miguel Arraes do Centro de Tecnologia e Estratégias do Nordeste – CETENE, tem a missão de desenvolver e produzir vegetais em larga escala com interesse econômico e estratégico para a conservação da biodiversidade da região e aumento da produtividade de produtores rurais. A Biofábrica desenvolve tecnologias que visam à obtenção de plantas com fidelidade genética e qualidade fitossanitária como suporte ao setor agroindustrial. O uso dessas tecnologias produz material vegetal de qualidade e explora o máximo potencial genético das plantas, refletindo em maior produtividade no campo e baixos custos de produção. Sua infraestrutura permite uma produção de aproximadamente 1.000.000 de mudas por ano, além do cultivo e análise fitossanitária de outras espécies vegetais. A construção de uma Biofábrica exige um detalhado planejamento, faz-se necessário, definir claramente a relevância deste tipo de instalação e estabelecer estratégias operacionais que objetivam atingir os resultados de credibilidade que vem se aprimorando cada ano. Portanto, desde 2014, vem sendo desenvolvidas técnicas de gerenciamento eficazes para continuar atendendo a necessidade da sociedade com excelência no atendimento ao usuário e principalmente manter a qualidade dos nossos produtos e dos processos em larga escala de produção.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

Resultados

A estrutura física da biofábrica, hoje, dá condições para desenvolvimento das pesquisas aplicadas com presteza e qualidade. Foram construídos laboratórios

dentro dos ambientes da biofabrica que garantem a excelência da pesquisa em larga escala e a segurança dos resultados apresentados. Nos últimos 12 meses, mesmo tendo demanda de prestação de serviço tecnológico, em paralelo a pesquisa aplicada, produzimos 01 artigo e 04 resumos foram apresentados no 1º Colóquio do CETENE.

A administração do sistema fabril, até o momento, está fluindo parcialmente com certa segurança, pois temos contratos de manutenção dos compressores, os quais alimentam o sistema de imersão temporária até 31/12/2017, porém, a grande preocupação é o período pós dezembro de 2017. Há necessidade de renovar os contratos de manutenções dos equipamentos de grande importância, os quais sustentam o sistema produtivo da fabrica. Já os equipamentos de ar condicionados, gerador, Nobreak, , estão descobertos quanto a contrato de manutenção com atendimento 24 horas, entretanto, os equipamentos dos laboratórios estão com cobertura para manutenção, mas, não para as certificações, que vencem agora no final de dezembro de 2017. Fora os tramites que extrapolam a nossa responsabilidade, o setor administrativo da Biofábrica está organizado através de documentos assinados e carimbados com detalhamento das ocorrências e acompanhamento de todos os processos da produção.

A prestação de serviço Tecnológico, parcialmente concluída, a entrega do produto restante da demanda contratada será no mês de Janeiro e Fevereiro de 2018, respeitando a programação de plantio do ciclo da Cana de Açúcar e solicitação do usuário.

No que diz respeito aos processos da biofábrica, é apresentado uma revisão de POP e aprimoramento das técnicas de produção em larga escala, a equipe técnica composta por pesquisadores e Terceirizados, está totalmente comprometida com a missão do CETENE, e com o respeito a sociedade, que acredita no desenvolvimento tecnológico.

Conclusões

Podemos concluir que a estrutura que hoje, funciona, é considerada a mais moderna e com excelência de qualidade, porém, para continuar neste patamar, faz-se necessário renovação de todos os contratos de manutenções dos equipamentos e contratação de empresa especializada para certificar os equipamentos dos laboratórios dando continuidade ao trabalho que iniciamos e atingimos a competência da produção em larga escala e a qualidade dos processos produtivos.

Referências

JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009.

FALCONI, VICENTE. **Gerenciamento da rotina do dia a dia**. Nova lima –MG, 9º Ed., 2013.

BV3 - Prospecção de antioxidantes em sementes de castanheira (*Bertholletia excelsa* Bonp.) (*Lecythidaceae*)

Resumo do trabalho

Antioxidantes são substâncias que retardam o aparecimento de alteração oxidativa evitando a formação de produtos secundários potencialmente tóxicos que deterioram produtos, decaindo sua qualidade, bem como previne de doenças crônicas degenerativas, doenças cardiológicas, cânceres, estresse oxidativo, envelhecimento entre tantos outros problemas de saúde. Esses compostos possuem uma importância significativa em diversos setores industriais, em especial na fabricação de alimentos e fármacos, podendo ser classificados como antioxidantes sintéticos ou naturais. Estudos recentes com extratos de sementes relatam seu alto potencial antioxidante, geralmente correlacionado à presença de compostos fenólicos, como flavonoides e taninos. Segundo a literatura, extratos orgânicos polares de várias sementes possuem atividade antioxidante, sendo citadas como fontes alternativas de antioxidantes naturais. A Amazônia brasileira apresenta várias espécies vegetais com potencial promissor para utilização no mercado biotecnológico, a exemplo da castanheira (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) pertencente à família Lecythidaceae, que possui ampla distribuição geográfica em estados da região Norte e em países vizinhos. A partir das suas sementes são obtidos vários produtos e subprodutos, a exemplo das amêndoas que são consumidas ao natural, ou aproveitadas na produção de óleos, leite, farinha de castanha. Contudo, apesar do aproveitamento econômico desta espécie, são raros os estudos que investigam as substâncias antioxidantes presentes em suas sementes, podendo ainda haver potencialidades de aplicação em outros setores comerciais, como na formulação de produtos cosméticos e farmacêuticos, que podem gerar outras aplicações para este fruto, agregando um maior valor comercial. Obtiveram-se as sementes da castanheira por doação de uma empresa de beneficiamento, provendo-as de diferentes regiões geográficas do Norte do país. Foram mensurados comprimento e largura de 50 sementes de três regiões e suas amêndoas com auxílio de um paquímetro Digital Caliper Within 300mm com precisão de 0005"/0,01mm e a massa foi mensurada com auxílio de balança analítica. Todas as amostras foram secadas em estufas com temperatura menor que 40°C durante 48 horas. Todas as castanhas secas e trituradas foram moídas até que atingissem uma granulometria suficiente para as extrações. As frações polares foram obtidas a partir de 10 g de amêndoas trituradas na qual foram extraídas por aparato soxhlet, a frio e extração automática ASE utilizando-se metanol, etanol e acetona como solventes em cada extração, onde todos os extratos foram concentrados por rota evaporação. Realizou-se o ensaio de *screening* fitoquímico se utilizando de padrões específicos para alcalóides, cumarinas, flavonoides e taninos aplicados em placas de camada delgada e revelando ausência ou presença através de luz ultravioleta. Alíquotas dos extratos polares também foram preparadas para serem analisadas por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas, sendo injetadas e analisadas no ACQUITY UPLC H-Class acoplado com ACQUITY SQ Detector 2 (Waters). Por essa razão esse trabalho teve como objetivo analisar os compostos antioxidantes presentes em extratos polares nas sementes da castanheira avaliando seu potencial para aplicação biotecnológica.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

Obteve-se como resultado da morfometria para o comprimento e a largura das sementes e das suas respectivas amêndoas os valores expressos na tabela 1. O peso médio para as amêndoas secas foi de 2,9390 g.

Tabela 1: Morfometria da castanheira (mm)

| <i>Bertholletia excelsa</i> | Comprimento | Largura |
|-----------------------------|--------------|--------------|
| Semente | 37,90 ± 3,29 | 23,77 ± 1,69 |
| Amêndoa | 29,70 ± 2,74 | 14,04 ± 1,34 |

Tais resultados diferem dos que foram obtidos por Ferreira *et al* (2006) no qual obtiveram dados para a amêndoa de respectivamente 27,77 ± 1,96 mm para altura e 21,53 ± 1,85 mm para a largura com peso médio de 5,630 ± 0,86 g para as amêndoas. Essas diferenças relativas ao peso médio das amêndoas pode ter sido gerada devido a diferença no tratamento que as amostras receberam, pois Ferreira e colaboradores (2006) lavaram-nas em água corrente e deixaram que secassem ao ambiente, fazendo assim com que retenham maior índice de água. Já colocando-as em ambiente controlado, como na estufa com temperatura constante abaixo de 40°C por 48 horas ininterruptas, permite que o índice de água diminua significativamente. Já as diferenças relativas ao comprimento e a largura, podem ter sido geradas devido a maturidade dos frutos, sazonalidade, cuidados no cultivo, qualidade dos solos e época da colheita.

Para as 3 formas de extração, cada uma utilizando 3 diferentes solventes, os resultados obtidos foram expressos através da tabela 2.

Tabela 2: Rendimento para cada extração com cada solvente (%)

| | ASE | Frio | Soxhlet |
|---------|-------|-------|---------|
| Acetona | 54,38 | 48,19 | 64,05 |
| Etanol | 44,71 | 12,11 | 18,32 |
| Metanol | 4,68 | 1,90 | 2,46 |

Também foi observado que as extrações em soxhlet tinham uma fração oleosa considerável, a do etanol razoável e a do metanol irrisória. Tais resultados em conjunto com outros dados podem indicar qual a melhor metodologia e qual o melhor solvente para um determinado fim.

Outros autores como John & Shahidi (2010) obtiveram resultados similares para seus rendimentos onde o maior resultado foi para a solução de acetona 70% frente as soluções de etanol 80% e metanol 80%. Isso ocorre devido a diferença de polaridade desses solventes no qual a acetona possui um maior poder de “arraste” extraíndo, assim, vários tipos de compostos, o que foi corroborado pelo fato de haver frações oleosas nos extratos polares da castanheira.

Para o *screening* fitoquímico das extrações com cada solvente foram tabelas a seguir.

Tabela 3: *Screening* fitoquímico para teste de ausência (-) /presença (+) de compostos fenólicos antioxidantes em extratos polares de castanheira.

| | ASE | | | Frio | | | Soxhlet | | |
|-------------|---------|--------|---------|---------|--------|---------|---------|--------|---------|
| | Acetona | Etanol | Metanol | Acetona | Etanol | Metanol | Acetona | Etanol | Metanol |
| Cumarinas | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| Flavonoides | - | + | + | - | - | + | - | + | + |
| Taninos | - | - | + | - | - | + | - | - | + |
| Alcaloides | + | + | + | + | - | - | + | + | + |

Para a prospecção fitoquímica percebe-se que o metanol para as 3 extrações foi o que obteve maior presença de compostos fenólicos.

Já Campos *et al* (2014) e Bastos *et al* (2011) utilizando soluções hidroalcoólicas de etanol 70% obtiveram presença de taninos e flavonoides e apenas taninos respectivamente.

Apesar dos resultados se apresentarem diferentes, o que pode ter ocorrido devido a diferença entre as metodologias de extração, o ensaio de prospecção é de caráter qualitativo, no qual pode não representar a realidade. Provavelmente isso se sucedeu por causa da concentração de determinada classe de composto fenólico pode estar em níveis muito baixos os quais não reagem suficientemente para serem bem detectados, bem como há a possibilidade de haver interferentes. Sendo por essa razão uma análise mais aprofundada como as cromatografias líquidas modernos de alta performance.

Os resultados obtidos são preliminares sendo melhores concluídos com as análises de cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massa e atividade antioxidante, pois estes resultados demonstram se a diferença encontrada nas massas e na morfometria são diferenças significativas para a composição fenólica e sua atividade antioxidante. Além disso, também confirmam se o ensaio preliminar feito pelo *screening* fitoquímico é condizente com a realidade da composição das castanheiras.

Já com relação ao rendimento das extrações, do ponto de vista das metodologias, a que teve maiores índices extrativos foi a extração automática ASE. Apesar de que a metodologia por Soxhlet tenha maior porcentagem com a acetona, dependendo dos objetivos é a mais recomendada. Do ponto de vista dos solventes, o que teve maiores índices foi a acetona nas três metodologias extrativas, sendo a mais indicada de acordo com os objetivos a serem alcançados.

JOHN, Jenny A.; SHAHIDI, Fereidoon. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal of Functional Foods**, nº 2, pág. 196-209, 2010.

CAMPOS, I.; BATISTA, A.; SILVA, R.; BENTO, K.; GUIMARÃES, A. **Avaliação da prospecção fitoquímica e da atividade inibitória do caule de *bertholletia excelsa* bompl frente ao radical DPPH.** 54º CBQ, 2014. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2014/trabalhos/7/6332-19288.html>>.

FERREIRA, Ederlan de Souza; SILVEIRA, Catia da Silva; LUCIEN, Vitória Georgina; AMARAL, André Siqueira. Caracterização físico-química da amêndoa, torta e composição dos ácidos graxos majoritários do óleo bruto da castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K). **Alimentos e Nutrição**, Vol. 7 nº 2, pág. 203-208, 2006.

BASTOS, Marília Campos; COSTA, Anderson Luiz Pena da.; BARBOSA, Larissa Paula Jardim de Lima; FERREIRA, Flávio Henrique Barbosa. Análise qualitativa fitoquímica e atividade antimicrobiana no extrato bruto hidroalcoólico da casca de *bertholletia excelsa* Humb. & Bomp. (Lecytidaceae) frente a microrganismos gram-negativo. **Ciência Equatorial**, vol. 1, nº2, 2011.

BV4 - Avaliação de indicadores de produtividade de mudas micropropagadas desde estufas agrícolas até o seu desenvolvimento dentro de campos da região Nordeste

Resumo do trabalho

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar tendo grande importância para o agronegócio brasileiro e atualmente a cana-de-açúcar é considerada uma das grandes alternativas para o setor agrícola e de biocombustíveis devido ao grande potencial na produção de açúcar, etanol e aos respectivos subprodutos. O aumento da demanda

mundial por etanol torna o Brasil um país promissor (Conab, 2017).

Com as perspectivas para o crescimento dos mercados internos e externos da cana-de-açúcar, a principal estratégia para o aumento de produtividade é o desenvolvimento e a difusão de novas tecnologias a partir de variedades melhoradas, baseado na seleção e clonagem de genótipos superiores, buscando obter um material vegetal mais produtivo, com melhor desempenho agrônômico e tolerância a estresses bióticos e abióticos (SILVA et al., 2011).

O desenvolvimento e a difusão de novas tecnologias são essenciais para o crescimento da produção e o aumento da produtividade agrícola no Brasil. Estamos claramente vivendo uma importante revolução tecnológica, com a economia mundial sendo reconfigurada pelas novas tecnologias da informação e por mudanças fundamentais em campos como a biotecnologia.

A exemplo disso, a Biofábrica Governador Miguel Arraes do CETENE (Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste) desenvolve a tecnologia de cultura de tecidos e a principal competência é a micropropagação de mudas de cana-de-açúcar, na atualidade, contribuindo para o desenvolvimento da economia do Nordeste, disponibilizando a partir de pesquisas mudas micropropagadas economicamente viáveis, que possuem grande relevância no que diz respeito à produtividade.

Sua infraestrutura compreende uma área equivalente a 405 m², distribuídos em vários ambientes para o desenvolvimento das etapas do processo de produção e pesquisa em larga escala. Essas etapas da produção de mudas *in vitro* se completa com a aclimatização (adaptação *ex vitro*) das mudas em estufas agrícolas, localizadas dentro do campus MCTI e na expansão do plantio em campos agrícolas da região Nordeste.

A micropropagação *in vitro* é uma boa opção na produção de cana-de-açúcar em larga escala, pois são geneticamente idênticas à planta mãe adquiridas em um tempo relativamente curto em relação a propagação convencional, em condições assépticas e ambientais controladas. Após as plântulas de cana-de-açúcar serem micropropagadas *in vitro* elas são aclimatizadas em ambientes protegidos para obter uma adaptação das mudas na troca de ambiente e ao chegar no campo (FREITAS, 2010).

Para ter uma adaptação das mudas na troca de ambiente é necessário à aclimatização, pois como as mudas ao saírem do laboratório e irem para a fase de aclimatização elas se encontram inicialmente em uma situação que as plantas estão mais sensíveis às condições ambientais em questão de adaptação com luminosidade, temperatura, adubação, irrigações, reguladores de crescimento e substrato. Por isso, a criação de condições microclimáticas para a cultura nas estufas agrícolas, a fim de controlar a temperatura e radiação solar incidente no interior do ambiente protegido minimizando as mudanças abruptas no ambiente, que influenciam no crescimento e desenvolvimento das plantas, podendo ser obtida por meio de técnicas em que as mais econômicas são aquelas nas quais se empregam o uso de materiais de cobertura ou malha de sombreamento na aclimatização (GUISELINI et al., 2010).

São poucos os trabalhos que descrevem os procedimentos de aclimatização de mudas de cana-de-açúcar e transplantio em campo (GUISELINI et al., 2013), principalmente nas condições em larga escala (MEYER et al., 2009).

A disponibilidade de dados sistemáticos e a capacidade de melhorarmos as informações

técnicas disponíveis de determinada cultura, a partir de avaliação de indicadores de produtividades de mudas micropropagadas relacionando com o conhecimento do ciclo da cultura e dos padrões de crescimento e desenvolvimento desde estufas agrícolas até o seu desenvolvimento em campos da região Nordeste é importante para melhor manejá-la, pois se sabe que toda e qualquer produção vegetal que tenha em vista a máxima produtividade econômica, fundamenta-se na interação de três fatores: a planta, o ambiente de produção e o manejo.

Dentro da dinâmica atual do mercado, se tratando do setor agrícola, o Nordeste detém uma vasta variedade de culturas de importância socioeconômica. De acordo com isso, a Biofábrica do CETENE investe no desenvolvimento de protocolos de espécies vegetais, visando à obtenção de um material de alta qualidade fitossanitária e produtiva.

Dessa forma, a Biofábrica contribui para o desenvolvimento da economia do Nordeste, disponibilizando mudas micropropagadas de espécies vegetais viáveis economicamente, que possuem grande relevância no que diz respeito à produtividade.

São poucos os trabalhos que descrevem os procedimentos de aclimatização de mudas de cana-de-açúcar e transplantio em campo, sendo assim o intuito é disponibilizar em nível de pesquisa tecnologias de mudas micropropagadas a fim de implantar indicadores de performance voltados para aumento da produtividade da cultura vegetal.

Este trabalho de pesquisa tem por objetivo contribuir com o rendimento agrícola e industrial através de informações obtidas nos processos realizados na Biofábrica, com o intuito de pesquisa, para melhorarmos as informações e disponibilizá-las à sociedade com garantia e qualidade. Disponibilizando em nível de pesquisa tecnologias de mudas micropropagadas a fim de desenvolver modelos e implantar indicadores de performance voltados para aumento de produtividade da cultura vegetal.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

A aclimatização de mudas de cana-de-açúcar requer um manejo adequado e planejamento eficiente e criterioso, a começar pela utilização de materiais e ferramentas agrícolas nas devidas operações padrões em cultivo protegido.

Durante o período de abril de 2016 até o presente momento, venho supervisionando as atividades para aclimatização das mudas de cana-de-açúcar para a demanda de pesquisa técnica científica entre o CETENE com a Usina Trapiche-PE e Usina Serra Grande-AL desenvolvidas dentro das estufas agrícolas e em campo.

Para a obtenção de mudas de cana-de-açúcar durante a aclimatização em ambiente protegido adota-se um controle dos materiais utilizados (bandejas, tubetes, substrato, tesoura de poda, carro de mão, sistema de irrigação, etc.) nos tratamentos culturais realizados nas estufas agrícolas; tais como plantio, poda, adubação, irrigação, manejo, repicagem de mudas e retirada das mudas para entrega de demanda, na qual cada material utilizado para determinado procedimento é devidamente descrito como é feito a sua utilização no procedimento operacional padrão de cada atividade com o intuito de otimizar o processo.

Durante cada procedimento operacional padrão do plantio das mudas micropropagadas de cana-de-açúcar dentro de estufas agrícolas teve o acompanhamento da utilização dos materiais agrícolas específicos (substrato, bandeja, tubete, EPI, carro de mão, sistema de irrigação, etc).



Figura 1: Plantio das mudas de cana-de-açúcar micropropagadas, com utilização dos devidos materiais.

Cada plantio é contabilizado o número de mudas plantadas de cada lote e colocado em um banco de dados que viabiliza o gerenciamento e planejamento durante a pesquisa e demanda, que servem para compreender quantitativamente e qualitativamente determinado procedimento específico que otimiza o processo de micropropagação em larga escala na aclimatização em cultivo protegido.

Após o plantio o manejo agrícola e tratos culturais das mudas micropropagadas de cana-de-açúcar aclimatizadas em cultivo protegido, foi feito a supervisão das atividades desenvolvidas dentro das estufas demonstrados abaixo:

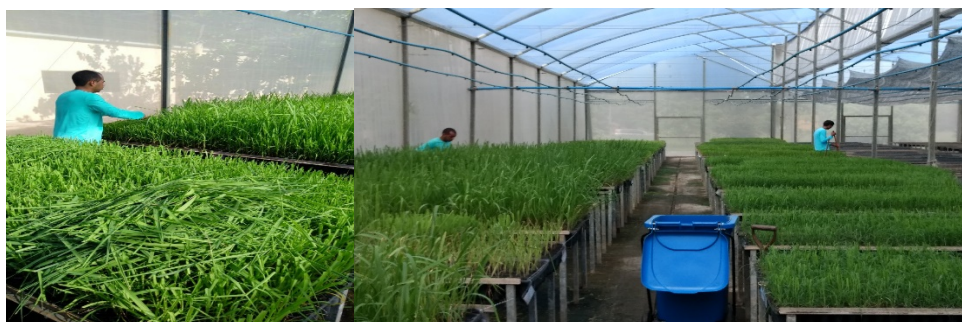


Figura 2: Poda das mudas e limpeza da estufa agrícola.

A adubação é planejada e aplicada para o maior desenvolvimento das mudas aclimatizadas dentro da estufa agrícola, com o intuito de minimizar o tempo de aclimatização de cada variedade de cana-de-açúcar. Cada aplicação de adubação é determinada a partir do procedimento operacional padrão elaborado para otimizar o manejo em cultivo protegido e o desenvolvimento fisiológico das mudas, bem como na aplicação de defensivos agrícolas para prevenção e manter a qualidade das mudas saudáveis. Outro procedimento operacional padrão para a aclimatização de mudas em ambiente protegido é a irrigação automatizada distribuindo a quantidade de lâmina de irrigação em 4 estágios, em relação a temperatura do ambiente e a localização das mudas estando em área de sombrite nos períodos iniciais ou fora do sombrite apenas em plástico filme conforme a Figura 2.



Figura 2: Aplicação de adubação e irrigação das mudas.

Para maximizar o plantel de mudas de cana-de-açúcar dentro da estufa agrícola durante a aclimatização é feito a repicagem de mudas (Figura 3), onde tem o objetivo de aumentar a produção e determinar a taxa de multiplicação de cada variedade aclimatizada, na qual de um tubete que contém a muda pode gerar de 2 a 5 mudas.



Figura 3: Repicagem de mudas micropropagadas

Supervisionei as atividades gerais realizadas nas estufas agrícolas, com o objetivo de manter uma melhor adequação para o cultivo protegido de cana-de-açúcar micropropagada e aos processos essenciais de atividades rotineiras. Após as mudas micropropagadas de cana-de-açúcar estarem aclimatizadas e prontas para ir a campo é feito a retirada das mudas dos tubetes onde é registrado a quantidade e o tempo de cada variedade durante a aclimatização para o projeto de pesquisa técnico científico, e com o intuito de possibilitar e otimizar o processo de demanda através do banco de dados.

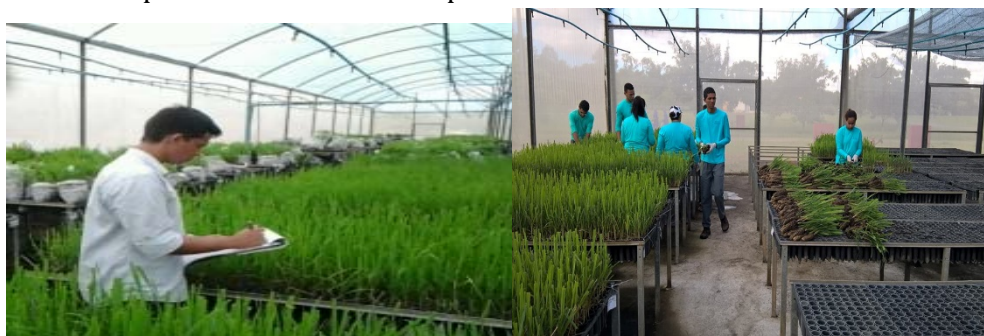


Figura 4: Fazendo a supervisão das mudas e entrega das mudas aclimatizadas.

Durante o processo de aclimatização das variedades de mudas micropropagadas de cana-de-açúcar foi determinado a sua adaptação em cultivo protegido avaliando a partir da biometria, para analisar a diferença de desenvolvimento fisiológico entre algumas variedades de mudas aclimatizadas.

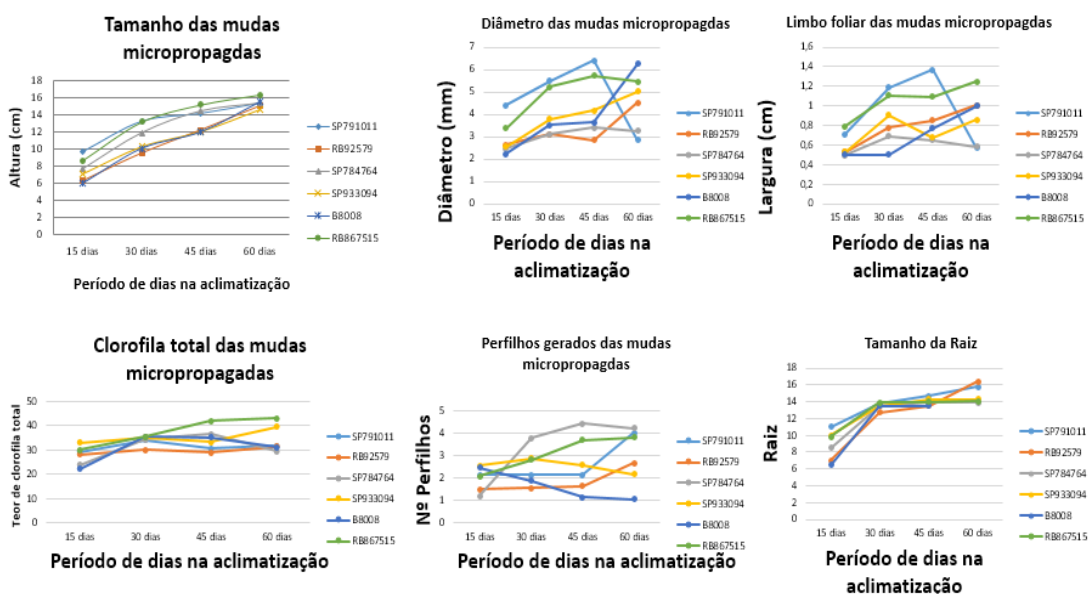


Gráfico 1: Biometria das mudas aclimatizadas em ambiente protegido.

Ao final do período de avaliação, verificou-se que das seis variedades a RB867515, SP791011 e SP784764 tiveram rápido crescimento fisiológico e aclimação, já a B8008 teve adaptação média e as variedades RB92579 e SP933094 tardia. Espera-se que esses parâmetros possibilitem elaborar estratégias operacionais para otimização do desenvolvimento fisiológico das mudas em estufas agrícolas.

Após as mudas de cana micropropagada irem para plantio em campo foi analisado a sua Biometria e rendimento de produtividade agrícola em mesmo ambiente edafoclimático. Conseguindo maior índice de produtividade de cana planta para a variedade RB 86-3129 micropropagada em relação à cultivada em sistema convencional (minirebolo) na Usina Serra Grande – AL, com 24 colmos/ha à mais e cerca de 10 ton/ha à mais de produtividade que as de propagação convencional. A partir do acompanhamento da colheita da socaria (2º corte) na Usina Serra Grande observou-se que as canas micropropagadas tiveram um incremento de produtividade superior que as testemunhas (convencional). A variedade RB933094 com 3,33 toneladas a mais que a testemunha, SP791011 com 6,66 toneladas a mais que a testemunha, RB863129 com 12 toneladas a mais que a testemunha. Já na segunda demanda 2015-2016 a variedade RB92579 teve 123, 66t/ha na cana planta e 156,66 t/ha na socaria com 6,6 ton a mais que a testemunha, já a variedade SP784764 teve uma produtividade de 173,33 ton/ha obtendo 21,67 ton a mais que a testemunha.

Estamos à espera da colheita da socaria na Usina Trapiche para poder ter uma ideia de rendimento agrícola entre micropropagada e convencional, podendo a cana micropropagada chegar próximo a produtividade da convencional ou até superar como aconteceu na Usina Serra Grande.

As análises do experimento ainda estão em andamento, porém, com o acompanhamento de experimentos e o planejamento das atividades houve uma melhoria nos resultados desses processos, destacando-se maior desenvolvimento vegetativo e produtivo, viabilizando a multiplicação de cana-de-açúcar micropropagada em larga escala sob cultivo protegido direcionado para renovação de viveiros primários em campo a fim de garantir a melhor resposta em campo em termos de produtividade vegetal com toneladas

por hectare.

BV5 - Utilização da técnica de NanoPCR (*Nanomaterial-assisted Polymerase Chain Reaction*) para diagnose dos patógenos de cana-de-açúcar *Xanthomonas albilineans* e *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* em amostras puras e mistas

Resumo do trabalho

O cultivo da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) está sujeito ao ataque de diversos patógenos, entre eles estão: a bactéria *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, que é o agente causal do raquitismo-da-soqueira (RSD - "Ratoon Stunting Disease") e a *Xanthomonas albilineans*, causadora da escaldadura das folhas.

O RSD é considerado uma das mais importantes doenças da cultura de cana-de-açúcar por ter acarretado perdas de mais de dois bilhões de dólares nos últimos 30 anos somente no estado de São Paulo, além de estar presente em todas as regiões produtoras do país, de Pernambuco até o Paraná (URASHIMA et al., 2010). Já a escaldadura das folhas acomete diversas gramíneas, tais como bambu, sorgo selvagem e, especialmente, a cana-de-açúcar que é seu principal hospedeiro (MARTIN; WISNER, 1961). A infecção pela bactéria *X. albilineans* pode ocorrer de forma latente, de forma crônica ou aguda.

A infecção de cana-de-açúcar por *L. xyli* subsp. *xyli* e *X. albilineans* ocorre pelo uso de instrumentos de poda contaminados, ao passo que a disseminação das doenças para novas áreas ocorre exclusivamente pelo plantio de mudas infectadas pelas bactérias, já que atacam com predileção a cana-de-açúcar e não se conhece nenhum inseto vetor dos patógenos nem evidências de transmissão por sementes (URASHIMA et al., 2010).

A fim de evitar a disseminação destes patógenos no campo, a detecção de *L. xyli* subsp. *xyli* e *X. albilineans* no material a ser propagado é fundamental, e dentre os métodos mais confiáveis para tanto, destaca-se o uso da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (COOTE, 1990). A técnica de NanoPCR (*Nanomaterial-assisted Polymerase Chain Reaction*) consiste na adição de nanomateriais à reação de PCR, em especial nanopartículas metálicas e de óxidos metálicos, sendo capaz de gerar melhorias dramáticas na especificidade e na sensibilidade da reação de PCR, aumentando a confiabilidade do diagnóstico em sistema puro e misto, superando o problema de baixa sensibilidade que a técnica de diagnose molecular apresenta, e, por conseguinte, evitando a disseminação dos patógenos no campo.

O presente projeto tem então por objetivo atestar a robustez da técnica de PCR assistida por nanopartículas para detecção e diagnose de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* e *Xanthomonas albilineans* em amostras puras e mistas. Além disso, padronizar o modo de preparo das amostras de mudas de cana-de-açúcar micropropagadas para análise molecular, e avaliar se as condições fisiológicas das plantas determinadas pela condição de cultivo (*in vivo* e *in vitro*) podem interferir no nível de desenvolvimento dos patógenos propiciando sua detecção ou não.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

Até o momento foram obtidas amostras de cana-de-açúcar oriundas de cultura de tecido (micropropagação *in vitro*) (Figura 1A) de dois lotes (299 ANTI SP 79 1011 M193) e (299 ANTI SP 79 1011 LM 221 MS III), ambos cedidos pela Biofábrica Governador Miguel Arraes do CETENE. Também foram utilizadas amostras de plantas regeneradas a partir de

cultura de meristema apical multiplicadas no Laboratório de Pesquisas aplicadas à Biofábrica (LAPAB). Para fins de comparação e obtenção de controle positivo, foram obtidas amostras de plantas adultas do campo (Figura 1B), de duas variedades: 01 (RB 867515) e 02 (RB 92579), previamente conhecidas como susceptíveis ao RSD e à escaldadura das folhas (Figura 2).

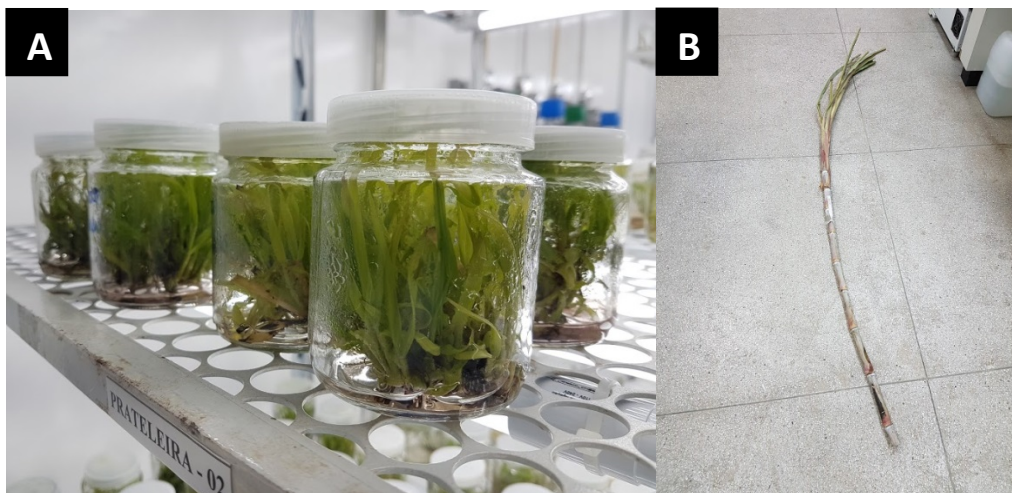


Figura 1 – Plântulas de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) multiplicadas *in vitro* (A) e exemplar de planta adulta obtida do campo (B).

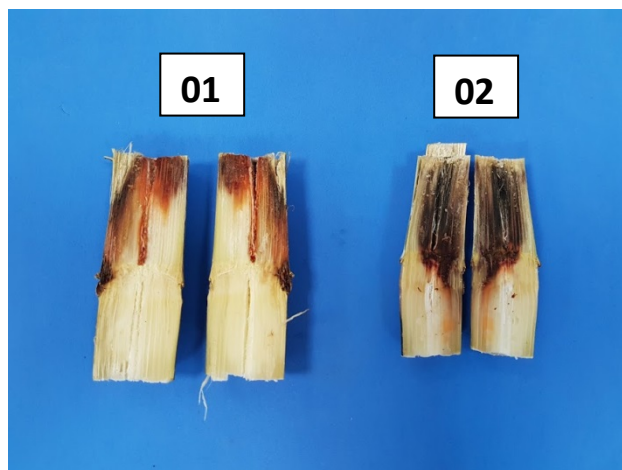


Figura 2 – Cortes longitudinais dos rebolos de região basal em plantas adultas das duas variedades coletadas, evidenciando os sintomas clínicos causados pelas bactérias.

Para extração do DNA, foram utilizados fragmentos das folhas obtidos com auxílio de bisturi estéril em câmara de fluxo e as amostras foram pesadas, até atingirem 100 mg para cada microtubo. Em seguida, o material foi congelado em nitrogênio líquido e macerado via Tissue Lyser (Qiagen®). As amostras foram submetidas à extração de DNA por meio do Kit Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega) e depois à corrida em gel de agarose a 1% para avaliação da qualidade do DNA extraído. Em seguida as amostras foram quantificadas por espectrofotometria em Nanodrop.

Os resultados preliminares indicam que com o método utilizado, o DNA total foi obtido em quantidade satisfatória e boa qualidade, como mostra os valores da razão 260/280, variando de 1,6 a 1,9 (Tabela 1). Também não foram observados sinais

significativos de degradação (Figura 3), indicando que o DNA está apto para ser utilizado nos experimentos de biologia molecular.

Tabela 1 – Quantificação do DNA total extraído das folhas de cana-de-açúcar.

| Amostra | Concentração de DNA (ng/μl) | Razão 260/280 |
|----------------|------------------------------------|----------------------|
| Lxx 1 | 624,8 | 1,76 |
| Lxx 2 | 496 | 1,9 |
| Xan 1 | 615,8 | 1,78 |
| Xan 2 | 539 | 1,88 |
| 01 A | 427,7 | 1,68 |
| 01 B | 667,4 | 1,69 |
| 01 C | 297 | 1,67 |
| 01 D | 492,7 | 1,78 |
| 02 A | 405,4 | 1,7 |
| 02 B | 855,9 | 1,66 |
| 02 C | 551,1 | 1,8 |
| 02 D | 450,8 | 1,66 |

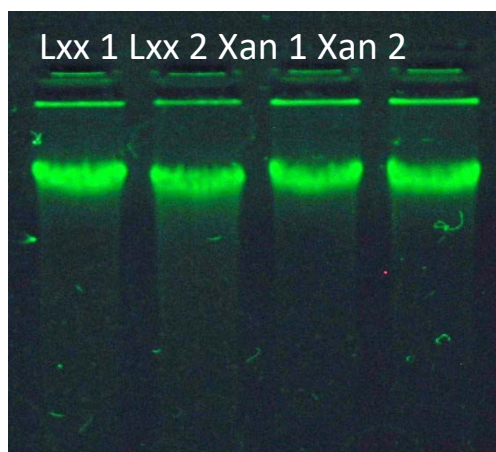


Figura 3 – Foto representativa de eletroforese em gel de agarose a 1% de algumas amostras de DNA total extraído do material vegetal.

Quanto à identificação dos patógenos, estão sendo utilizados *primers* específicos para genes constitutivos de *Lxx* e *X. albilineans*. Após cada ensaio de reação de PCR, os amplicons foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2%, e visualizados com o auxílio de transiluminador com luz ultravioleta. Os amplicons gerados foram visualizados na forma de bandas e foram consideradas positivas as amostras que apresentam fragmento correspondente a 182 pb e 350 pb (para *L. xyli* subsp. *xyli* e *X. albilineans*, respectivamente), utilizando como comparação um marcador de peso molecular de 100 pb.

Os resultados até o momento mostram que a diagnose molecular de *Lxx* e *X. albilineans* por PCR convencional é um método eficiente (Figura 4), porém bastante sensível à qualidade e concentração da amostra. Um outro problema da técnica quando se trabalha com patógenos endofíticos é a contaminação do DNA bacteriano com o DNA vegetal durante o processo de extração, que muitas vezes leva a uma estimativa equivocada da quantificação do DNA alvo, resultando na amplificação de fragmentos inespecíficos no gel

de agarose (Figura 5). Apesar disso, a inclusão das nanopartículas metálicas de ouro (AuNP) e dióxido de titânio (TiO₂NP) na reação, ainda a serem testadas, têm o potencial de aumentar consideravelmente a sensibilidade e especificidade do teste de diagnose.

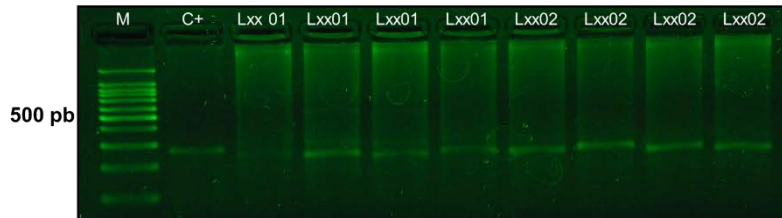


Figura 4 – Foto de eletroforese em gel de agarose mostrando a amplificação de fragmento correspondente ao DNA de *Lxx*.

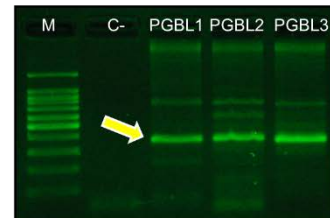


Figura 5 – Foto representativa da diagnose molecular de *X. albilineans*. A seta indica a localização do fragmento de tamanho esperado.

Para isolamento de *Lxx* e *X. albilineans* em laboratório (Figura 6), foi utilizado o fluido vascular obtido por extração mecânica de rebolos das duas variedades de cana-de-açúcar comprovadamente doentes. O semeio foi realizado em câmara de fluxo, utilizando o fluido vascular puro e também diluído (10^{-1} a 10^{-5}) em solução salina a 0,9%. Também foi realizada a técnica de “tissue print”, que consiste em “carimbar” uma das extremidades do rebolo diretamente no meio de cultura sólido. Após o semeio, as placas foram encubadas a 28°C até a observação de crescimento de colônias bacterianas características.

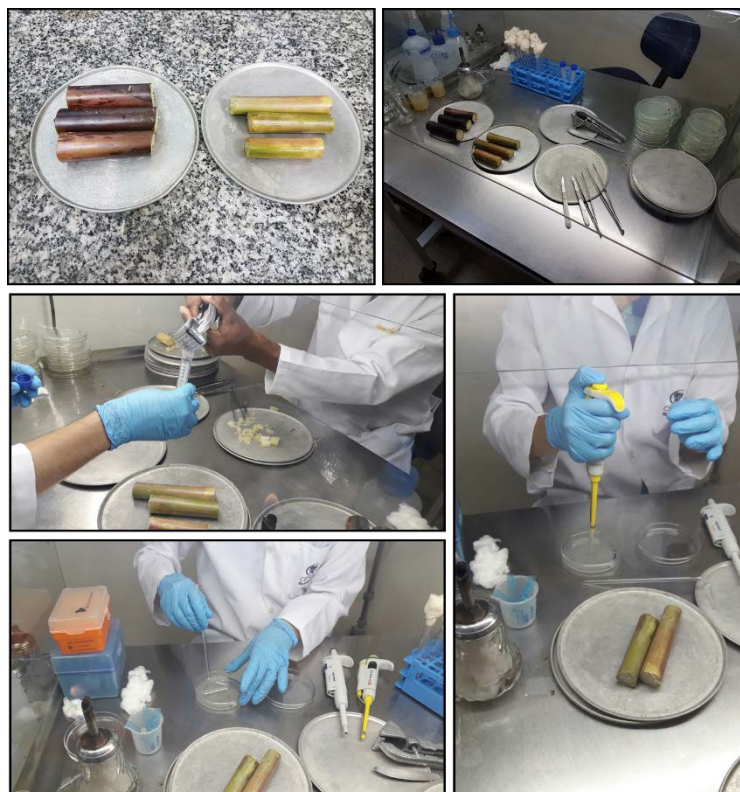


Figura 6 – Processos utilizados para isolamento de *Lxx* e *X. albilineans* em laboratório.

Apesar da grande dificuldade na padronização de um meio de cultura adequado à natureza fastidiosa dos microrganismos endofíticos, principalmente *Lxx*, cujo crescimento

é bastante retardado e sensível à luz, temperatura e complexidade do meio, já foi possível obter alguns resultados promissores. Após 48h de crescimento em meio Waksman (Waksman, 1961), composto por 10g de glicose, 5g de peptona, 1g de fosfato de potássio dihidratado, 0,5g de sulfeto de magnésio e 15g de ágar bacteriológico para 1L de água destilada, foi possível observar colônias circulares, de coloração esbranquiçada, bordas lisas e aspecto mucóide (Figura 7), compatível com a morfologia das colônias de *Lxx* descrito por Contreras et al (2008) na Venezuela.

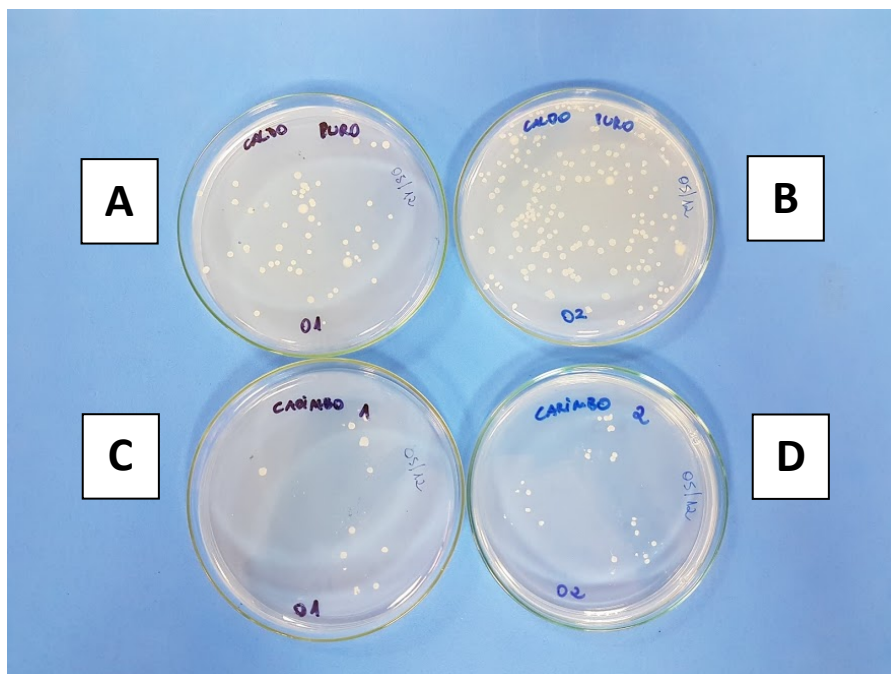


Figura 7 – Crescimento bacteriano em meio Waksman após 48h do semeio de fluido vascular puro (A e B) e *tissue print* (C e D) das variedades 01 e 02.

Apesar disso, devido ao fato de *Lxx* ter um tempo de geração bastante alto, com início de crescimento que geralmente ultrapassa os 10 dias de incubação, é mais provável que as colônias que foram já observadas após 48h sejam de *X. albilineans* ou mesmo de outro gênero bacteriano. Testes microbiológicos, genômicos e proteômicos das colônias serão realizados posteriormente para fins de confirmação da identidade e também para direcionar quanto a necessidade de utilização de outros meios de cultura mais complexos e seletivos para crescimento de bactérias fastidiosas, particularmente de *Lxx*.

Por fim, espera-se após as etapas seguintes, determinar a real contribuição das nanopartículas metálicas na reação de PCR e que otimização na técnica de NanoPCR é capaz de tornar a detecção molecular mais sensível tanto em amostras de sistema puro (bactérias isoladas) quanto misto, onde o DNA bacteriano encontra-se misturado ao DNA vegetal.

BV6 – Micropropagação *in vitro* de *Guadua augustifolia* a partir de microestacas para produção massal de mudas

Resumo do trabalho

O Brasil se destaca quanto às potencialidades de exploração do bambu visto que: a) é o

país do Novo Mundo com maior diversidade de espécies (MANHÃES, 2008); b) contar com o mais alto índice de florestas endêmicas de bambu da América Latina e; c) incentivar o desenvolvimento da cultura por meio de ações governamentais e de empreendimentos privados através da Lei 12.484 de 2011 que instituiu a Política Nacional de Incentivo ao Manejo Sustentado e ao Cultivo do Bambu – PNMCB e a coloca como importante para o desenvolvimento econômico e social (GENEROSO, 2014). Segundo Souza (2010), dentre as 19 espécies de bambu citadas como prioritárias pelo *International Network for Bamboo and Rattan* (INBAR), *G. angustifolia* possui alto valor potencial para comercialização, indústria rural e regeneração ambiental, porém com alta necessidade de pesquisa sobre reprodução *in vitro*. O bambu pode ser multiplicado de forma sexuada e assexuada e, neste caso, a falta de métodos adequados constitui-se em um dos principais fatores limitantes para o estabelecimento de plantios em extensas áreas, visto que os tradicionais são trabalhosos, caros e de baixo rendimento e, neste sentido, as técnicas de propagação *in vitro* surgem como opção para a produção de mudas de bambu pois podem ser empregadas para a multiplicação de plantas difíceis de serem propagadas por outros métodos e possuem potencial para atender à demanda de material propagativo (GENEROSO, 2014). A microestaquia é um processo de produção de mudas via assexuada, no qual o material vegetativo utilizado como propágulos são microestacas (2-3 cm de tamanho) provenientes de mudas obtidas a partir de micropropagação e cultivadas de forma intensiva. A associação entre micropropagação *in vitro* e microestaquia é citada como viável em acelerar a produção de mudas, pois a micropropagação é uma técnica eficiente na reversão à juvenilidade (processo de recuperação da competência da totipotência) e a partir da microestaquia é possível utilizar propágulos homogêneos fisiológica e morfológicamente. A referida associação, em *Eucalyptus* L'Héritier de Brutelle, é citada como viável na produção de material propagativo, por ter apresentado maior velocidade e facilidade no enraizamento e formação de mudas com maior vigor vegetativo (XAVIER; COMÉRIO, 1996; TITON et al., 2002), no entanto, não se dispõe de dados publicados quanto à viabilidade de emprego das citadas técnicas na produção de mudas de bambu. Diante deste cenário, pesquisas para geração de tecnologias que contribuam para o estabelecimento de uma cadeia produtiva de bambu ao nível nacional têm a condução justificada por serem de grande valia para a economia. Os resultados iniciais obtidos antes mesmo do início da aprovação do presente projeto, abril de 2017, durante a condução das atividades pertinentes a um projeto de pesquisa do Programa de Capacitação Institucional do CETENE, conduzido pelo autor do relatório ora apresentado (de agosto de 2014 a agosto de 2017) assim como aqueles obtidos a partir da aprovação do projeto e da bolsa (abril e setembro de 2017 respectivamente) são promissores tendo em vista ter-se determinado: a) o tipo de explante quanto ao número de gemas a ser introduzido *in vitro*; b) a concentração de hipoclorito de sódio a ser utilizada na desinfestação de explantes e; c) os fitorreguladores e respectivas concentrações a serem suplementadas em meios de introdução, estabelecimento e multiplicação, o que propiciou o estabelecimento de explantes e multiplicação de clusters de *G. angustifolia in vitro*. Tais resultados têm contribuído para o atingimento paulatino do objetivo do projeto que é o desenvolvimento de protocolos de micropropagação *in vitro*, visando a produção massal de mudas da espécie de bambu em questão.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

Os resultados serão descritos seguindo a ordem de atividades do cronograma.

1-Definição do fungicida a utilizar nas fases de Introdução e Estabelecimento

As avaliações de fungicidas foram iniciadas a partir de abril, quando da aprovação do projeto, e se fundamentaram na identificação dos gêneros de fungos que se expressavam como contaminantes em introduções *in vitro* de explantes de *G. angustifolia* (63,2% *Alternaria*, 21% *Bipolaris*, 5,1% *Curvularia* e 10,5% *Fusarium*). Dois produtos foram selecionados a partir do sistema AGROFIT do Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento (MAPA): o Vitavax®-Thiram 200 SC e Nativo®, aprovados para controle de fungos pertencentes aos citados gêneros *in vivo*.

A avaliação dos fungicidas foi realizada no pré-tratamento dos explantes por imersão e deposição em MS (MURASHIGI; SKOOG, 1962) semissólido com contração total de sais a partir de três experimentos. O primeiro por imersão em solução de Carbomax 500 SC® (4 mL L⁻¹) por 1, 6, 24 e 30 h. O tratamento por imersão por 1 hora foi significativamente menor que os demais quanto a contaminação (20%) e com 85% de brotação. No segundo experimento, testou-se a imersão em solução de Carbomax 500 SC® (4 mL L⁻¹) ou Vitavax®-Thiram 200 SC (1,5; 3, 6 mL L⁻¹) por 1 hora, não havendo diferença significativa entre tratamentos quanto a contaminação (de 83 a 100%) e, no terceiro experimento testou-se a imersão em solução de Carbomax 500 SC® (4 mL L⁻¹) ou Nativo® (4 mL L⁻¹) por 1 6 e 24 h, não havendo diferença significativa entre tratamentos quanto a contaminação que variou de 70 a 90%.

Um experimento foi lançado suplementando-se o meio MS semissólido com Carbomax 500 SC® (2 mL L⁻¹) ou Vitavax®-Thiram 200 SC (1,5; 3, 6 mL L⁻¹) não havendo diferença significativa em relação à contaminação (de 83 a 100%). Dois experimentos também foram lançados testando-se no primeiro, manutenção dos explantes em meio MS líquido por sete dias suplementado com Carbomax 500 SC® ou Vitavax®-Thiram 200 SC nas mesmas concentrações do experimento anterior e no segundo, manutenção dos explantes no mesmo meio suplementado com Carbomax 500 SC® ou Nativo® (2, 6 e 8 mL L⁻¹) não havendo diferença significativa entre tratamentos quanto a contaminação (de 20 a 85%).

Tais resultados demonstram que é necessário buscar uma forma de controle químico em meio de cultura, na fase de introdução, a partir de substâncias que suportem a temperatura de esterilização e com amplo espectro de ação sobre diferentes espécies fúngicas que com o clima característico de cada ano como também da estação do ano.

Avaliação para redução da contaminação fúngica também foi realizada a partir de três experimentos suplementando-se o meio MS semissólido com diferentes concentrações de quitosana (Sigma-Aldrich): no primeiro 0 mg L⁻¹ e 50 mg L⁻¹, no segundo 0, 50, 100, 150 e 300 mg L⁻¹ e no terceiro 0, 300, 400 e 500 mg L⁻¹. A análise dos resultados não detectou diferenças significativas ente os tratamentos quanto a contaminação fúngica de 73 a 93%, de 95 a 100%, e de 80 a 92% no primeiro, segundo e terceiro experimentos.

Os resultados obtidos demonstraram que o fungicida Carbomax 500 SC® no pré-tratamento e suplementado ao meio, dependendo da época do ano, confere nível de controle de contaminações conforme encontrado por Torres et al. (2016) e Torres e Lemos (2017). Em relação à quitosana, da forma com que foi testada, os resultados discordam daqueles encontrados por Thorat et al. (2016) que utilizando 50 mg L⁻¹ encontrou redução satisfatória nas contaminações que ocorreram na micropropagação *in vitro* de cana-de-açúcar.

2-Estabelecimento de protocolo para as fases de introdução, estabelecimento e enraizamento

Pré-tratamento – O protocolo consiste em: coleta de microestacas com três gemas, eliminação das folhas imersão em solução de Tween 20 por 30 min, enxágue em água destilada por 1 minuto, imersão em solução de Carbomax 500 SC® (4 mL L⁻¹) e Cloranfenicol (200 mg L⁻¹) por 1 hora e desinfestação em solução de hipoclorito de sódio a 0,6%. O referido protocolo fundamentou-se em experimento no qual testou-se explantes com duas ou três gemas submetidos ao pré-tratamento com Carbomax 500 SC® (4 mL L⁻¹) e desinfestados com solução de hipoclorito de sódio a 0,6% ou 1%. A partir dos resultados obtidos constatou-se contaminação fúngica variando de 0 a 40% em concordância com Torres et al. (2016) quanto a eficácia de Carbomax 500 SC® (4 mL L⁻¹) na redução das contaminações e, em relação ao número de gemas por explante e concentração de hipoclorito de sódio, não foram detectadas diferenças significativas em relação à brotação (de 48 a 60%). Resultados semelhantes, quanto a utilização de solução de hipoclorito de sódio, também foram obtidos por Anand et al. (2013), Jha, et al. (2013), Sharma e Sarma (2013), Wadaktar, et al. (2014).

Introdução – O protocolo de introdução consiste em: Deposição dos explantes com três gemas em meio de cultura MS semissólido com a concentração total de sais segundo Murashige e Skoog (1962), suplementado com 50 mg L⁻¹ de ácido cítrico e ácido ascórbico, 200 mg L⁻¹ de Cloranfenicol e 6,5 g L⁻¹ de ágar (Aldrich®) e sem fitorregulador. Os explantes ficarão no referido meio por 28 a 30 dias quando deverão ser selecionados os que se apresentarem livres de contaminação e brotados para deposição em meio de estabelecimento idêntico ao da introdução e suplementado com 0,5 mg L⁻¹ de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). O referido protocolo foi estabelecido a partir de experimentos que estavam em condução quando da aprovação do projeto e da bolsa.

O protocolo foi definido com base em experimento (experimento nº de ordem 26) conduzido visando definir a concentração de N⁶-benzilaminopurina (BAP) a ser acrescida ao meio (0; 1; 3 e 5 mg L⁻¹). Os explantes, aos 14 dias, não apresentaram diferenças significativas quanto à brotação (73 a 100%) nem em relação ao tamanho do maior broto (0,87 a 1,16 cm) no entanto, aos 45 dias, apenas os pertencentes aos tratamentos 0 e 1 mg L⁻¹ de BAP não apresentavam browning e sem diferença significativa quanto ao percentual de enraizados (67 e 17% respectivamente) e ao tamanho do maior broto (3,47 e 3,68 cm). Os explantes do tratamento de 3 mg L⁻¹ já apresentavam 33% de browning e aqueles do tratamento 5 mg L⁻¹ já haviam sido descartados por morte. Os resultados discordaram daqueles encontrados por Jiménez et al. (2006) que definiram a concentração de 3 mg L⁻¹ de BAP como adequada para introdução, estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *G. angustifolia*.

Os resultados de outro experimento (experimento nº de ordem 42) corroboraram aqueles encontrados no experimento 26. No caso do experimento 42, testou-se o efeito de concentrações de BAP (0; 0,5 e 1 mg L⁻¹) e de 2,4-D (0,5 mg L⁻¹) adicionadas ao meio de introdução sobre a brotação e desenvolvimento de clusters nas fases de estabelecimento e multiplicação. Catorze dias após a introdução os resultados confirmaram aqueles do experimento 26 pois não houve diferença significativa quanto a brotação (de 88 a 100%), nem em relação ao tamanho do maior broto (0,34 a 0,53 cm) e, aos 45 dias, o percentual de explantes enraizados também não diferiu significativamente (de 1,81 a 2,47%) como também o tamanho médio do maior broto (0,55 a 0,88 cm). Três outros experimentos foram conduzidos testando-se os mesmos tratamentos obtendo-se como média resultados semelhantes aos obtidos no experimento 42.

Estabelecimento e Enraizamento– O protocolo de estabelecimento consiste nas seguintes operações: transferência dos explantes brotados e sadios para frascos contendo 40 mL de meio MS semissólido idêntico ao meio de introdução diferindo apenas na suplementação com 0,5 mg L⁻¹ de 2,4-D; a cada 20 a 25 dias transferência dos explantes para novo meio até que os clusters atinjam número de brotos igual ou superior a seis e tamanho médio do maior broto maior ou igual a 6 cm para que seja iniciada a multiplicação por divisão das touceiras deixando-se cada uma com pelo menos três brotos. O protocolo fundamentou-se na continuidade de condução dos experimentos anteriormente citados (experimentos de número 26 e 42) nos quais, após 30 dias, os explantes sadios e brotados foram transferidos para o meio anteriormente descrito seguindo-se os procedimentos também descritos no protocolo. Os resultados obtidos na suplementação do meio de cultura de estabelecimento com 2,4-D estiveram de acordo e superaram aqueles obtidos por Lin e Chang (1998) na micropropagação de *Bambusa edulis* quando utilizaram o fitorregulador e obtiveram 15,4% de enraizamento pois, no experimento 26, o percentual de explantes enraizados aos 45 dias no tratamento correspondente à introdução de explantes em meio sem suplementação de BAP atingiu 67% e no experimento 42 atingiu 33%.

Os resultados do experimento 26 quanto aos tratamentos correspondentes à introdução dos explantes nos meios suplementados com 0 mg e 1 mg L⁻¹ de BAP foram semelhantes por não se ter detectado, a partir dos 45 dias até 200 dias após a introdução dos explantes *in vitro*, diferença significativa quanto ao número de raízes e brotos por cluster. As multiplicações nos experimentos 26 e 42 foram iniciadas aos 200 dias. Os resultados do experimento 42 corroboraram aqueles encontrados no experimento 26 uma vez que houve em todos os tratamentos aumento gradual do número médio de raízes e de brotos por cluster sem diferença significativa entre os tratamentos (Figura 1).

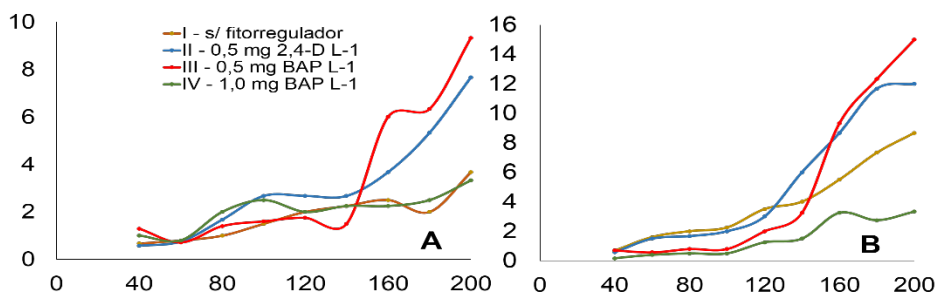


Figura 1 A) Média de brotos e B) de raízes por explante de *Guadua angustifolia* introduzidos em meio MS suplementado ou não com BAP ou 2,4-D durante a fase de

3- Estabelecimento de protocolo para a fase de multiplicação

O protocolo de multiplicação foi definido com base nas seguintes atividades: divisão dos clusters a partir do momento em que estes contiverem seis ou mais brotos e com tamanho médio do maior broto igual ou maior que 6,0 cm de forma que os clusters resultantes contenham no mínimo três brotos; a cada 20 a 25 dias realizar a transferência dos clusters de meio depositando-os em frascos com 40 mL de meio MS suplementado com 0,5 mgL⁻¹ de 2,4-D. As citadas operações do protocolo fundamentaram-se nos resultados obtidos nos experimentos 26 e 42 no quais as multiplicações foram iniciadas aos 200 e conduzidas até os 340 dias e aos 200 até os 260

dias respectivamente. A taxa média de multiplicação alcançada no experimento 26, no período descrito, para o tratamento correspondente ao meio de introdução sem fitorregulador foi igual a 1,2 e para o meio de introdução suplementado com 1,0 mg L⁻¹ de BAP igual a 1,3. Já no caso do experimento 42 a taxa média de multiplicação para os tratamentos correspondentes aos meios de introdução sem suplementação de fitorregulador e suplementado com 0,5 mg L⁻¹ de BAP e de 0,5 mg L⁻¹ de 2,4-D foram iguais a 1,5 enquanto que no tratamento em que o meio de introdução foi suplementado com 1, mg L⁻¹ de BAP foi igual a 1,1. As taxas de multiplicação alcançadas são menores que aquela registradas por Jiménez et al. (2006) igual a 2,5 para *G. angustifolia* no entanto os autores utilizaram frascos com dimensões maiores e quantidade de meio superior aos utilizados na condução do presente projeto além da duração de tempo superior (40 dias) ao tempo de condução de cada ciclo ora descrito (20 a 25 dias)

Durante os períodos de multiplicação em ambos os experimentos não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto às taxas de multiplicação, número médio de brotos e de raízes por cluster, como também no tamanho médio do maior broto. Tais resultados demonstraram que a suplementação do meio de introdução com as concentrações dos fitorreguladores descritos não interferiu nas fases de estabelecimento e introdução para aqueles tratamentos em que os explantes sobreviveram após a fase de introdução assim como também a suplementação do meio de estabelecimento com 0,5 mg L⁻¹ de 2,4-D e manutenção deste fitorregulador na concentração descrita como constituinte do meio de multiplicação garantiu a condução da fase com pela formação de raízes e brotos.

Dois experimentos (nº de ordem 37 e 38) nos quais foi testado o efeito das concentrações de BAP (0; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹) acrescentadas ao meio de forma isolada ou combinada a 0,5 mg L⁻¹ de 2,4-D sobre o desenvolvimento e multiplicação de clusters, foram iniciados antes e conduzidos até após as aprovações do projeto e bolsa. Nestes utilizou-se clusters obtidos a partir de explantes oriundos de ramos primários de *G. angustifolia*, mesmo material que após aclimatização foram obtidas as microestacas. Os resultados foram semelhantes aos obtidos nas fases de multiplicação dos experimentos 26 e 42 e confirmaram que o meio adequado para a fase de multiplicação é o MS suplementado com 0,5 mg L⁻¹ de 2,4-D. Os resultados foram publicados na forma de resumos expandidos e constam como produção científica no presente relatório. Dois outros experimentos estão sendo conduzidos para definir o estado físico do meio mais adequado para a fase de multiplicação e comparação do desenvolvimento de clusters obtidos a partir de explantes oriundos de microestacas e de ramos primários de *G. angustifolia* (experimento nº de ordem 46 e 63 respectivamente).

4- Estabelecimento de protocolo para a fase de aclimatização - conforme cronograma.

Conclusões

Os fungicidas Vitavax®-Thiram 200 SC e Nativo® comparados a Carbomax 500 SC®, nas concentrações testadas em pré-tratamento e suplementados ao meio de cultura de introdução não foram eficazes em reduzir as contaminações. A quitosana nas concentrações testadas também não foi eficaz. O meio de cultura de introdução não necessita de suplementação com fitorreguladores para que se obtenha brotação e desenvolvimento de brotos em explantes a conduzir na fase de estabelecimento cujo meio deve ser suplementado com 0,5 mg L⁻¹ de 2,4-D para formar raízes. O meio de multiplicação deve ser suplementado com a referida concentração do fitorregulador e as

multiplicações efetuadas de 20 a 25 dias quando os clusters apresentarem mais de seis brotos, com raízes abundantes e tamanho do maior broto igual ou superior a 7 cm. Os resultados alcançados até o momento são consistentes o suficiente para fundamentar a definição das atividades que compõem os protocolos das fases do processo de micropropagação *in vitro* de *G. angustifolia* a partir de microestacas.

BV7 – Otimização dos processos produtivos de mudas micropropagadas na Biofábrica Governador Miguel Arraes do CETENE, visando a melhoria dos indicadores de qualidade, desempenho e produtividade

Resumo do trabalho

Planejamento e programação diária dos processos produtivos, além de realizar o controle dos mesmos. Devido ao controle através de tabelas com datas e quantidade de potes foi possível melhorar a qualidade do processo produtivo, zerar repicagens atrasadas e minimizar as perdas de plantas por contaminação. Além disso, é possível entender mais sobre as particularidades na multiplicação de cada variedade micropropagada na demanda 2016-2017 na Biofábrica Governador Miguel Arraes do CETENE.

Para realizar um controle de estoque de materiais, foram feitas planilhas atualizadas diariamente tendo como principal intuito ter sempre o material essencial com um estoque mínimo pré determinado para que a produção não tenha que parar por falta de algum material.

Mapeamento das operações do processo produtivo através de ferramentas da gestão da qualidade, para mapear o processo é preciso passar por cada uma das etapas e conhecer os tempos e movimentos realizados em cada processo, a necessidade de pessoal dos processos e ainda a necessidade de material diário.

Implantação e avaliação do 5S para atingir um padrão de organização do trabalho, o intuito do programa 5S é deixar o ambiente de trabalho melhor para que todos os trabalhadores se sintam bem no momento em que realizam suas funções.

Utilizar ferramentas da produção no combate aos desperdícios, uma das ferramentas mais importantes da produção é a gestão por indicadores e outro é a gestão visual, a gestão por indicadores é importante para que haja um controle relativo ao nível atingido dos objetivos produtivos. A gestão visual é essencial para lembrar e deixar visível sempre o que deve ser feito e como deve ser feito.

Estudo de tempos e movimentos de cada processo tendo como intuito otimizar ao máximo os processos para obtenção de produtos de qualidade com menores perdas de tempo e deslocamento desnecessário.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

- Implantar o Programa 5S – Para a implantação do Programa 5S foi necessário realizar uma palestra para todos os funcionários da Biofábrica explicando o que é preciso fazer e o porquê de fazer algumas mudanças. Na Figura 01 é possível observar a arrumação de um armário do laboratório de controle de processos e produtos, tudo que não era necessário foi retirado do local para que posteriormente seja decidido o destino final de cada coisa. É possível perceber uma melhora visual

do espaço e nesse armário ainda pode-se colocar algo que seja importante para o laboratório.

Além do Laboratório de Controle de Processos e Produtos, a organização do espaço já foi realizada em outros ambientes dentro do laboratório de produção, como: sala de lavagem, sala de procedimentos e sala de meio de cultura. Nesses ambientes os terceirizados em conjunto com a pesquisadora responsável pela produção retiraram tudo que não era necessário no local de trabalho e reorganizaram os espaços com apenas o necessário.

O 1º S (senso de utilização) está sendo implantado em conjunto com o 2º S (senso de ordenação) os outros três sentidos devem ser implantados com mais uma palestra explicativa da importância dos mesmos e de manter as mudanças realizadas nos espaços para que haja uma harmonia maior dos ambientes. O 3º senso (senso de limpeza) e o 4º senso (de saúde) são muito importantes em um laboratório de produção onde é preciso manter todos os ambientes limpos e uma taxa de contaminação baixa.

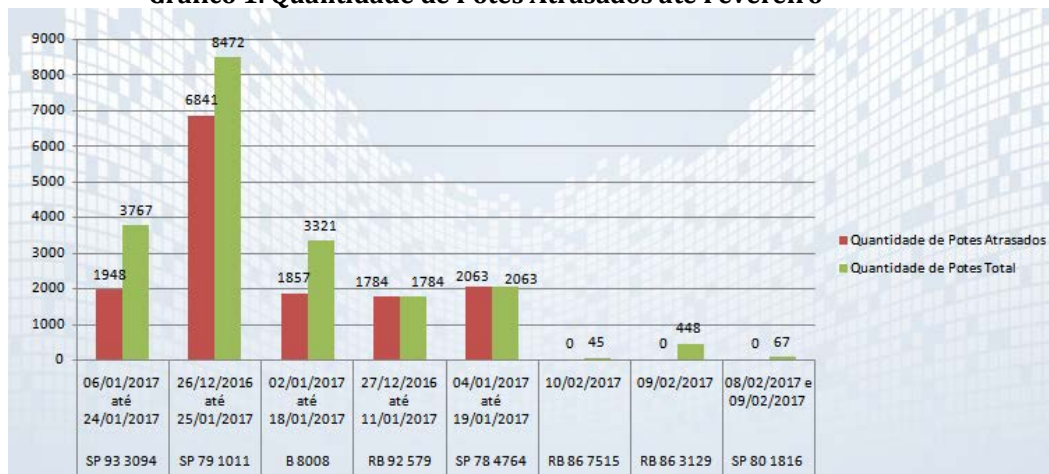


Figura 1. Bancada do Laboratório de Controle de Processos e Produtos antes e depois da arrumação e limpeza

- PDCA – O PDCA é utilizado para buscar a solução de problemas diários. Para solucionar o problema das repicagens atrasadas, foram feitas tabelas, gráficos e um planejamento de tarefas para que as plantas fossem repicadas o mais rápido possível sem sobrecarregar o trabalhador. Muitas plantas morreram devido ao tempo entre uma repicagem e outra. Em junho esse problema foi solucionado, não havia mais potes atrasados e foi possível ter um controle geral dos potes existentes na sala de crescimento através de tabelas. Desde esse período até o atual momento não existem potes com repicagem em atraso. As mortes por oxidação severa diminuíram e as plantas conseguiram se desenvolver melhor.

A ferramenta PDCA deve ser continuamente utilizada para qualquer problema por menor que seja para ter uma direção do melhor caminho a seguir. No final do PDCA existe a realimentação com informações aprendidas de um ciclo completo de planejar, fazer, checar e agir. No caso das repicagens atrasadas as informações aprendidas foram que o controle deve ser contínuo para que não haja atraso novamente, além disso, as introduções de cana de açúcar devem ser muito bem planejadas para que as datas de repicagens não coincidam fazendo assim que alguns lotes atrasem e isso gere uma bola de neve difícil de se dissolver.

Gráfico 1. Quantidade de Potes Atrasados até Fevereiro



No Gráfico 01 é possível verificar a quantidade de potes atrasados até fevereiro, ou seja, a maioria da produção estava atrasada nesse período, o que evidenciou a necessidade de utilização do PDCA na resolução desse problema.

- PPCP – Diariamente é feito o planejamento e controle da produção com o intuito de minimizar erros no processo. As informações apuradas são discutidas com a programadora da produção para que a mesma faça a programação diária de cada funcionário da Biofábrica. O controle deve ser contínuo para que o processo nunca pare por falta de material ou pessoas alocadas em funções desnecessárias. É de extrema importância uma comunicação eficaz entre programadora de produção e pesquisadora responsável pela produção, as duas funções se complementam.
- Otimização do Sistema de Imersão Temporária – foram realizados alguns experimentos com o Sistema de Imersão Temporária, primeiramente de forma qualitativa, para conhecer melhor o comportamento do sistema e também conhecer os parâmetros que influenciam o crescimento da planta. Conhecendo esses parâmetros é possível posteriormente realizar experimentos quantitativos com repetições para gerar protocolos de micropropagação em biorreator. Nos experimentos qualitativos, após a repicagem houve bastante contaminação (de 20 introduzidos apenas 8 não contaminaram) o que sugere maior controle na hora da repicagem ou no processo de transporte dos biorreatores até a sala de crescimento. Conhecendo o problema e sabendo como solucionar, é possível fazer o sistema funcionar em perfeitas condições o que leva a um incremento substancial na capacidade produtiva da Biofábrica.
- Procedimentos Operacionais Padrão – Foram revisados 07 POPs já existentes e elaborados 04 POPs novos em conjunto com os funcionários técnicos em micropropagação de vegetais. Estão em processo de elaboração 3 POPs novos, um deles é relativo a limpeza do recipiente de diesel do gerador, o outro do datalogger utilizado para fazer a leitura da temperatura nas salas de crescimento e o último diz respeito a programação do timer do sistema de imersão temporária.

O 5S está sendo implantados, os funcionários entenderam a necessidade de organizar o espaço e os benefícios do programa para a Biofábrica.

A utilização do PDCA deve ser contínua para atingir resultados cada vez melhores.

O planejamento e controle do processo são de extrema importância para evitar erros ou saber corrigi-los de forma rápida e eficaz.

Experimentos quantitativos devem ser realizados no sistema de imersão temporária para padronizar processos e alcançar o objetivo de utilização plena desse sistema.

Os procedimentos operacionais padrão são essenciais para o desenvolvimento de atividades padronizadas e com qualidade assegurada.

BV8 – Bioprospeção de leveduras oleaginosas industriais: fonte de biomassa alternativa com potencial na produção de biodiesel

Resumo do trabalho

A cada ano aumenta a demanda por combustíveis líquidos em todo mundo, fazendo com que haja um grande incentivo à pesquisa pelos governos tanto no âmbito industrial como no acadêmico, tendo como finalidade a busca de fontes de energias que sejam renováveis e economicamente viáveis. Os biocombustíveis gerados utilizando lipídios como matéria-prima (biodiesel) tem tido um grande destaque no cenário mundial atual como sendo a solução para esta crise de energia, visto que podem ser produzidos de diversas biomassas (ZINOVIEV et al., 2010; GIRIO et al., 2010, DABDOUB, BRONZEL et al., 2009)).

O Biodiesel, misturas de ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos, é produzido a partir de lipídios (gorduras ou óleos) adicionando álcool e um catalisador (alcalino, ácido ou enzimático) esta reação é chamada de transesterificação (SIGNORI et al., 2016). Esses lipídios podem ser extraídos de plantas, fungos, leveduras e microalgas (DABDOUB, BRONZEL et al., 2009, FRANCO et al., 2013, AMI et al., 2014).

Neste sentido, os lipídios provenientes de leveduras oleaginosas (possuindo mais de 20 % de lipídios na massa seca) poderiam atuar como fonte alternativa de matéria prima na produção de biodiesel. Assim é possível diminuir os custos e aumentar a competitividade econômica (CHUNKENG et al., 2011). Muitas vantagens estão envolvidas no uso de leveduras oleaginosas para a produção de lipídios, como a sua alta taxa crescimento em biorreatores, a capacidade de assimilar diversas fontes de carbono, e não ser afetadas por limitações de espaço, clima ou variações de luz (AMI et al., 2014). Entre as leveduras mais citadas na literatura como oleaginosas figuram as do gênero *Rhodotorula sp*, e da espécie *Yarrowia lipolytica* (CHEN et al., 2009; SIGNORI et al., 2016).

A produção de lipídios pode ser influenciada por fatores que vão desde a genética do microrganismo, composição do meio de cultura e até condições de crescimento como pH, temperatura, duração do crescimento, entre outros. Algumas espécies de leveduras podem acumular mais de 70% de lipídio em sua massa seca.

Hoje a produção de biodiesel tem aumentado nos últimos anos por se tratar de um combustível renovável, biodegradável e não tóxico. Durante o processo um dos principais subprodutos gerados é o glicerol bruto, resíduo que apresenta um alto teor de impurezas, e que devido ao excessivo custo, torna inviável a sua purificação para outros usos industriais. Vários estudos foram desenvolvidos diante da possibilidade de usar o glicerol bruto como fonte de carbono de leveduras oleaginosas para crescimento de biomassa microbiana (RAIMONDI et

al., 2014; YEN et al., 2015), como também observam-se alguns produtos tais como o ácido cítrico e lipídios (SOUZA et al., 2014; YEN et al., 2015).

O fato deste resíduo já está dentro da agroindústria minimiza os gastos com transporte e é uma adicional fonte econômica para o setor e para a sociedade. Por isso faz necessário à busca por leveduras oleaginosas que apresentem potencial de acúmulo de lipídios significativo utilizando este tipo de substrato.

Neste contexto, o principal objetivo deste trabalho é avaliar a capacidade das leveduras da espécie *Yarrowia lipolytica* isoladas dos laticínios da Bacia do Agreste-PE, de acumular lipídios apropriados para a produção de biodiesel, utilizando glicerol bruto como única fonte de carbono.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

Foi analisada a cinética de crescimento, e observou-se que todos os isolados de *Y. lipolytica* ensaiados foram capazes de assimilar e crescer empregando glicerol bruto como única fonte de carbono. A fase de crescimento exponencial foi atingida às 28 horas (O.D.=5-7), não apresentando diferenças significativas entre os isolados (Figura 1). Ao contrário do esperado para o glicerol bruto, e considerando a presença de possíveis inibidores do crescimento (por exemplo, traças do catalisador), apresentou-se como uma fonte de carbono adequada para a produção de biomassa celular.

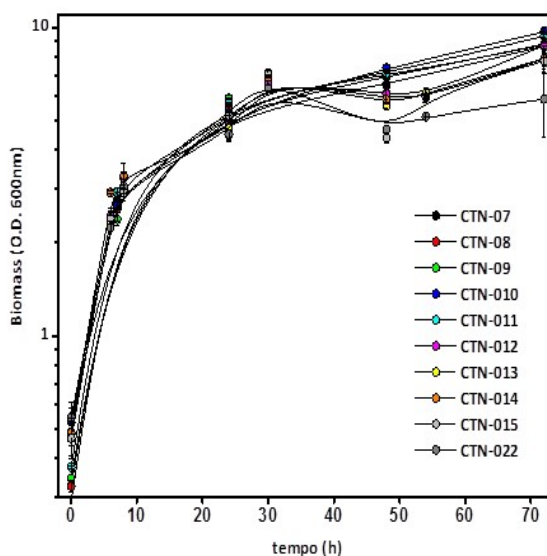


Figura 1. Cinética de crescimento de isolados de *Yarrowia lipolytica* em meio contendo glicerol bruto.

A partir das células obtidas após 72 h de crescimento, foi possível realizar a extração de lipídeos totais. A produção de lipídeos foi em média de $25 \pm 6,3 \text{ mg.g}^{-1}$ (lipídios/peso seco celular). Os isolados de *Yarrowia lipolytica* CTN-08 e CTN-13 destacaram-se na produção de lipídeos, atingindo um valor de 48% e 22% respectivamente por encima da meia ($37,73 \text{ mg.g}^{-1}$ e $33,35 \text{ mg.g}^{-1}$) (Figura 2a). Para determinar se existe uma relação positiva entre a biomassa celular e a produção de lipídeos foi realizada uma análise comparando estes parâmetros (Figura 2b). O estudo mostrou que a produção de lipídeos totais é diretamente proporcional a produção de biomassa ($r=0,916$).

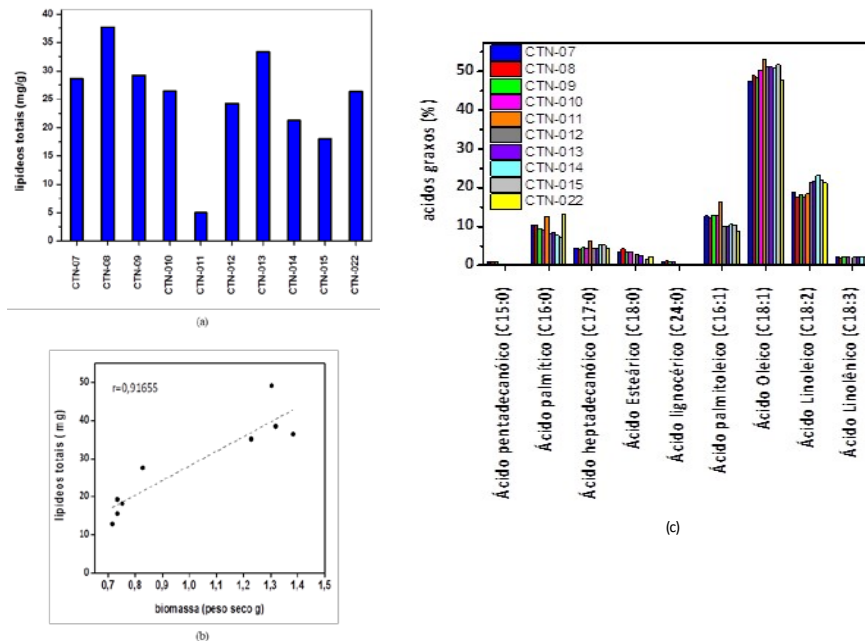


Figura 2. Produção de lipídios totais. a. Produção de lipídios totais (mg.g⁻¹), a partir dos dez isolados de *Yarrowia lipolytica*; b. Relação entre os lipídios totais (mg) e a biomassa (g). c. Perfil de ácidos graxos de *Yarrowia lipolytica*.

A composição de ácidos graxos, em percentual, resultou ser similar para todos os isolados de *Y. lipolytica*, destacando-se o ácido insaturado oléico (C18:1) com 50.1 ± 1.75 %, o ácido linoléico (C18:2) com 19.97 ± 1.97 % e o ácido palmitoléico (C16:1) 11.65 ± 2.07 % (Fig. 2c). Foi advertido que o perfil de ácidos graxos obtidos pelos isolados de *Y. lipolytica* resulta similar ao de óleos vegetais como o de soja, e adequado (percentual majoritário de C16-C18) ao recomendado para produção de biodiesel. Desta forma, foi observado que o perfil de ácidos graxos obtidos pelos isolados de *Y. lipolytica* resultam apropriados.

O gênero *Yarrowia* sp. é conhecido na literatura por pela sua capacidade de acumular lipídios (CHEN et al., 2009; SIGNORI et al., 2016). Este estudo comprovou que todos os isolados de *Yarrowia* sp. coletados nos laticínios da Bacia do Agreste-PE apresentaram potencial de crescimento e de acúmulo de lipídios utilizando o glicerol bruto como fonte de carbono.

Neste sentido, o glicerol bruto vem sendo estudado como fonte de carbono para o crescimento de biomassa microbiana, produção de biodiesel e outros compostos como o ácido cítrico (SOUZA et al., 2014; YEN et al., 2015). Porém o glicerol bruto apresenta possíveis inibidores do crescimento, como traças dos reagentes e do catalisador do processo de biodiesel (metanol e KOH), o que tem produzido inconvenientes, com rendimentos menores de crescimento celular ao glicerol purificado (SILVA, MACK & CONTIERO, 2009). Ao contrário do esperado, neste estudo foi possível indicar o glicerol bruto como uma fonte de carbono adequada para a produção de biomassa celular, com perspectivas de otimização do processo fermentativo. Possivelmente, tratando-se de uma usina experimental, o glicerol bruto é submetido à recuperação dos reagentes, resultando com um teor de contaminantes baixo.

Considerando que os isolados de *Y. lipolytica* foram coletados em um mesmo laticínios, e que a identificação por MALDI-TOF não permite discriminar entre linhagens de uma mesma espécie, resultou adequado avaliar se os isolados se tratam de uma ou várias linhagens diferentes. Para

determinar essa possibilidade, realizou-se uma análise proteômica multivariada (PCA e Cluster), empregando os perfis de proteínas obtidos.

A Figura 3a mostra a tendência de discriminação dos isolados em três grupos de *Y. lipolytica*. Foi observado um grupo de isolados (CTN-11/13/14/15) com pouca correlação entre eles, e com os isolados não-*Yarrowia lipolytica*, como CTN-01 Sc (*Saccharomyces cerevisiae*) e CTN-34 Ct (*Candida tropicalis*) (Grupo 1). Também se confirmou que os isolados CTN-07/10/12 (Grupo 2) apresentaram-se com alto nível de correlação entre eles, assim como os isolados CTN-08/09/22 (Grupo 3). Como consequência, os isolados do grupo 2 podem tratar-se de uma mesma linhagem, diferente dos isolados pertencentes ao grupo 3.

Para confirmar esse estudo comparativo, foi realizada uma análise de agrupamentos hierárquicos, com o propósito de revelar algum tipo de interação mais específica. A análise apresentou novamente os isolados CTN-07/10/12 e CTN-08/09/22 como fortemente correlacionadas entre si, respectivamente (Figura 3b). Desta maneira, podemos indicar a presença de dois grupos de isolados que poderiam ser considerados como duas linhagens de *Y. lipolytica* diferentes.

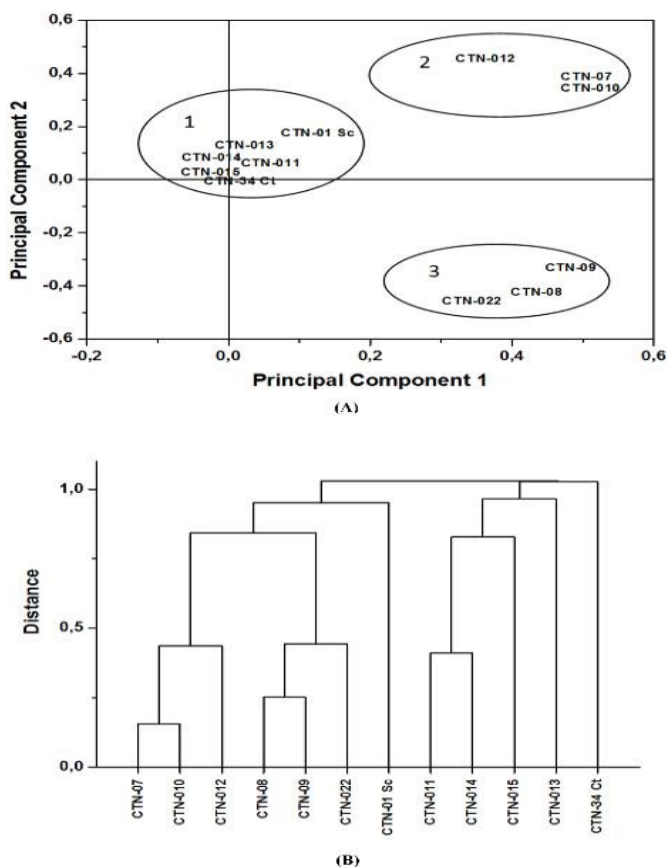


Figura 3. Análise multivariada. a. Análise de PCA; b. Análise hierárquica de agrupamento: dendrograma.

Visto que os isolados do gênero *Yarrowia* sp. apresentam curvas de crescimento e de percentuais de produção de ácidos graxos similares nas condições aqui avaliadas, não seria possível discriminá-los em linhagens. Essa similaridade, possivelmente devida às semelhanças fisiológicas, visto que trataram-se de um mesmo gênero taxonômico e terem sido isoladas em

um mesmo ambiente. Porém, a partir da análise multivariada do perfil proteico foi possível indicar que existem duas linhagens diferentes de *Y. lipolytica*. O perfil proteico apresenta per si, uma coleção maior de informação que os valores de percentual de ácidos graxos, tornado este análise bem mais robusto. Igualmente, seria necessário realizar análises complementares, como por exemplo, através de sistema de cromatografia acoplada à espectrometria de massa, para corroborar esta pressuposição.

Desta forma, os resultados obtidos neste estudo demonstram a potencial aplicação de um processo biotecnológico utilizando um resíduo industrial como o glicerol bruto, para a produção de biomassa na forma de leveduras. Essa resulta em uma alternativa às tradicionais, sendo uma estratégia sustentável para diminuir o acúmulo desse resíduo no meio ambiente, reduzindo os problemas de cunho ecológico, além de agregar valor ao setor. Além disso, ainda existem poucos estudos empregando glicerol residual, estimulando assim a abertura de campos de investigação nesta área de conhecimento no contexto da biorrefinaria. Este estudo representa o desenvolvimento de um processo altamente desejável para o aproveitamento do glicerol excedente no mercado.

Conclui-se que a indústria de laticínios apresenta-se como um local idôneo para a procura de leveduras oleaginosas. Os novos isolados de *Y. lipolytica* têm a capacidade de acumular lipídios empregando como única fonte de carbono glicerol bruto. Foi possível indicar que dos isolados obtidos existem duas linhagens de *Y. lipolytica* definidas. O isolado CTN-0008 foi considerado promissor, sugerindo sua utilização para otimização de condições e produção de lipídios totais a partir do glicerol bruto, para fins de produção de biodiesel.

BV9 - Análise de compostos fenólicos de interesse biotecnológico de uvas e derivados comercializados em Pernambuco como impressão digital

Resumo do trabalho

No início do século XX, foi introduzida vitivinicultura comercial nos Estados do Rio Grande do Sul e São Paulo e apenas a partir da década de 60, essa cultura passou a ser implantada com sucesso na região semiárida do Vale do Sub-Médio São Francisco, marcando o começo da viticultura tropical no Brasil. Essa expansão na produção deve ao fato das diferentes condições ambientais, variados sistemas de cultivo e uso de recursos genéticos, permitirem uma vasta oferta de produtos derivados da uva. Além do mais foi observada uma mudança no comportamento do consumidor, estimulado pela busca por uma alimentação saudável, demonstrando um aumento, especialmente, no consumo de suco de uva no mercado brasileiro. Motivado por esse crescimento no seguimento, houve uma expansão de mais de 100% na fabricação de suco de uva integral no Brasil nos últimos cinco anos. Nutricionalmente, esse produto é comparado com a própria uva, pois na sua composição estão todos os constituintes principais como: açúcares, minerais, ácidos, vitaminas e compostos fenólicos responsáveis por sua cor e sabor. O suco de uva apresenta vários benefícios terapêuticos como o aumento da imunidade e prevenção de doenças do coração e câncer. O presente trabalho teve por finalidade realizar análise dos compostos fenólicos presentes em sucos de uva comercializados em Pernambuco, das regiões de Bento Gonçalves-RS e Petrolina-PE. Criando assim uma identidade regional para identificação desses sucos através da utilização da metodologia que envolve a análise por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massa sequencial (LC-MS/MS).

Resultados e conclusões obtidos até o momento

No total foram detectados 264 compostos presentes nas amostras de suco de uva, onde foram identificados os tempos de retenção e massa exata, juntamente com as massas dos fragmentos gerados durante a análise. Sabe-se que muitos fatores podem influenciar na quantidade apresentada de compostos fenólicos no suco de uva, por exemplo, processo de produção e maturação das frutas. De acordo com a literatura, os principais polifenóis encontrados em sucos de uvas feitos de *Vitis vinifera* e *V. lambrusca* são catequina, epicatequina e dímeros de procianidina. Sabendo disso foram avaliados quais eram os compostos principais que se destacavam nas amostras de suco analisadas neste trabalho. A partir da identificação do tempo de retenção e massas dos 264 compostos, essas informações foram submetidas à Análise de Componentes Principais (ACP) para verificar se o perfil dos compostos encontrados nos sucos difere em relação às regiões de produção. A partir das análises de ACP verificou-se que as amostras de suco das regiões estudadas são diferentes entre si (Figura 1) uma vez que nas análises formaram dois grupos distintos.

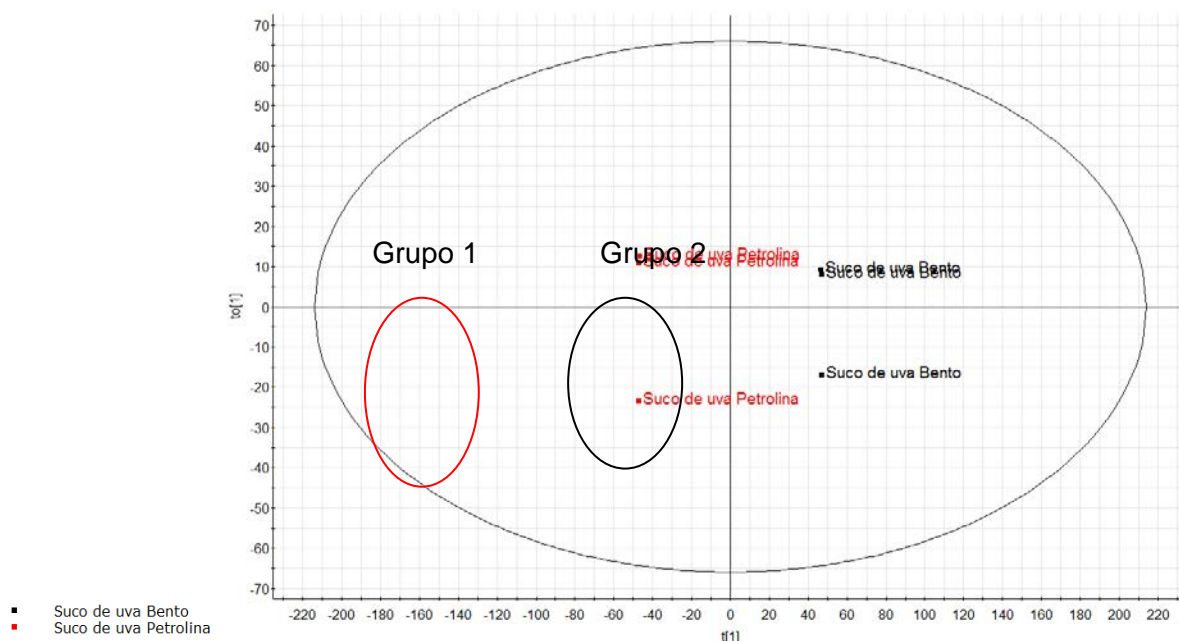


Figura 1: Análise de componentes principais das amostras de suco de uva. **Grupo 1** – suco fabricado em Petrolina; **Grupo 2** – suco fabricado em Bento Gonçalves.

Percebe-se que esses dois grupos foram formados devido à presença de alguns compostos que estavam presentes apenas em um dos sucos. Dos 264 compostos detectados, 20 foram mais relevantes para a distinção entre os grupos e estão evidenciados nas Figuras 2 e 3. Segundo MANACH e colaboradores (2004) a composição dos polifenóis nos alimentos pode variar com o tipo da uva, época de colheita, fatores do meio ambiente, processamento e armazenamento. Na Figura 2, é possível observar que os agrupamentos dos compostos identificados nas análises ficam em lados opostos do gráfico, que correspondem as duas regiões de produção dos sucos que ficam localizadas maneira oposta apresentando, uma viticultura com condições climáticas e geomorfológicas divergentes corroborando com estudos descritos na literatura.

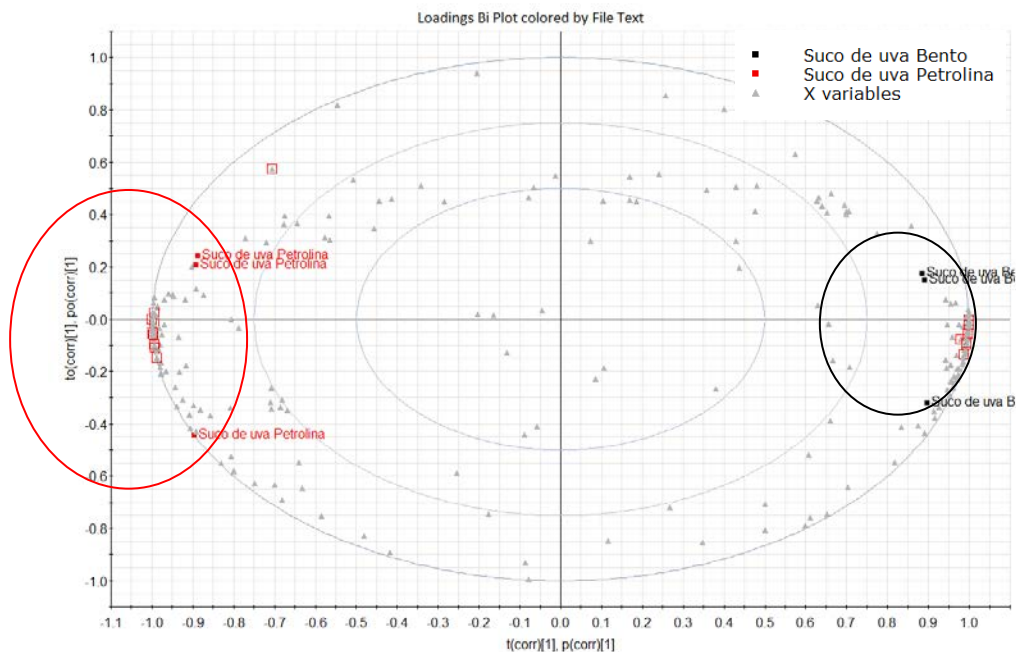


Figura 2: Análise de componentes principais das amostras de suco de uva, com distribuição dos compostos que diferenciam cada suco. Quanto mais distante do centro do gráfico, maior a diferença entre os sucos.

Aliado a essas particularidades, ainda foi possível destacar dentre os analitos identificados, vinte compostos que são fundamentais para a diferenciação dos sucos. Também, podem ser observadas na Figura 3 as moléculas que se agrupam mais próximo do centro do gráfico são semelhantes em relação à quantidade presente nos sucos. Entretanto os compostos que ficam mais distantes do centro da figura são os que mais se distinguem entre os sucos analisados, podendo ser considerados como fundamentais para a caracterização dos produtos e sua classificação em dois grupos. Compostos fenólicos do tipo flavonóides e não-flavonóides representam a maioria dos polifenóis nos vinhos e sucos vermelhos, sendo muito utilizados para diferenciação de produtos feitos com diferentes variedades de uva. Entretanto, há poucos estudos sobre a catequina como principal composto fenólico utilizado, por exemplo, para diferenciar os vinhos produzidos com diferentes clones de uvas da mesma variedade. Forveille *et al.* (1996) demonstrou que vinhos com uvas da mesma variedade apresentaram grandes concentrações de compostos fenólicos determinados por HPLC, dentre eles a antocianinas monoméricas, especialmente malvidin-3glicose e além do mais mostrou também uma alta atividade antioxidante. Após ser constatada a presença dos compostos que diferenciam as amostras estudadas, foi feita uma análise prévia da concentração e comparação entre esses produtos das diferentes regiões (Figura 4).

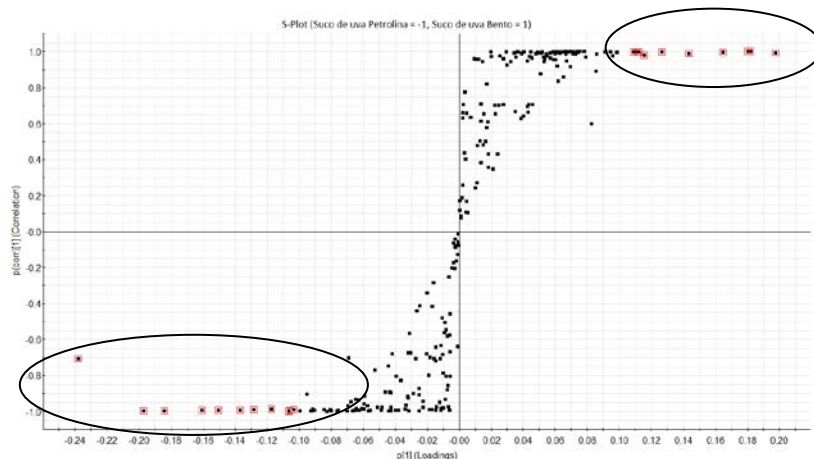


Figura 3: Agrupamento dos compostos dos sucos de uva. Os compostos em destaque são os mais relevantes na diferenciação dos sucos.

Na figura 4 revela que esses compostos apresentaram diferenças tanto em relação à quantidade em cada amostra como também quando comparados com a região de produção. Os compostos com massa 191.0194 e 290.0894, por exemplo, foram observados apenas no suco de uva de Petrolina, enquanto que a massa 577.1341 apenas no suco de Bento Gonçalves. Outras substâncias, no entanto, estiveram presentes em ambos os sucos, em quantidades diferentes. Os compostos com massa 195.0505; 289.0709; 289.0706; 366.1180; 577.1341; 623.0883 e 817.2177 estiveram presentes em maior quantidade no suco de uva de Bento Gonçalves enquanto que, os compostos de massa 164.0710; 163.0395; 191.0191; 290.00874; 307.0712; 325.0919; 475.1813; 461.1654; 481.0979 foram mais abundantes nos sucos de Petrolina. Acredita-se que essa diferenciação nesses fatores está relacionada à diversidade observada nas regiões.

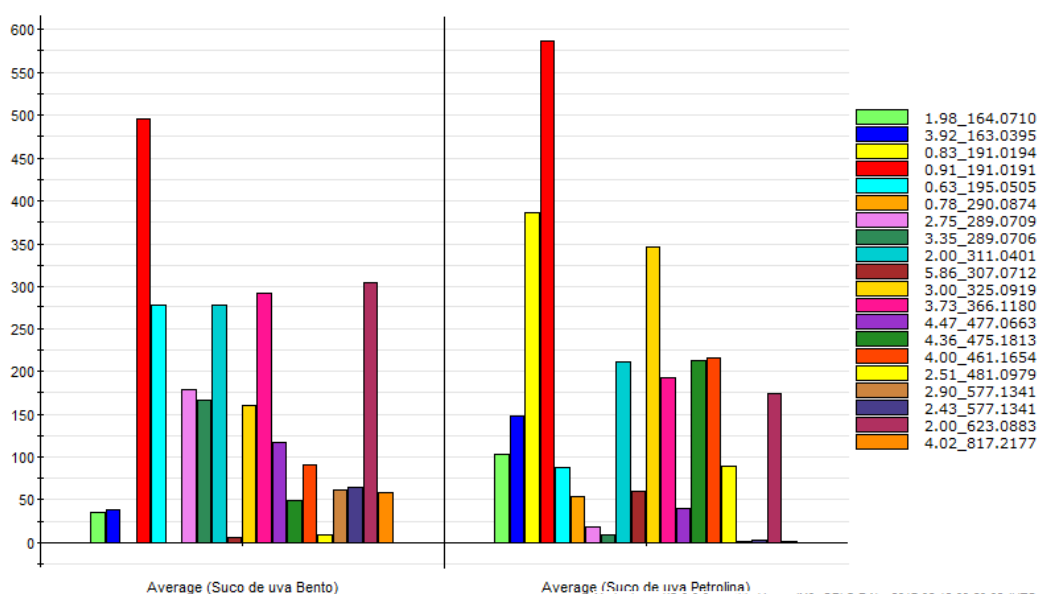


Figura 4: Representação dos 20 compostos que mais contribuíram na diferenciação dos sucos produzidos em Petrolina e em Bento Gonçalves.

Tabela 1: Compostos mais distintos entre os sucos de uva produzidos em Petrolina e Bento Gonçalves.

| Compound | Chemical formula | Phenolic Compound | | | |
|-----------------|------------------|------------------------|---------------|-------------------|-----------|
| | | Monoisotopic Mass (Da) | Fragment Mass | [M-H]- | Ret. Time |
| (+)-Catechin | C15H14O6 | 290,079041 | 203 | 289,0712 | 3,18 |
| Kaempferol | C15H10O6 | 286,047729 | 187,04 | 285,0399 | 6,58 |
| Quercetin | C15H10O7 | 302,042664 | 151 | 301,0348 | 6,03 |
| Rutin | C27H30O16 | 610,153381 | 151 | 609,1456 | 5,03 |
| Apigenin | C15H10O5 | 270,052826 | 150.9; 117 | 269,045 | 6,67 |
| Luteolin | C15H10O6 | 286,047729 | 133 | 285,0399 | 6,24 |
| Caffeic acid | C9H8O4 | 180,042252 | 135 | 179,0344 | 3,8 |
| Ellagic Acid | C14H6O8 | 302,0063 | | 300,9984 | 5,19 |
| Ferulic acid | C10H10O4 | 194,057907 | 134 | 193,0501 | 4,66 |
| Gallic acid | C7H6O5 | 170,02153 | 125 | 169,0137 | 1,92 |
| p-Coumaric acid | C9H8O3 | 164,047348 | 119 | 163,0395 | 2,96 |
| Syringic acid | C9H10O5 | 198,052826 | 153 | 182, 167, 197,045 | 3,96 |
| Vanillic Acid | C8H8O4 | 168,0423 | | 167,0344 | 5,81 |
| Resveratrol | C14H12O3 | 228,078644 | 163 | 227,0708 | 5,25 |

A tabela 1 revela a identificação de algumas dessas substâncias sendo possível fazer algumas suposições a partir das massas e da fragmentação dos analitos. O composto de massa 194,057907, com fragmento de massa 134, foi comparado com dados de fragmentação de massas e de literatura, sugerindo que ele seja o composto ácido ferúlico, que apresenta propriedades antioxidantes mais eficientes, o que significa que pode proteger a pele dos radicais livres, uma das principais causas do envelhecimento. Estudos apontam que usuários constantes de sêrum com Ácido Ferúlico descrevem mais maciez e a diminuição de manchas na pele. Esta molécula se apresentou mais concentrada no suco de uva de Petrolina. A partir de outras massas obtidas também é possível sugerir que o composto de massa 164.0710 possivelmente seja o ácido p-cumárico, um antioxidante frequente em uvas, que faz parte do grupo de compostos associados também com retardo do envelhecimento e prevenção do câncer.

No total foram detectados 264 compostos presentes nas amostras de suco. E utilizam o software para determinação de identidade, quantidade e correlação entre as amostras. Podem observar diferenças em relação à quantidade e distribuição apenas dos compostos fenólicos identificados presentes nos sucos estudados. Contudo, para a identificação completa desses compostos fazem necessárias uma análise mais profunda das fragmentações obtidas e sua comparação com um banco de dados. No momento, encontra-se em processo de elaboração, o banco de dados dos compostos fenólicos encontrados em uvas e derivados, com dados de estrutura, massa e fragmentos, a fim de aprofundar as informações sobre as possíveis moléculas encontradas e auxiliar na sua identificação. Além disso, iniciam testes para a análise da composição de uvas de mesa e vinhos, em especial os produzidos na região do Vale do São Francisco, com o objetivo de estabelecer métodos analíticos de identificação e composição de compostos orgânicos presentes nesses produtos.

Referências

- MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.
- ARNOUS, A.; MAKRIS, D.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 15, p. 655-665, 2002.
- BAGGIO, J. et al. Identification of phenolic acids in coffee (*Coffea arabica* L.) dust and its antioxidant activity. *Italian Journal of Food Science*, v. 19, n. 2, p. 191-201, 2007.
- DANI C, et al.: Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically- or conventionally-produced grapes. *Food Chem Toxicol*;45:2574– 2580, 2007.
- FORVEILLE, L.; VERCAUTEREN, J.; RUTLEDGE, D.N. Multivariate statistical analysis of two-dimensional NMR data to differentiate grapevine cultivars and clones. **Food Chemistry**, v.57, p.441-450, 1996.

BV10 – Bioprospecção de actinobactérias e fungos *Trichoderma* como promotores de Crescimento obtidos de *Saccharum officinarum*

Resumo do trabalho

As actinobactérias e o fungo trichoderma são associadas com muitas plantas, possuem atividades antimicrobianas, produzem numerosos compostos biologicamente ativos, incluindo enzimas degradantes. Com o objetivo de avaliar o potencial biotecnológico de microrganismos da rizosfera de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), foram realizadas amostragens em quatro localidades da Região da Zona da Mata, sendo três no estado de Pernambuco (municípios de Carpina, Igarassu e Paulista) e uma no estado da Paraíba, município de Mamanguape. Foram isolados 15 actinobactérias e do gênero *Streptomyces* sp., e 13 trichoderma com identificação morfológica e espectrometria de massas Maldi-tof. Foram realizados para as actinobactérias testes bioquímicos teste de antagonismo por pareamento e para avaliação do potencial enzimático (lipase (Tween 20, Tween 80 e glicerol), citrase e celulase) e bioestimulante (redução de nitrato, produção de ácido indol acético – AIA, uréase e fosfatase). Os testes de AIA e redução de nitrato foram realizados em tubos de ensaio e os demais testes em placa de placa de petri de 90x15mm. Os resultados foram classificados em positivo ou negativo. Todos os isolados apresentaram resultado positivo para lipase e AIA e negativo para uréase. Para a citrase a maioria apresentou ação positiva exceto os isolados ACT (6, 7, 10, 11, 12 e 15), somente os isolados ACT (5 e 9) tiveram propriedade celulase, enquanto que para propriedade fosfatase quase todos foram positivos, com exceção dos isolados ACT (1, 3, 4 e 5) que foram negativos, na redução do nitrato somente os isolados ACT (4, 9, 12 e 13) foram positivos no teste de antagonismo os isolados ACT (7 e 17) e para lipase com Tween 80 e glicerol ACT (6, 8 e 12) somente esse foram negativo para lipase. As actinobactérias isoladas apresentam potencial biotecnológico como fonte de compostos bioativos para utilização na agricultura como bioestimuladores e na produção de enzimas.

Palavras-Chave: Promotores de crescimento, cana-de-açúcar, microrganismo.

Resultados e conclusões

A identificação das actinobactérias foi morfológica e identificação por MALDI TOF, verificou-se que a metodologia precisa de modificações para que a identidade seja acima 90 %. A identificação ficou abaixo da expectativa sendo identificado somente a nível de gênero, os trichoderma não foram identificadas pois a metodologia do MALDI TOF não foi significativa para trichoderma (Tabela 1).

Tabela 1 Identificação das actinobactérias por MALDI TOF

| Rank (Quality) | Matched Pattern | Score Value | NCBI Identifier |
|----------------|---|-------------|-----------------|
| 1 | <i>Streptomyces violaceoruber</i> B263 UFL | 1.773 | 1935 |
| 3 | <i>Streptomyces hirsutus</i> B267 UFL | 1.765 | 35620 |
| 4 | <i>Streptomyces chartreusis</i> HKI 249 HKJ | 1.86 | 1969 |
| 5 | <i>Streptomyces violaceoruber</i> B263 UFL | 1.77 | 1935 |
| 6 | <i>Streptomyces chartreusis</i> HKI 249 HKJ | 1.803 | 1969 |
| 7 | <i>Streptomyces hirsutus</i> B267 UFL | 1.873 | 35620 |
| 8 | <i>Streptomyces violaceoruber</i> B263 UFL | 1.846 | 1935 |
| 9 | <i>Streptomyces hirsutus</i> B267 UFL | 1.821 | 35620 |

As Actinobactérias têm morfologia da cadeia de esporos que pode ser observada por estereoscópio óptica (GOODFELLOW & FIEDLER, 2010). As categorias morfológicas propostas por STOLPNIK et al. (1968) onde foi observada cadeia de esporos em meio de cultura, superfície da colônia e coloração, também proposto por outros autores esses métodos (ZAKALIUKINA IU et al., 2004). Substrato e pigmentos do micélio foram observados em meio ISP 4 (Meio amidos sais inorgânicos) categorizando em cinco grupos de cores provenientes da liberação de pigmentos solúveis no substrato (SELVAMEENAL et al., 2009). Estudos de amostras de solo 131 isolados obtidos, testados e distribuídos em séries de acordo com a cor do micélio aéreo e cor da esporulação. Os membros da série cinzenta foram representados por 40% do total número de isolados; contudo, a menor ocorrência foi conhecida pela série vermelha (2%) (KRASIL'NIKOV & EL'-REGISTAN, 1966) Alimuddin et al. (2011) em seu estudo sobre a distribuição da flora dos isolados na Jordânia, relataram que a classe de cor branca foi a mais prevalente com (43,6%) em solo rizosférico da planta Cajuput, os outros foram representados por todas as classes de cor. As cores das Actinobactérias tem comprimentos de onda geralmente localizadas nas faixas verde e amarelo do espectro o padrão RAL de Cor foi o sistema de cores mais próximo dos materiais biológicos porque muitos dos guias de menor croma que outros sistemas de cores (GOODFELLOW et al., 2012; ROSENBERG et al., 2014).

As actinobactérias tem uma gama de metabolitos bioativos tanto enzimática como também como bioestimuladores de plantas segundo os teste bioquímicos. Verificou se que todos os isolados apresentaram resultado positivo para lipase Tween 20 e AIA e negativo para uréase. Para a citrase a maioria apresentou ação positiva exceto os isolados ACT (6, 7, 10, 11, 12 e 15), somente os isolados ACT (5 e 9) tiveram propriedade celulase, enquanto que para propriedade fostatase quase todos foram positivos, com exceção dos isolados ACT (1, 3, 4 e 5) que foram negativos, na redução do nitrato somente os isolados ACT (4, 9, 12 e 13) foram positivos no teste de antagonismo ao fungo *Fusarium pallidroseum* os isolados ACT (7 e 17) para o teste de antagonismo somente os isolados ACT (4, 13) segundo a (Tabela 1 e Tabela 2).

Tabela 2 Actinobactérias com propriedade enzimáticas e bioestimuladora de crescimento e plantas

| Isolados | UREASE | CITRASE | CELULASE | FOSFATASE | AIA |
|----------|--------|---------|----------|-----------|-----|
| Act 1 | N | P | N | N | P |
| Act 2 | N | N | P | P | P |
| Act 3 | N | P | N | N | P |
| Act 4 | N | P | N | N | P |
| Act 5 | N | P | P | N | P |
| Act 6 | N | N | N | P | P |
| Act 7 | N | N | N | P | P |
| Act 8 | N | P | N | P | P |
| Act 9 | N | P | P | P | P |
| Act10 | N | N | N | P | P |
| Act11 | N | N | N | P | P |
| Act12 | N | N | N | P | P |
| Act 13 | N | P | N | P | P |
| Act 14 | N | P | N | P | P |
| Act15 | N | N | N | P | P |

Teste bioquímico das actinobactérias N=negativo para o testes e P=positivo para os testes bioquímicos.

As actinobactérias isoladas apresentam potencial biotecnológico como fonte de compostos bioativos na produção de enzimas e efeito antagonista ao fungo *Fusarium pallidoroseum*, para lipase com Tween 80 e glicerol ACT (6, 8 e 12) foram negativo (Tabela 3).

Tabela 3 Actinobactérias com propriedade enzimáticas e bioestimuladora de crescimento e plantas.

| Isolados | Tween 20 | Tween 80 | Redução | | Antagonismo |
|----------|----------|----------|---------|----------|-------------|
| | | | NO3 | Glicerol | |
| Act 1 | P | P | N | P | N |
| Act 2 | P | P | N | P | N |
| Act 3 | P | P | N | P | N |
| Act 4 | P | P | P | P | N |
| Act 5 | P | P | N | P | P |
| Act 6 | P | N | N | N | N |
| Act 7 | P | P | N | P | N |
| Act 8 | P | N | N | N | N |
| Act 9 | P | P | P | P | N |
| Act10 | P | P | N | P | N |
| Act11 | P | P | N | P | N |
| Act12 | P | N | P | N | N |
| Act 13 | P | P | P | P | P |
| Act 14 | P | P | N | P | N |
| Act15 | P | P | N | P | N |

As actinobactérias tem potencial biotecnológico na produção de enzimas e outros produtos como: uréase (SCHARFEN, 1973), citrase (APARICIO et al., 2018), lipase (HASAN et al., 2009), redução do nitrato (HIRSCH et al., 1961) e fosfatase (QIN et al., 2015). Esses microrganismos têm sido utilizados no controle de fitopatógenos, pois tem potencial de produção de metabolitos secundários com propriedades antifúngicas (PATIL et al., 2014; SOUZA et al., 2014; PHUAKJAIPHAEO et al., 2016).

Vários metabólitos secundários com atividade antimicrobiana, como *Streptomyces* sp. demonstraram atividade antifúngica contra vários fitopatógenos fúngico do solo (GANGWAR e KATARIA, 2013; VINAY GOPAL et al., 2013). Subramani et al. (2008) isolou e caracterizou compostos bioativos a partir de *Streptomyces* sp. com atividade inibitória contra o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* e *Alternaria alternata*. Uma proteína antifúngica de bactéria marinha isolada de *Streptomyces* sp. cepa AP77 teve ação inibitória contra *Pythium porphyrae*, agente causador da doença de podridão vermelha *Porphyra* (WOO et al., 2002; WOO & KAMEI, 2003)

As actinobactérias isoladas apresentam potencial biotecnológico como fonte de compostos bioativos para utilização na agricultura como bioestimuladores e na produção de enzimas.

Referências

ALIMUDDIN, A.; WIDADA, J.; ASMARA, W.; M., M. Antifungal Production of a Strain of Actinomycetes spp Isolated from the Rhizosphere of Cajuput Plant: Selection and Detection of Exhibiting Activity Against Tested Fungi. **Journal of Biotechnology**, Indonesian, [S.l.], v. 16, n. 1, p. 1-10, 2011.

APARICIO, J. D.; RAIMONDO, E. E.; GIL, R. A.; BENIMELI, C. S.; POLTI, M. A. Actinobacteria consortium as an efficient biotechnological tool for mixed polluted soil reclamation: Experimental factorial design for bioremediation process optimization. **Journal Hazard Mater**, v. 342, p. 408-417, Jan 15 2018.

HIRSCH, P.; OVERREIN, L.; ALEXANDER, M. Formation of nitrite and nitrate by actinomycetes and fungi. *Journal Bacteriology*, v. 82, p. 442-8, Sep 1961.

GANGWAR, M.; KATARIA, H. Diversity, antifungal and plant growth promoting activity of actinomycetes from rhizosphere soils of medicinal plants. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, [S.l.], v. 83, n. 12, p. 1289-1294, Dec 2013.

GOODFELLOW, M.; FIEDLER, H.-P. A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics. Antonie Van Leeuwenhoek International **Journal of General and Molecular Microbiology**, [S.l.], v. 98, n. 2, p. 119-142, Aug 2010.

GOODFELLOW, M.; KÄMPFER, P.; BUSSE, H.-J.; TRUJILLO, M. E.; SUZUKI, K.-I.; LUDWIG, W.; B., W. W. **Bergey'S Manual® of Systematic Bacteriology Second Edition The Actinobacteria**. New York Dordrecht Heidelberg London: 2012. 2015p.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Methods for detection and characterization of lipases: **A comprehensive review. Biotechnology Advances**, v. 27, n. 6, p. 782-98, Dec 2009.

KRASIL'NIKOV, N. A.; EL'-REGISTAN, G. I. Study of pigments of red-orange actinomycetes. **Mikrobiologiya**, [S.l], v. 35, n. 4, p. 581-585, Aug 1966.

PATIL, N. N.; WAGHMODE, M. S.; GAIKWAD, P. S.; GAJBHIYE, M. H.; GUNJAL, A. B.; NAWANI, N. N.; KAPADNIS, B. P. Potential of *Microbispora sp. V2* as biocontrol agent against *Sclerotium rolfsii*, the causative agent of southern blight of Zea mays L (Baby corn) in vitro studies. **Indian journal of experimental biology**, [S.l], v. 52, n. 11, p. 1147-1151, Nov 2014.

PHUAKJAIPHAEO, C.; CHANG, C. I.; RUANGWONG, O.; KUNASAKDAKUL, K. Isolation and identification of an antifungal compound from endophytic *Streptomyces sp. CEN26* active against *Alternaria brassicicola*. **Letters in Applied Microbiology**, [S.l], v. 63, n.1, p. 38-44, May 2016.

QIN, S.; MIAO, Q.; FENG, W.-W.; WANG, Y.; ZHU, X.; XING, K.; JIANG, J.-H. Biodiversity and plant growth promoting traits of culturable endophytic actinobacteria associated with *Jatropha curcas* L. growing in Panxi dry-hot valley soil. **Applied Soil Ecology**, [S.l], v. 93, p. 47-55, Sep 2015.

ROSENBERG, E.; DELONG, E. F.; LOR, S.; STACKEBRANDT, E.; THOMPSON, F. **The Prokaryotes Actinobacteria Fourth Edition**. Heidelberg New York Dordrecht London: Springer, 2014. 1065p., ISBN 978-3-642-30137-7.

SCHARFEN, J. Urease as a useful criterion in the classification of microaerophilic actinomycetes. **Zentralbl Bakteriol Orig A**, [S.l], v. 225, n. 1, p. 89-94, Oct 1973

SELVAMEENAL, L.; RADHAKRISHNAN, M.; BALAGURUNATHAN, R. Antibiotic pigment from desert soil actinomycetes; biological activity, purification and chemical screening. **Indian Journal of Pharmaceutical Science**, [S.l], v. 71, n. 5, p. 499-504, Sep 2009.

SOUZA, A.; CRUZ, J. C.; SOUSA, N. R.; PROCOPIO, A. R.; SILVA, G. F. Endophytic bacteria from banana cultivars and their antifungal activity. **Genetics and Molecular Research**, [S.l], v. 13, n. 4, p. 8661-8670, 2014.

STOLPNIK, V. G.; SOLOV'EVA IU, V.; SHILOVA IU, G. Culture-morphological and physiological properties of Actinomycetes no. 128--producer of antibiotic neothelomycin from the group of polypeptides. **Antibiotiki**, [S.l], v. 13, n. 7, p. 621-630, Jul 1968.

SUBRAMANI, R.; MANI, J.; NARAYANASAMY, M. Diversity and antifungal activity of marine actinomycetes. **Journal of Biotechnology**, [S.l], v. 136, p. 532-532, Oct 2008.

VINAY GOPAL, J.; THENMOZHI, M.; KANNABIRAN, K.; RAJAKUMAR, G.; VELAYUTHAM, K.; RAHUMAN, A. A. Actinobacteria mediated synthesis of gold nanoparticles using *Streptomyces sp. VITDDK3* and its antifungal activity. **Materials Letters**, [S.l], v. 93, p. 360-362, Jan 2013.

WOO, J. H.; KAMEI, Y. Antifungal mechanism of an anti-Pythium protein (SAP) from the marine bacterium *Streptomyces sp. strain AP77* is specific for *Pythium porphyrae*, a causative agent of red rot disease in *Porphyra spp.* **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.l], v. 62, n. 4, p. 407-413, Sep 2003.

WOO, J. H.; KITAMURA, E.; MYOUGA, H.; KAMEI, Y. An antifungal protein from the marine bacterium *Streptomyces sp.* Strain AP77 is specific for *Pythium porphyrae*, a causative agent of red rot disease in *Porphyra spp.* **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.l.], v. 68, n. 6, p. 2666-2675, Jun 2002.

ZAKALIUKINA IU, V.; ZENOVA, G. M.; ZVIAGINTSEV, D. G. Growth and morphological differentiation of acidophilic and neutrophilic soil streptomyces. **Mikrobiologiya**, [S.l.], v. 73, n. 1, p. 89-93, Feb 2004.

BB1 – Otimização da produção bacteriana de PHA, síntese e caracterização da membrana plástica

Resumo do trabalho

Poli-hidroxicanoatos (PHAs) são polímeros de reserva de carbono e energia acumulados intracelularmente por diversos microrganismos sob condições desbalanceadas de crescimento. Além da vantagem de ser biodegradável e biocompatível, possui propriedades termoplásticas compatíveis aos plásticos convencionais. Os PHAs se apresentam como uma alternativa mais sustentável e ecologicamente correta por poder agregar em sua produção rejeitos de outras indústrias, além de ser biodegradável e biocompatível. Neste contexto, este projeto teve como finalidade a otimização da produção dos poliésteres naturais a partir de fontes alternativas, com a finalidade de minimizar custos, reciclar rejeitos e produzir polímeros biodegradáveis. Sendo assim, este trabalho objetivou a produção de PHAs pela bactéria *Cupriavidus necator* usando glicerol residual da indústria de biodiesel (GB) como fonte de carbono; o consumo de GB foi comparado ao consumo do glicerol comercial (PG) para a produção do biopolímero, o qual será posteriormente caracterizado físico-quimicamente.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

Os resultados obtidos até o momento foram compilados gerando um artigo submetido ao periódico *Journal of Environmental Analysis and Progress*, seguindo abaixo:

Foram realizados cultivos utilizando glicerol bruto (resíduo da indústria de biodiesel) e glicerol puro comercial a fim de comparar o consumo dessa fonte de carbono. Logo sob as mesmas condições de cultivo observamos microscopicamente que houve acúmulo de PHA em ambas as fontes de carbono utilizadas como pode ser observado na imagem de microscopia óptica corada com Sudan Black (figura 1). Contudo foi possível observar a presença de um maior número de células com acúmulo intracelular de PHA nas que foram cultivadas com glicerol bruto. Tal fato pode ser explicado por o glicerol bruto não conter apenas glicerol, mas resíduos de minerais que podem estar influenciando positivamente o crescimento celular e também o acúmulo do polímero.

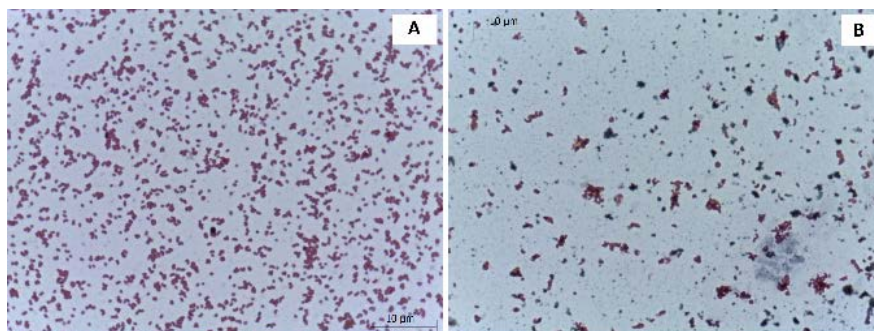


Figura 1. Acúmulo intracelular de PHAs em culturas com glicerol comercial (A) e glicerol bruto (B).

Quando o consumo de glicerol em cada um dos cultivos foi medido por análise em HPLC demonstrou que 45,08% do glicerol bruto foi consumido durante a produção de biomassa, enquanto que o consumo do glicerol puro foi menor cerca de 35,75%. Esse consumo maior do Glicerol está diretamente relacionado ao maior acúmulo de PHA observado na microscopia óptica.

Microrganismos produtores de PHA como *C. necator* necessitam da limitação de algum nutriente essencial (como nitrogênio, fósforo, magnésio, enxofre ou oxigênio) durante o cultivo para que as células utilizem o excesso de carbono disponível para sintetizar o polímero de reserva energética. Um cultivo de alta produtividade pode chegar a um rendimento final de até 80% da biomassa seca corresponder ao biopolímero (Albuquerque & Malafaia 2017, Khanna & Srivastava 2005). Usando glicerol como substrato, *C. necator* pode produzir biomassa e PHA por fermentação em frascos em diferentes condições de tempo e temperatura; neste caso, 72 h e 35°C foram escolhidos com base em análises preliminares. Possivelmente, se o cultivo tivesse sido prolongado por um período mais longo, a concentração residual de glicerol diminuiria, dando continuidade ao acúmulo de biopolímeros. No entanto, é importante mencionar o objetivo do uso de glicerol bruto, agregando valor a este co-produto da indústria de biodiesel e possibilitando a redução dos custos de produção do biopolímero. Além disso, é possível considerar o acúmulo intracelular de PHA e o processo de extração utilizando GB como eficientes na obtenção do biopolímero pela lise celular. Quando comparamos os resultados apresentados pelas culturas PG nas mesmas condições, podemos considerar o GB como um substrato eficaz para a produção biológica de produtos de valor agregado com potencial uso industrial.

Esse comportamento pode ser observado em outros trabalhos científicos já publicados. Por exemplo, uma nova cepa bacteriana isolada da mata atlântica no Brasil foi testada por De Paula et al. (2017) para a produção de PHA utilizando glicerol bruto da indústria de biodiesel; eles verificaram que a produção de PHA foi maior com glicerol residual do que com glicerol comercial, o que está de acordo com os resultados obtidos neste estudo. Além disso, trabalhando com glicerol residual gerado pela produção de biodiesel a partir de óleo de soja e metanol, Figueiredo et al. (2014) usaram diferentes condições de tempo e temperatura para a fermentação de *C. necator*. Mesmo considerando as mesmas condições deste trabalho, nossos resultados apresentaram melhor rendimento quando comparados aos seus valores (22,22%).

O FTIR é uma técnica valiosa para estudar polímeros, estimando interações químicas e possíveis modificações em sua estrutura (Albuquerque et al., 2017). A Figura 2 mostra

bandas e sinais típicos para PHAs, porém diferenças particulares foram observadas para os biopolímeros obtidos com glicerol bruto e glicerol puro. Os espectros de ambas as amostras mostraram um pico atribuído à vibração de estiramento do grupo carbonila (C = O) em ésteres (aproximadamente 1715 cm^{-1}) (Figueiredo et al., 2014, Rodríguez-Contreras et al., 2015) e picos na região entre 2800 e 3000 cm^{-1} atribuídos à vibração de estiramento CH. As amostras de GB e PG também apresentaram uma banda larga na região entre 3100 e 3500 cm^{-1} , atribuída à vibração de estiramento de OH (Yuen et al., 2009). Além disso, é possível notar que a intensidade da vibração foi mais intensa para PG. A literatura científica reporta a região próxima a 1000 cm^{-1} correspondente à vibração de estiramento de CO em ligações C-O-C e aparece em ambos os biopolímeros.

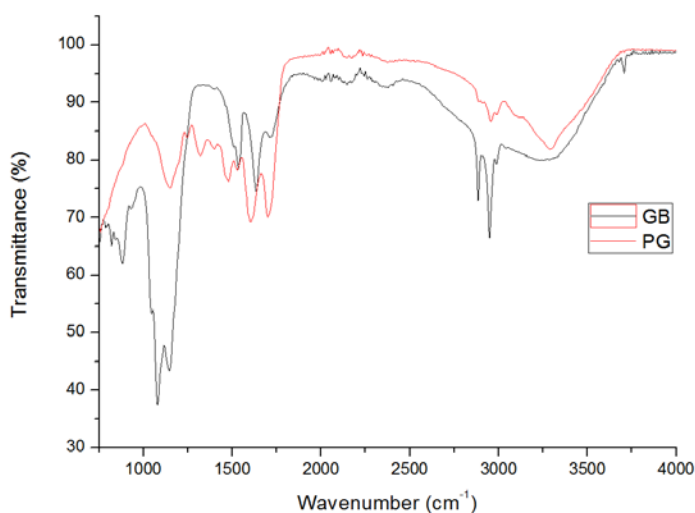


Figura 2. Espectros de FTIR dos PHAs obtidos por GB e PG.

No que se refere à região que representa a vibração de estiramento de OH, é evidente a menor intensidade para o pico GB, que pode ser associado a ligações hidroxilas que diminuem quando o GB é usado durante a fermentação por *C. necator*. O glicerol, devido à sua natureza hidrofílica, é capaz de reter maiores quantidades de água; neste caso, o excedente de PG favoreceu a adsorção de moléculas de água, que é principalmente atribuída à sua predisposição para formar ligações de hidrogênio (Cerqueira et al., 2012). O aumento da área do pico em torno de 3285 cm^{-1} confirmou os resultados observados para a análise de HPLC sobre o excedente de PG, que foi maior que o de GB durante todo o processo.

Há também uma grande diferença observada na região 2800 - 3000 cm^{-1} , isto é, a diminuição da área GB das bandas próximas ao valor de 2950 cm^{-1} , que correspondem à vibração de alongamento CH. O excesso de glicerol no biopolímero obtido com PG obtém um maior número de ligações de OH e, conseqüentemente, áreas de banda mais altas, resultando também na diminuição das áreas que correspondem às ligações CH. Além disso, diferentes quantidades de glicerol entre GB e PG levam a uma mudança do pico próximo a 1140 cm^{-1} , associada à tensão de vibração assimétrica do grupo éster (Rodríguez-Contreras et al., 2015).

O uso de recursos renováveis para a produção de bioplásticos é frequentemente associado à redução da quantidade de plásticos da indústria petroquímica. O uso de PHAs como substituto dos plásticos convencionais depende da capacidade de produzir biopolímeros a custos competitivos; uma vez que é interessante a utilização de GB para a

obtenção de produtos de valor agregado juntamente com o biodiesel, este estudo relatou uma produção eficiente de PHAs por *C. necator* usando GB como fonte de carbono e lise celular como processo de extração. O biopolímero obtido pode ser considerado uma alternativa promissora na indústria de bioplásticos, prevendo a melhoria de uma indústria sustentável baseada em biocombustíveis e biopolímeros.

BB2 – Solubilização de fosfatos por fungos isolados da rizosfera de vegetais

Resumo do trabalho

Entre os elementos essenciais, o fósforo (P) ocupa posição de destaque para os seres vivos, tendo em vista sua atuação estrutural, funcional e na transferência de energia. A maioria dos solos brasileiros apresenta baixos teores de P, e a maior parte se encontra sob formas pouco solúveis, indisponíveis para os vegetais.

Os microrganismos solubilizadores de fosfatos (MSP), tais como bactérias, fungos e actinomicetos, desempenham importante papel no suprimento de P para as plantas, sendo que vários grupos apresentam capacidade de solubilizar fosfatos naturais existentes ou adicionados ao solo. Estes microrganismos podem atuar também sobre os fosfatos insolúveis, formados após a aplicação de fosfatos solúveis ao solo, otimizando a eficiência da utilização do P. A ação solubilizadora tem sido associada principalmente à produção de ácidos orgânicos e fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* estão entre os mais atuantes nesse processo. Devido ao fato de estarem bem distribuídos na maioria dos solos, esses fungos podem constituir, via solubilização de P, alternativa de menor custo para produção na agricultura.

A inoculação com fungos solubilizadores de fosfatos (FSP) associados ou não a outros microrganismos benéficos do solo pode aumentar a taxa de crescimento das plantas. Este fato tem despertado a atenção para a utilização desses microrganismos como inoculante comercial ou no manejo de suas populações como forma de promover melhor utilização do P existente no solo ou daquele adicionado como fertilizante. O uso dos FSP depende do conhecimento de suas características, entre as quais a capacidade de solubilização é uma das mais importantes no processo de seleção e pode variar com o isolado ou a espécie de fungo e as condições do ambiente, como solo e temperatura.

Um dos campos da agricultura que demandam mais nutrientes é o das gramíneas agrícolas, que por seu caráter intensivo consomem, com fertilizantes, 15-35% dos custos totais de produção, sendo 9-14% destinado à adubação fosfatada, o que justifica o estudo de práticas alternativas que possibilitem diminuir os custos, sem prejuízo da produtividade e da qualidade dos produtos e do meio ambiente.

Dentre as gramíneas cultivadas no estado de Pernambuco, a cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma das mais importantes em virtude da geração de emprego e renda, contribuindo com uma produção de mais de 14 milhões de toneladas e posicionando o Brasil como o maior produtor desta cultura. Além da produção de açúcar e etanol, outros produtos/subprodutos (biodiesel, aguardente, rapadura, melaço, bagaço da cana) têm sido amplamente comercializados, o que leva à busca por alternativas para uso eficiente dos fertilizantes fosfatados para as variedades de cana-de-açúcar.

Inoculantes contendo FSP podem representar uma opção promissora de baixo custo, aumentando a eficiência da adubação com fontes fosfatadas e reduzindo os custos de produção e os danos ambientais. Técnicas de inoculação utilizando FSP têm mostrado

resultados favoráveis. Dentre essas, a fermentação em estado sólido (FES) é eficiente em fornecer condições adequadas para a ação dos FSP utilizando resíduos agroindustriais, tais como de azeitona e de beterraba.

O bagaço de cana-de-açúcar é um resíduo agroindustrial abundante no Brasil, correspondendo a 30% do peso seco da cana, contém alto teor de carbono (42%), tornando-se desejável para a técnica de FES. Portanto, o bagaço de cana é uma fonte de carbono viável para o crescimento de fungos em FES. A ação solubilizadora dos fosfatos está associada à produção de ácidos orgânicos e estes ao crescimento dos fungos, os quais por sua vez estão sujeitos à disponibilidade de carbono.

Considerando a importância dos FSP para a agricultura e o papel que desempenham no suprimento de fósforo para as plantas, tornam-se imprescindíveis estudos sobre a eficiência desses fungos na solubilização de diferentes fontes fosfatadas, contribuindo com programas de bio-inoculação de baixo custo e ampliando o conhecimento a respeito desses microrganismos na agricultura.

Neste projeto está prevista a determinação da eficiência dos fungos solubilizadores de fosfatos frente a diferentes fontes fosfatadas. Os fungos selecionados e multiplicados, constituindo bio-inoculantes, serão testados em bio-ensaios com plantas de interesse agrícola, incluindo a própria cana-de-açúcar. Esse estudo pode levar à produção em escala de bio-inoculantes (FSP) que promovam a disponibilização de P do solo em sistemas agrícolas.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

Trinta e oito espécimes de FSP foram isolados da rizosfera de cana-de-açúcar, sendo 37 *Aspergillus* (*A. aculeatus*, *A. carbonarius* e *A. niger*) e 01 *Penicillium* (*P. notatum*). Os isolados produziram halo de solubilização de fosfato de 58 a 91 mm de diâmetro, observando-se maior frequência de fungos com índice de solubilização (IS) classificado como baixo (32 espécimes), seguido por IS alto (05 espécimes) e médio (01 espécime) (Tabela 1). Esses resultados diferem dos apresentados por Nopparat et al. (2007) e Mittal et al. (2008), que relataram zona de solubilização de P em torno das colônias fúngicas bem menor (10 a 22 mm e 1 a 15 mm), respectivamente, para 30 isolados de *Aspergillus* sp. e 22 espécimes (12 *Aspergillus* e 10 *Penicillium*) da rizosfera de diversas culturas (arroz, beringela, cana de açúcar, ervilha, milho, mostarda e orquídea), demonstrando que isolados de mesmos gêneros podem apresentar respostas diferentes, o que está relacionado ao metabolismo de crescimento de cada fungo e potencial de solubilização.

Todos isolados foram analisados quantitativamente. Após 10 dias de incubação, foi observada variação de 209 a 1793 $\mu\text{g CaHPO}_4 \text{ mL}^{-1}$ de P solúvel, corroborando resultados relatados por Mittal et al. (2008) e Yin et al. (2015), que constataram solubilização de CaHPO_4 , 22 a 1140 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 930 a 1392 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, por *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. Entretanto, em outros relatos os valores máximos (495 $\mu\text{g mL}^{-1}$) de solubilidade de P por *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. (Singh et al., 2011; Yadav et al., 2011) alcançaram apenas 25 % dos resultados (209 a 486 $\mu\text{g mL}^{-1}$) observado neste estudo.

Contudo, 06 espécimes apresentaram melhores resultados quantitativos após 10 dias de incubação, observando-se variação de 1505 a 1793 $\mu\text{g CaHPO}_4 \text{ mL}^{-1}$ de P solúvel (Tabela 1); valores adequados (superior a 1500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de P solúvel) para prosseguir com as avaliações *in vitro* das demais fontes de fosfato.

Tabela 1. Fungos solubilizadores de fosfato (FSP) isolados de solos rizosféricos de cana-de-açúcar, em Carpina/PE, Brasil.

| Isolado | Espécie | Índice de solubilização | P solúvel ($\mu\text{g mL}^{-1}$ (CaHPO_4)) |
|---------|---|-------------------------|--|
| FSP1 | <i>Aspergillus carbonarius</i> (Bainier) Thom | Baixo | 403 c |
| FSP2 | <i>A. aculeatus</i> Iizuka | Baixo | 517 c |
| FSP3 | <i>A. niger</i> Tiegh. | Baixo | 514 c |
| FSP4 | <i>A. niger</i> | Alto | 1505 a |
| FSP5 | <i>A. niger</i> | Baixo | 758 b |
| FSP6 | <i>A. niger</i> | Baixo | 429 c |
| FSP7 | <i>A. niger</i> | Baixo | 302 c |
| FSP8 | <i>A. niger</i> | Baixo | 587 c |
| FSP9 | <i>A. niger</i> | Baixo | 612 c |
| FSP10 | <i>A. carbonarius</i> | Baixo | 836 b |
| FSP11 | <i>A. aculeatus</i> | Alto | 1520 a |
| FSP12 | <i>A. aculeatus</i> | Baixo | 642 c |
| FSP13 | <i>A. aculeatus</i> | Baixo | 461 c |
| FSP14 | <i>A. aculeatus</i> | Baixo | 593 c |
| FSP15 | <i>A. aculeatus</i> | Baixo | 600 c |
| FSP16 | <i>A. carbonarius</i> | Baixo | 367 c |
| FSP17 | <i>A. niger</i> | Baixo | 486 c |
| FSP18 | <i>A. aculeatus</i> | Baixo | 525 c |
| FSP19 | <i>Penicillium notatum</i> Westling | Médio | 1793 a |
| FSP20 | <i>A. niger</i> | Baixo | 938 b |
| FSP21 | <i>A. carbonarius</i> | Baixo | 713 c |
| FSP22 | <i>A. carbonarius</i> | Baixo | 876 b |
| FSP23 | <i>A. aculeatus</i> | Baixo | 452 c |
| FSP24 | <i>A. niger</i> | Baixo | 496 c |
| FSP25 | <i>A. niger</i> | Baixo | 521 c |
| FSP26 | <i>A. niger</i> | Baixo | 1006 b |
| FSP27 | <i>A. niger</i> | Baixo | 209 c |
| FSP28 | <i>A. niger</i> | Baixo | 642 c |
| FSP29 | <i>A. carbonarius</i> | Baixo | 948 b |
| FSP30 | <i>A. aculeatus</i> | Alto | 1650 a |
| FSP31 | <i>A. aculeatus</i> | Baixo | 877 b |
| FSP32 | <i>A. aculeatus</i> | Baixo | 539 c |
| FSP33 | <i>A. niger</i> | Alto | 1560 a |
| FSP34 | <i>A. carbonarius</i> | Baixo | 928 b |
| FSP35 | <i>A. aculeatus</i> | Baixo | 1089 b |
| FSP36 | <i>A. aculeatus</i> | Alto | 1611 a |
| FSP37 | <i>A. aculeatus</i> | Baixo | 478 c |
| FSP38 | <i>A. carbonarius</i> | Baixo | 321 c |

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Seis espécimes, selecionados com base nos valores de P solúvel de CaHPO_4 ($\geq 1500 \mu\text{g mL}^{-1}$

1), foram analisados quantitativamente com relação a capacidade de solubilizar *in vitro* outras fontes de fosfato (MAP – fosfato monoamônico, SFS – superfosfato simples, TEF – termofosfato e FNA – fosfato natural Arad). Após 10 dias de incubação, os isolados testados apresentaram potencial de solubilização das fontes de P, diminuição do pH do meio de cultura líquido e aumento da biomassa seca (Tabela 2, 3, 4 e 5).

Os isolados FSP 30, FSP 33 e FSP 36 (MAP, SFS e TEF) e FSP 19 (FNA) destacaram-se por produzirem os maiores valores de P solúvel, apresentando ainda baixo pH e alta biomassa seca (Tabela 2, 3, 4 e 5). Coutinho et al. (2012) demonstraram resultado similar em relação à solubilização de MAP, SFS e TEF por *Aspergillus* e *Penicillium*.

A eficiência de solubilização (ES) do MAP, SFS e TEF, em relação ao controle, foi em torno de 60 % para FSP 30, FSP 33 e FSP 36; e acima de 480 % para FSP 19 na presença do FNA. A eficiência na solubilização de fontes menos solúveis como TEF e FNA por FSP pode reduzir sobremaneira a quantidade destes fertilizantes aplicados ao solo e conseqüentemente diminuindo o impacto do excesso de insumos e custos de produção (Khan et al., 2010). Apesar de MAP e SFS serem fontes mais solúveis em água (MAP 44 % e SFS 16 %), parte do P pode tornar-se adsorvido ou convertido a compostos muito pouco solúveis (Machado et al., 2011). Dessa maneira, além de aumentar a solubilidade do MAP e SFS, a aplicação do FSP 30, FSP 33 ou FSP 36 poderia otimizar o aproveitamento desses fertilizantes fosfatados adicionados ao solo.

Tabela 2. Valores médios de P solúvel, pH e biomassa seca em meio de cultivo GL líquido suplementado com fosfato monoamônico (MAP) e inoculado ou não com fungos solubilizadores de fosfato (FSP), após 10 dias de inoculação.

| Isolados | P solúvel ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | | pH | BS ($\text{g } 50 \text{ mL}^{-1}$) |
|----------|-------------------------------------|--------|--------|---------------------------------------|
| | MAP | ES (%) | | |
| Controle | 280,6 c | | 6,10 a | 1,0355 b |
| FSP 04 | 370,6 b | 32,07 | 5,32 b | 1,0844 a |
| FSP 11 | 388,9 b | 38,60 | 5,35 b | 1,1096 a |
| FSP 19 | 376,4 b | 34,14 | 5,30 b | 1,1046 a |
| FSP 30 | 458,6 a | 63,44 | 5,11 b | 1,1175 a |
| FSP 33 | 446,4 a | 59,09 | 5,03 b | 1,0869 a |
| FSP 36 | 451,3 a | 60,83 | 5,07 b | 1,1088 a |

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ES=eficiência de solubilização $\{100[(X-Y)/Y]$, X=tratamento inoculado com FSP e Y=tratamento controle}; BS=biomassa seca.

Tabela 3. Valores médios de P solúvel, pH e biomassa seca em meio de cultivo GL líquido suplementado com superfosfato simples (SFS) e inoculado ou não com fungos solubilizadores de fosfato (FSP), após 10 dias de inoculação.

| Isolados | P solúvel ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | | pH | BS ($\text{g } 50 \text{ mL}^{-1}$) |
|----------|-------------------------------------|--------|--------|---------------------------------------|
| | SFS | ES (%) | | |
| Controle | 241,3 c | | 6,08 a | 1,4684 b |
| FSP 04 | 338,1 b | 40,12 | 5,28 b | 1,9825 a |
| FSP 11 | 330,5 b | 36,97 | 5,30 b | 1,9739 a |
| FSP 19 | 333,9 b | 38,38 | 5,18 b | 1,9267 a |
| FSP 30 | 385,3 a | 59,68 | 5,04 b | 1,9276 a |
| FSP 33 | 382,3 a | 58,43 | 5,29 b | 1,5946 b |
| FSP 36 | 382,8 a | 58,64 | 5,53 b | 1,8310 a |

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ES=eficiência de solubilização $\{100[(X-Y)/Y]$, X=tratamento inoculado com FSP e Y=tratamento controle}; BS=biomassa seca.

Tabela 4. Valores médios de P solúvel, pH e biomassa seca em meio de cultivo GL líquido suplementado com termofosfato (TEF) e inoculado ou não com fungos solubilizadores de fosfato (FSP), após 10 dias de inoculação.

| Isolados | P solúvel ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | | pH | BS ($\text{g } 50 \text{ mL}^{-1}$) |
|----------|-------------------------------------|--------|--------|---------------------------------------|
| | TEF | ES (%) | | |
| Controle | 142,8 c | | 6,16 a | 2,0175 b |
| FSP 04 | 201,7 b | 41,25 | 5,37 b | 2,2954 a |
| FSP 11 | 195,2 b | 36,70 | 5,41 b | 2,3403 a |
| FSP 19 | 189,6 b | 32,77 | 5,29 b | 2,0874 b |
| FSP 30 | 231,5 a | 62,11 | 5,32 b | 2,3308 a |
| FSP 33 | 230,3 a | 61,27 | 5,26 b | 2,3284 a |
| FSP 36 | 230,7 a | 61,55 | 5,35 b | 2,3426 a |

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ES=eficiência de solubilização $\{100[(X-Y)/Y]$, X=tratamento inoculado com FSP e Y=tratamento controle}; BS=biomassa seca.

Tabela 5. Valores médios de P solúvel, pH e biomassa seca em meio de cultivo GL líquido suplementado com fosfato natural Arad (FNA) e inoculado ou não com fungos solubilizadores de fosfato (FSP), após 10 dias de inoculação.

| Isolados | P solúvel ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | | pH | BS ($\text{g } 50 \text{ mL}^{-1}$) |
|----------|-------------------------------------|--------|--------|---------------------------------------|
| | FNA | ES (%) | | |
| Controle | 6,87 c | | 6,02 a | 1,5846 b |
| FSP 04 | 17,50 b | 154,73 | 5,40 b | 1,7224 a |
| FSP 11 | 19,70 b | 186,75 | 5,45 b | 1,7642 a |
| FSP 19 | 40,31 a | 486,75 | 5,33 b | 1,7411 a |
| FSP 30 | 17,76 b | 158,52 | 5,38 b | 1,8001 a |
| FSP 33 | 18,24 b | 165,50 | 5,29 b | 1,7914 a |
| FSP 36 | 20,05 b | 191,85 | 5,39 b | 1,7349 a |

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ES=eficiência de solubilização $\{100[(X-Y)/Y]$, X=tratamento inoculado com FSP e Y=tratamento controle}; BS=biomassa seca.

A aplicação de FSP resultou em aumento e incremento na produção de biomassa aérea e radicular e altura, diferindo significativamente do controle (Tabela 6 e 7). *Aspergillus sp.* tem sido utilizado como biofertilizante por sua capacidade em solubilizar fosfatos, porém os resultados não são unânimes. Coutinho et al. (2012), Singh & Reddy (2011) e Yadav et al. (2011) relacionaram benefícios consideráveis à biomassa aérea e radicular de *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon L., *Triticum aestivum* L., *Zea mays* L. e *Cicer arietinum* L. com a inoculação de FSP. Por outro lado, Costa et al. (2009) não observaram eficiência na inoculação com FSP em *T. aestivum* para todos os parâmetros analisados, atribuindo o insucesso da inoculação ao curto período do experimento. Estes resultados contrários reforçam a necessidade de seleção de isolados de FSP, associados ou não a outros micro-organismos, para as culturas de interesse, considerando a diversidade funcional dos fungos (Feddermann et al., 2010).

Tabela 6. Biomassa da parte aérea e radicular (g planta⁻¹) e altura (cm) de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.* L.) 30 dias após os tratamentos de inoculação com fungos solubilizadores de fosfatos (FSP) e fosfato natural Arad.

| Tratamento | Biomassa aérea e radicular | | Altura | |
|---------------|----------------------------|-------|--------|--------|
| | I % | | I % | |
| Controle (NI) | 0,6 | | 18,2 | |
| FSP 19 | 2,02 | 236,6 | 45 | 142,25 |
| FSP 30 | 2,80 | 366,6 | 43,1 | 136,81 |
| FSP 33 | 2,52 | 320,0 | 42 | 130,76 |
| FSP 36 | 2,42 | 273,3 | 39,5 | 117,03 |

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, não

diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). NI=não inoculado com FSP; FSP=fungo solubilizador de fosfatos. I= incremento $\{100[(X-Y)/Y]$, X = tratamento inoculado e Y = tratamento controle}.

Tabela 7. Biomassa da parte aérea e radicular (g planta⁻¹) e altura (cm) de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.* L.) 30 dias após os tratamentos de inoculação com espécimes de *Trichoderma* e sem adição de fosfato natural Arad.

| Tratamento | Biomassa aérea e radicular | | Altura | |
|---------------|----------------------------|-------|--------|-------|
| | | I % | | I % |
| Controle (NI) | 0,4 | | 35 | |
| T 1 | 2,23 | 457,5 | 61 | 74,28 |
| T 2 | 2,96 | 640,0 | 60 | 71,43 |
| T 3 | 3,50 | 775,0 | 64 | 82,86 |
| T 4 | 2,80 | 600,0 | 54 | 54,29 |

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). NI=não inoculado; T=*Trichoderma*. I= incremento $\{100[(X-Y)/Y]$, X = tratamento inoculado e Y = tratamento controle}.

Os FSP podem representar uma alternativa para aumentar a disponibilização de P, possibilitando a redução das dosagens das fontes de P testadas e a diminuição dos custos com insumos agrícolas. Além disso, podem contribuir para redução dos impactos gerados ao meio ambiente pelo excesso de adubação fosfatada, considerando que as fontes solúveis (fosfato monoamônico e superfosfato simples) são rapidamente adsorvidas ou fixadas ao solo e os termofosfatos e fosfatos naturais apresentam insolubilidade em água.

Novas pesquisas devem ser realizadas visando confirmar a capacidade e/ou selecionar FSP capazes de beneficiar o crescimento e o teor de nutrientes, como potencial alternativa para redução de insumos agrícolas, principalmente para o cultivo de culturas de alta exigência nutricional e de importância para o desenvolvimento econômico do país. A aplicação de fungos solubilizadores de P é recomendada como uma forma sustentável para aumentar o rendimento das culturas e diminuir o uso excessivo de fertilizantes fosfatados.

BB3 - Produção biotecnológica de polihidroxicanoatos por bactérias para síntese de polímeros biodegradáveis

Resumo do trabalho

A segunda maior demanda pelo uso de derivados de petróleo como matéria-prima consiste na produção de polímeros: o polipropileno, derivado petroquímico utilizado na confecção de plásticos. Este apresentou uma das maiores taxas de crescimento no setor industrial nos últimos anos, refletindo a expansão do mercado consumidor e o dinamismo do processo de substituição de produtos e materiais tradicionais por outros derivados do petróleo, mais baratos e práticos. Polihidroxicanoatos (PHAs) são polímeros de reserva

de carbono e energia acumulados intracelularmente por diversos microrganismos sob condições desbalanceadas de crescimento. Além da vantagem de ser biodegradável e biocompatível, possui propriedades termoplásticas compatíveis aos plásticos convencionais. Apesar destas vantagens, apresenta um elevado custo de produção frente aos polímeros petroquímicos devido ao emprego de culturas puras e da utilização de glicose como substrato de síntese, o que dificulta e encarece muito sua produção. Neste contexto, este projeto tem como finalidade a otimização da produção dos poliésteres naturais a partir de fontes alternativas, com a finalidade de minimizar custos, reciclar rejeitos e produzir polímeros biodegradáveis. Sendo assim, este trabalho objetivou a produção de PHAs pela bactéria *Cupriavidus necator* usando glicerol residual da indústria de biodiesel (GB) como fonte de carbono; o consumo de GB será comparado ao consumo do glicerol comercial (PG) para a produção do biopolímero, o qual será posteriormente caracterizado físico-quimicamente.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

A presença intracelular de PHA em culturas realizadas com PG e GB foi confirmada através do método de coloração de Sudan Black, como observado na Figura 1. Através da microscopia óptica, é possível observar um comportamento diferente para ambas as culturas, sendo as células GB maiores que as PG devido ao maior acúmulo de PHAs.

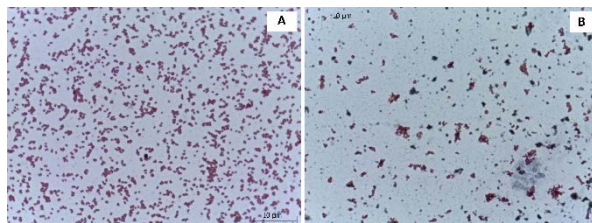


Figura 1. Acúmulo intracelular de PHAs em culturas com PG (A) e GB (B).

A análise por HPLC demonstrou que 35,75% de PG foram consumidos durante a produção de biomassa, enquanto 45,08% foi o valor consumido de GB. A maior quantidade de GB consumida durante a fermentação pode indicar um maior acúmulo de PHA quando comparado à cultura PG, resultado congruente ao apresentado pela análise de microscopia.

Existem muitos microrganismos produtores de PHAs, sendo *C. necator* um dos mais importantes devido às condições favoráveis de produção industrial, as quais permitem um acúmulo de aproximadamente 80% de sua massa seca em biopolímero. Esta bactéria requer a limitação de um nutriente essencial (nitrogênio, fósforo, magnésio, enxofre ou oxigênio) para a síntese de PHA a partir de um excesso de fonte de carbono (Albuquerque & Malafaia 2017, Khanna & Srivastava 2005). Usando glicerol como substrato, *C. necator* pode produzir biomassa e PHA por fermentação em frascos em diferentes condições de tempo e temperatura; neste caso, 72 h e 35 °C foram escolhidos com base em análises preliminares (resultados não apresentados). Possivelmente, se o cultivo tivesse sido prolongado por um período mais longo, a concentração residual de glicerol diminuiria, dando continuidade ao acúmulo de biopolímeros. No entanto, é importante mencionar o objetivo do uso de GB, agregando valor a este co-produto da indústria de biodiesel e possibilitando a redução dos custos de produção do biopolímero. Além disso, é possível considerar o acúmulo intracelular de PHA e o processo de extração utilizando GB como eficientes na obtenção do biopolímero pela lise celular. Quando comparamos os

resultados apresentados pelas culturas PG nas mesmas condições, podemos considerar o GB como um substrato eficaz para a produção biológica de produtos de valor agregado com potencial uso industrial.

Esse comportamento pode ser observado em outros trabalhos científicos já publicados. Por exemplo, uma nova cepa bacteriana isolada da mata atlântica no Brasil foi testada por De Paula et al. (2017) para a produção de PHA utilizando glicerol bruto da indústria de biodiesel; eles verificaram que a produção de PHA foi maior com glicerol residual do que com glicerol comercial, o que está de acordo com os resultados obtidos neste estudo. Além disso, trabalhando com glicerol residual gerado pela produção de biodiesel a partir de óleo de soja e metanol, Figueiredo et al. (2014) usaram diferentes condições de tempo e temperatura para a fermentação de *C. necator*. Mesmo considerando as mesmas condições deste trabalho, nossos resultados apresentaram melhor rendimento quando comparados aos seus valores (22,22%).

O FTIR é uma técnica valiosa para estudar polímeros, estimando interações químicas e possíveis modificações em sua estrutura (Albuquerque et al., 2017). A Figura 2 mostra bandas e sinais típicos para PHAs, porém diferenças particulares foram observadas para os biopolímeros obtidos com GB e PG. Os espectros de ambas as amostras mostraram um pico atribuído à vibração de estiramento do grupo carbonila (C = O) em ésteres (aproximadamente 1715 cm^{-1}) (Figueiredo et al., 2014, Rodríguez-Contreras et al., 2015) e picos na região entre 2800 e 3000 cm^{-1} atribuídos à vibração de estiramento CH. As amostras de GB e PG também apresentaram uma banda larga na região entre 3100 e 3500 cm^{-1} , atribuída à vibração de estiramento de OH (Yuen et al., 2009). Além disso, é possível notar que a intensidade da vibração foi mais intensa para PG. A literatura científica reporta a região próxima a 1000 cm^{-1} correspondente à vibração de estiramento de CO em ligações C-O-C e aparece em ambos os biopolímeros.

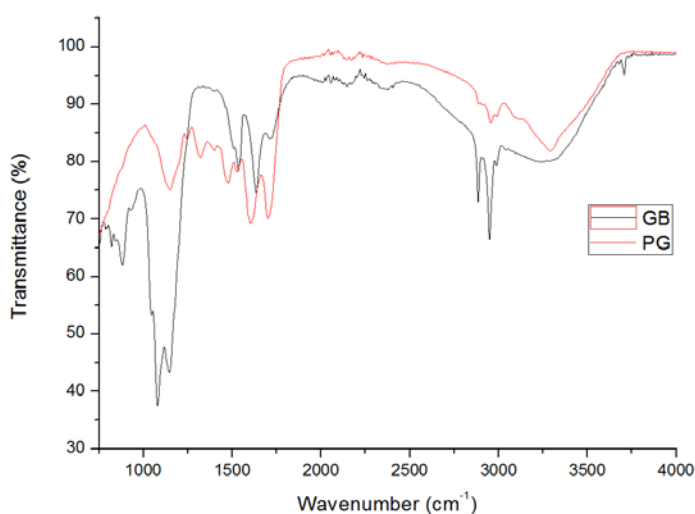


Figura 2. Espectros de FTIR dos PHAs obtidos por GB e PG.

No que se refere à região que representa a vibração de estiramento de OH, é evidente a menor intensidade para o pico GB, que pode ser associado a ligações hidroxilas que diminuem quando o GB é usado durante a fermentação por *C. necator*. O glicerol, devido à sua natureza hidrofílica, é capaz de reter maiores quantidades de água; neste caso, o excedente de PG favoreceu a adsorção de moléculas de água, que é principalmente atribuída à sua predisposição para formar ligações de hidrogênio (Cerqueira et al., 2012).

O aumento da área do pico em torno de 3285 cm^{-1} confirmou os resultados observados para a análise de HPLC sobre o excedente de PG, que foi maior que o de GB durante todo o processo.

Há também uma grande diferença observada na região 2800-3000 cm^{-1} , isto é, a diminuição da área GB das bandas próximas ao valor de 2950 cm^{-1} , que correspondem à vibração de alongamento CH. O excesso de glicerol no biopolímero obtido com PG obtém um maior número de ligações de OH e, conseqüentemente, áreas de banda mais altas, resultando também na diminuição das áreas que correspondem às ligações CH. Além disso, diferentes quantidades de glicerol entre GB e PG levam a uma mudança do pico próximo a 1140 cm^{-1} , associada à tensão de vibração assimétrica do grupo éster (Rodríguez-Contreras et al., 2015).

O uso de recursos renováveis para a produção de bioplásticos é frequentemente associado à redução da quantidade de plásticos da indústria petroquímica. O uso de PHAs como substituto dos plásticos convencionais depende da capacidade de produzir biopolímeros a custos competitivos; uma vez que é interessante a utilização de GB para a obtenção de produtos de valor agregado juntamente com o biodiesel, este estudo relatou uma produção eficiente de PHAs por *C. necator* usando GB como fonte de carbono e lise celular como processo de extração. O biopolímero obtido pode ser considerado uma alternativa promissora na indústria de bioplásticos, prevendo a melhoria de uma indústria sustentável baseada em biocombustíveis e biopolímeros.

BB4 - Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação e quantificação de compostos por cromatografia líquida de ultra eficiência, associado a espectrometria de massas

Resumo do trabalho

O Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE) é um centro de pesquisa e prestação de serviços do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC/INT), criado para apoiar o desenvolvimento tecnológico do Nordeste brasileiro, promovendo a interação entre conhecimento, inovação e a sociedade. Um de seus objetivos é permitir a cooperação entre universidades, empresas e outros centros de pesquisa, dando apoio estrutural, de equipamentos e pessoal para o desenvolvimento de projetos de pesquisa nas mais diversas áreas, com a finalidade de inovar e a difundir tecnologias. A Central Analítica é um dos setores de maior importância do CETENE, por dispor de equipamentos analíticos de ponta, fornecendo análises precisas e robustas aos seus multiusuários. Devido a alta demanda de dados gerados nas análises de LC-MS existe a necessidade de se certificar da qualidade de medições químicas, através de sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade, características exigidas para a segurança e o bom rendimento das análises realizadas. A cromatografia líquida (LC) é uma técnica analítica de separação de compostos muito bem estabelecida, podendo identificar e quantificar diversos compostos de uma amostra. A espectrometria de massas (MS) é uma técnica que determina a razão massa/carga de um composto ionizável. Esta é uma das técnicas analíticas mais importantes, uma vez que é capaz de prover informação sobre: a composição qualitativa e quantitativa de analitos orgânicos e inorgânicos em misturas complexas; as estruturas de uma grande variedade de espécies moleculares, assim como a razão isotópica de átomos em amostras. Assim, esse plano de trabalho tem como objetivo, desenvolver metodologias padrão para análise de compostos orgânicos e outras moléculas ionizáveis, além da otimização e validação qualitativa e quantitativa dos mesmos com a

utilização de sistema de cromatografia líquida associada à espectrometria de massas (LC-MS). As análises foram feitas utilizando o sistema de cromatografia líquida de ultra performance ACQUITY UPLC H-Class, (Waters), utilizando uma coluna C18 como fase estacionária e a associação de solventes como fase móvel. O sistema é acoplado a um espectrômetro de massas ACQUITY SQ Detector 2 (Waters), um single quadruplo, com o sistema de ionização por electrospray. As análises dos dados foram realizadas pelo software Masslynx (Waters). Os métodos foram classificados diferentes categorias de acordo com a sua finalidade (limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), linearidade, precisão, exatidão, seletividade, faixa de aplicação e robustez), as quais exigem determinados parâmetros analíticos, conforme orienta a Resolução RE Nº 899 da ANVISA (2003). Assim, o trabalho tem como objetivo desenvolver, validar, otimizar e implementar métodos de análises qualitativas e quantitativas de substâncias químicas empregando cromatografia líquida associada à espectrometria de massas (LC-MS).

Resultados e conclusões obtidos até o momento

Até o presente momento, foram analisados seis compostos de diferentes naturezas, por UPLC-MS (Tabela 1). Estes compostos são padrões referentes a análises de multiusuários e estão sendo utilizados para realização de curvas padrão, a serem validadas e otimização de métodos cromatográficos.

Para a validação dos métodos cromatográficos, é necessário otimizar e estabelecer a técnica, por meio de seleção de reagentes adequados as análises, otimização dos parâmetros do equipamento e preparo da amostra compatível com as análises a serem realizadas (FERNANDEZ-ALBA, 2003). Para o LC-MS foram analisados os compostos: Astaxantina, Tributílfosfato (TBP), Tris (2-butoxietil) fosfato (TBEP) e Ácido Fólico. A astaxantina foi solubilizada em acetato de etila e o TBP, TBEP e ácido fólico solubilizados em metanol. A análise foi feita no método *Selected Ion Recording* (SIR), onde a varredura é realizada procurando a massa molecular informada ao sistema. Os parâmetros cromatográficos e de espectrometria de massas estão descritos na tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros de LC-MS otimizados.

| Composto | Astaxantina | Tributilfosfato | Tris (2-butoxietil) fosfato | Ácido Fólico |
|-----------------------------------|---------------|-----------------|-----------------------------|---------------|
| Fórmula Molecular | C40H52O4 | C12H27O4P | C24H27O4P | C19H19N7O6 |
| Massa do Composto | 596,84 | 266,31 | 410,44 | 441,39 |
| Fluxo (mL/min.) | 0,37 | 0,4 | 0,4 | 0,4 |
| %A – Metanol | 50 | | | |
| %B – Acetonitrila | 10 | Gradiente | Gradiente | Gradiente |
| %C – Acetato de Etila | 40 | | | |
| %D – Água | x | | | |
| Aditivo | Ácido Fórmico | Ácido Fórmico | Ácido Fórmico | Ácido Fórmico |
| Temperatura amostra (°C) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Temperatura Coluna (°C) | 30 | 40 | 40 | 40 |
| Tempo de Retenção (min.) | 0,79 | 4,27 | 4,71 | 4,41 |
| Voltagem do capilar (kV) | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 2,5 |
| Voltagem do Cone (V) | 50 | 50 | 50 | 30 |
| Modo de Ionização | (+) | (+) | (+) | (-) |
| Temperatura de Dessolvatação (°C) | 350 | 350 | 350 | 600 |
| Fluxo de gás da fonte (L/h) | 650 | 650 | 650 | 1200 |

Após a análise por LC-MS, pode-se observar o comportamento dos compostos. O tempo de retenção da astaxantina foi de 0,79 minutos, o TBP foi resolvido em 4,39 minutos, o TBEP separou em 4,71 minutos e o ácido fólico em 4,41 minutos. A massa observada nos três primeiros compostos foi de 597, 267 e 411, respectivamente, um Dalton a mais que sua real massa. Essa diferença de massa se dá pelo método de aquisição de dados, onde o *electrospray* positivo (ES+) adiciona uma carga ao composto para ionizá-lo. Já no ácido fólico, foi observada a massa 440 Da, um menos que a massa real, devido ao método de ionização negativo, que retira uma carga (Figura 1).

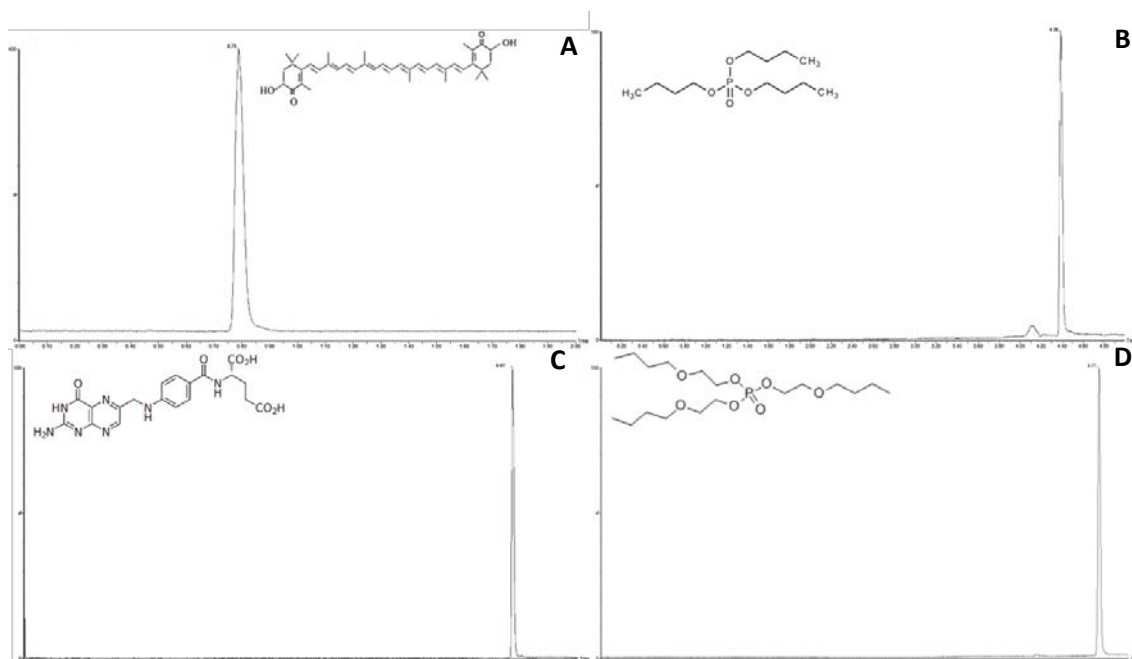


Figura 1: Cromatogramas dos padrões analíticos analisados. **A** - Astaxantina; **B** - Tributillfosfato; **C** - Ácido Fólico; **D** - Tris (2-butoxietil) fosfato.

Após a otimização do método para análise dos compostos citados, foi realizada a validação da curva de calibração, de acordo com o artigo publicado por Ribeiro et al (2008). A partir dos dados da curva, foi possível analisar os parâmetros: especificidade; seletividade; linearidade; limites de detecção e quantificação; intervalo; precisão e robustez (Tabela 2). Estes valores estão de acordo com a resolução 899/2003, da ANVISA, que visa o estabelecimento de validação de métodos para processos analíticos.

Tabela 2: Parâmetros da validação das curvas.

| Parâmetros | Astaxantina | Tributillfosfato | Tris (2-butoxietil) fosfato | Ácido Fólico |
|---------------------------------|------------------------|----------------------|-----------------------------|------------------------|
| Especificidade | SIM | SIM | SIM | SIM |
| Seletividade | SIM | SIM | SIM | SIM |
| Linearidade (99,0%) | SIM | SIM | SIM | SIM |
| Limite de detecção (µg/mL) | 68,25 | 60,17 | 25,69 | 86,99 |
| Limite de quantificação (µg/mL) | 83,45 | 76,47 | 31,59 | 108,59 |
| Intervalo (µg/mL) | 200-10 | 100-1 | 100-5 | 250-25 |
| Precisão | SIM | SIM | SIM | SIM |
| Robustez | SIM | SIM | SIM | SIM |
| Equação da reta | $y = 2079.2x - 3975,8$ | $y = 1000x + 9229,6$ | $y = 10248x + 29467$ | $y = 75.389x + 578,23$ |

Conclusões

Foi possível desenvolver métodos reprodutíveis para separação dos compostos de naturezas distintas, astaxantina; tributillfosfato; tris (2-butoxietil) fosfato; ácido fólico. Foi

realizada a validação da curva analítica para os quatro compostos, atendendo as especificações da ANVISA. As curvas estão reprodutíveis, precisas e com alta sensibilidade, permitindo assim, maior robustez na análise de amostras dos multiusuários do CETENE. Mais compostos estão sendo obtidos e com isso mais curvas analíticas serão desenvolvidas.

Referencias

RIBEIRO, F. A. L.; FERREIRA, M. M. C.; MORANO, S. C.; SILVA, L. R.; SCHNEIDER, R. P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**. v. 31, n. 1, p. 164-171, 2008.

FERNÁNDEZ-ALBA, A.R. **Chromatographic - Mass Spectrometry Food Analysis for Trace Determination of Pesticide Residues**, Editora Elsevier, Amsterdam, v. XLIII, Capítulo 8, 2005.

INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DOQ-CGCRE-008: Brasília, 35 p., 2003.

BB5 - Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação de compostos por cromatografia gasosa por ionização de chama

Resumo do trabalho

A cromatografia é um método analítico de separação, identificação e quantificação de espécies químicas. É um método físico-químico que separa componentes de uma mistura complexa através da distribuição dos componentes em duas fases que estão em contato íntimo. Uma das fases permanece estacionária enquanto que a outra se move através dela. No caso da cromatografia gasosa a fase móvel é composta por um gás de arraste ou uma mistura de gases. Nesta passagem, os componentes da mistura são separados pelas duas fases de tal forma que ficam mais ou menos retidos na fase estacionária fazendo com que o tempo em que permaneçam em contato seja diferente e caracterize tal composto (Collins et. al., 2006).

A validação de um método cromatográfico é um dos elementos básicos em sistemas de qualidade e que integra os programas de Boas Práticas de Laboratório. Este método operacional visa assegurar que a identificação e quantificação de metabolitos apresentem precisão e confiabilidade, oferecendo ao pesquisador uma ferramenta indispensável para assegurar a veracidade dos resultados obtidos (Chasin et. al, 1998).

De acordo com a legislação RE 899 da ANVISA, o objetivo de uma validação é de demonstrar que o método é adequado para a finalidade pretendida. O método deve garantir, por meio de estudos experimentais, que atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para isso deve-se apresentar diferentes parâmetros como de especificidade, linearidade, intervalo, precisão, exatidão, sensibilidade, e limite de detecção e quantificação, que sejam adequados à análise, e que de ao analista critérios de decisão sobre a confiabilidade do analise realizado.

O Cetene, Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste, é um centro de pesquisa e prestação de serviços do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI/INT), criado para atender às demandas de atividades do nordeste. O Cetene possui um laboratório totalmente voltado para a

área de química analítica, a Central Analítica, onde dispõe de equipamentos analíticos de ponta que auxiliam no desenvolvimento de pesquisas internas e ao sistema multiusuário. Dentre os equipamentos disponibilizados na Central analítica, encontra-se um cromatógrafo gasoso acoplado a um detector por ionização de chama (GC-FID) que, devido à sua grande versatilidade, pode atender a ensaios de nível qualitativo e quantitativo. Para agregar maior confiabilidade para tais ensaios são requeridos testes de validação de método para determinação de melhores condições cromatográficas, baseadas em parâmetros pré-determinados, e a avaliação destes permitirá um ensaio confiável de compostos orgânicos. Desta forma, este trabalho teve como objetivo testar validações de métodos em GC-FID utilizando padrões de compostos orgânicos. Inicialmente, foi realizado um levantamento dos padrões de compostos que podem ser analisados por GC-FID já disponibilizados no CETENE, dos métodos cromatográficos e ensaios de preparo de amostra. O primeiro padrão escolhido para estudo foi o de óleo de soja autêntico, onde este passou por um preparo inicial para disponibilizar os ésteres metílicos de ácidos graxos presentes neste óleo para análise em método cromatográfico investigado. Foi possível determinar qualitativamente as espécies presentes na amostra por comparação com carta de referência do padrão e para análise quantitativa foi possível construir uma curva de calibração que, prosseguindo para posteriores testes, possibilitou a determinação de parâmetros essenciais para validação de métodos, tais como: linearidade, limite de detecção, limite de quantificação e seletividade. De acordo com os resultados obtidos através da resposta do equipamento é determinada a eficiência do método escolhido.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

No ano de 2017 foram validados 4 compostos orgânicos no cromatógrafo gasoso com detector de ionização de chama (CG-DIC) pertencentes à classe dos ácidos graxos a partir de duas metodologias analíticas. Os analitos foram os ácidos octanóico (C8:0), decanóico (C10:0), láurico (C12:0) e linolênico (C18:3). O ácido C18:3 foi analisado a partir de um padrão de óleo de soja (Soybean Oil Analytical Standard Sigma-Aldrich Ref. 47122) enquanto que os ácidos C8:0, C10:0 e C12:0 foram analisados por padrões puros e individuais (CAS 124-07-02, CAS 334-48-5 e CAS 143-07-07, respectivamente). O critério de escolha desses compostos foi a disponibilidade dos mesmos na Central Analítica e por pertencerem à classe de compostos orgânicos mais procurada pelo sistema multiusuário do equipamento CG-DIC.

As duas metodologias propostas encontram-se na Tabela 1. A partir da primeira metodologia foi validado o ácido C18:3 enquanto que a segunda permitiu a validação dos ácidos C8:0, C10:0 e C12:0. Por pertencerem à mesma classe de compostos orgânicos as condições cromatográficas são similares sendo a isoterma de análise e tempo de corrida os principais diferenciais. Estas duas condições foram adotadas após a otimização das metodologias como sendo o método mais eficiente e rápido para análise dos analitos.

Tabela 1. Parâmetros Cromatográficos das metodologias propostas para validação de ácidos graxos.

| Parâmetros Cromatográficos | Método 1 | Método 2 |
|----------------------------|--|--|
| Analitos | C18:3 | C8:0, C10:0 e C12:0 |
| Cromatógrafo | Modelo 7890A da Agilent Technologies | Modelo 7890A da Agilent Technologies |
| Coluna | DB-5MS (5% difenil 95% dimetilpolisiloxano) | DB-5MS (5% difenil 95% dimetilpolisiloxano) |
| Volume de injeção | 1 µL | 1 µL |
| Tipo de injeção | Split (1:100) | Split (1:100) |
| Forno | 200°C | 210°C |
| Temperatura de injeção | 300°C | 300°C |
| Temperatura de detecção | 300°C | 300°C |
| Gás de arraste | Hélio (1 mL.mL ⁻¹) | Hélio (1 mL.mL ⁻¹) |
| Gás de <i>make up</i> | Nitrogênio (25 mL.mL ⁻¹) | Nitrogênio (25 mL.mL ⁻¹) |
| Gases da chama | Ar sintético (400 mL.mL ⁻¹) e hidrogênio (30 mL.mL ⁻¹) | Ar sintético (400 mL.mL ⁻¹) e hidrogênio (30 mL.mL ⁻¹) |
| Tempo de corrida | 6,5 min | 15,0 min |

A partir da análise do padrão de óleo de soja foi possível obter o cromatograma apresentado na Figura 01. A análise qualitativa foi realizada através da comparação dos tempos de retenção com uma carta certificada que é disponibilizada pelo fabricante do padrão. O padrão de óleo de soja apresentou 5 picos de analitos, sendo o 4º deles (em ordem crescente de tempo de retenção) o correspondente ao C18:3.

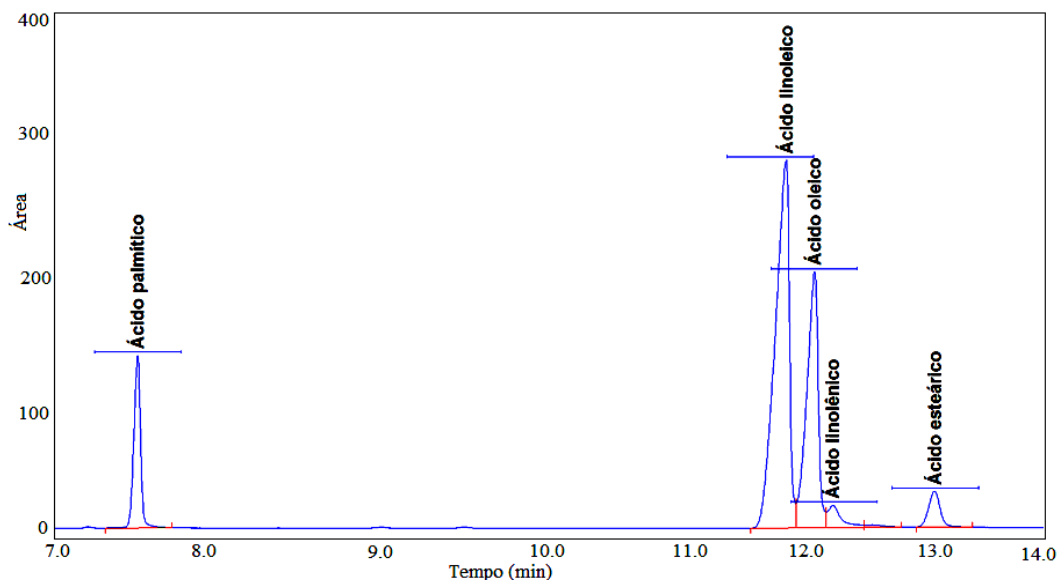


Figura 01. Cromatograma de análise de ésteres metílicos do óleo de soja onde foi identificado os ácidos: palmítico, linoleico, oleico, linolênico e esteárico, em ordem de tempo de retenção.

Os ácidos C8:0, C10:0 e C12:0 foram analisados pelo método 2, conforme descrito na Tabela 1, e para todos foram preparadas curvas de calibração. O instrumento integra a área abaixo de cada pico no cromatograma e essa informação pode ser convertida em concentração baseada na equação da reta obtida pela curva de calibração. A concentração de uma amostra desconhecida só poderá ser determinada se esta estiver dentro dos intervalos mínimo e máximo da curva analítica (Ribani et. al., 2004). As curvas analíticas dos ácidos encontram-se na Figura 2.

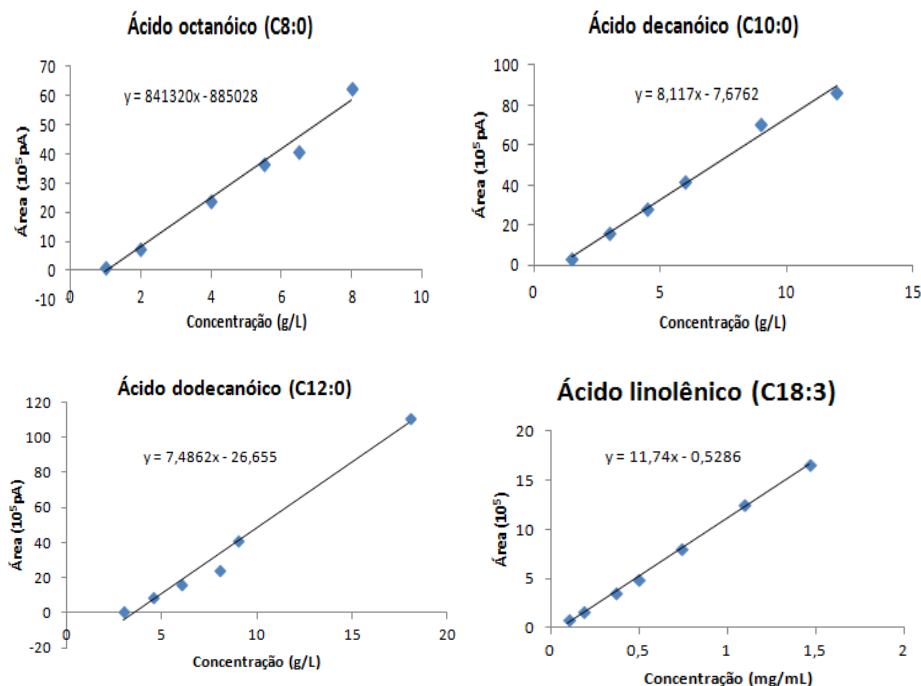


Figura 2. Curvas de calibração dos ácidos octanóico, decanóico, dodecanóico e linolênico com suas respectivas equações da reta.

A partir dos dados das curvas analíticas foram determinados outros parâmetros de validação através de uma planilha de validação, tais como: especificidade, seletividade, linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), intervalo, precisão e robustez (RIBEIRO et. al, 2008). Os valores obtidos destes parâmetros para os ácidos graxos encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros determinados nas validações dos ácidos graxos.

| Parâmetros de validação | Ácido octanóico (C8:0) | Ácido decanóico (C10:0) | Ácido dodecanóico (C12:0) | Ácido linolênico (C18:3) |
|--|------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Especificidade | SIM | SIM | SIM | SIM |
| Seletividade | SIM | SIM | SIM | SIM |
| Linearidade | 0,9917 | 0,9960 | 0,9928 | 0,9992 |
| Limite de detecção (mg.mL ⁻¹) | 1,65 | 3,62 | 5,11 | 0,03 |
| Limite de quantificação (mg.mL ⁻¹) | 1,92 | 4,35 | 5,93 | 0,08 |
| Intervalo (mg.mL ⁻¹) | 8,0 – 1,0 | 12,0 – 1,5 | 24,0 – 3,0 | 1,46 – 0,09 |
| Precisão | SIM | SIM | SIM | SIM |
| Robustez | SIM | SIM | SIM | SIM |

De acordo com os testes realizados, os métodos podem ser considerados específicos e seletivos para os ácidos graxos determinados pois podem identificar e separar analitos similares dentro de uma matriz complexa. A linearidade dos métodos foi comprovada para todos os ácidos graxos através dos coeficientes de correlação estarem de acordo com o exigido pelo INMETRO e ANVISA (mínimos de 0,90 e 0,99 respectivamente) (INMETRO, 2003; ANVISA, 2003). Os métodos

demonstraram ser precisos e robustos significando que as variações naturais que sofrem não afetam na determinação do resultado final.

Os limites de detecção e quantificação variam de acordo com a sensibilidade do equipamento, por isso, ambos ácidos graxos apresentaram valores de LD e LQ na ordem de mg.mL^{-1} . O detector se apresentou mais sensível para os ácidos C18:3 e C8:0 pois estes são detectáveis em quantidades inferiores aos demais ácidos, conforme Tabela 2. O LQ tendenciosamente é superior ao LD para um mesmo ácido graxo nas mesmas condições cromatográficas, pois o equipamento inicialmente detecta o analito para depois quantificar.

Até o presente momento foram realizados testes analíticos para validação de ácidos graxos. De acordo com Ribani et. al. (2004) o ensaio demonstrou um potencial para validação dos métodos cromatográficos de análise de acordo com parâmetros, por exemplo, a linearidade, limite de detecção e limite de quantificação. A ANVISA pede que o coeficiente de correlação seja de no mínimo 0.99 para atestar a linearidade do método e o resultado apresentou acima deste valor. Bem como os limites de detecção e quantificação que foram determinados com um grau de confiabilidade de 95% até 99,9% mostrando-se que o método é bastante eficiente para análise dos ácidos octanóico, decanóico, dodecanóico e linolênico por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama. O mesmo método cromatográfico ainda passará por avaliação e posterior validação de outros ácidos graxos pois a aplicabilidade dessa classe se compostos é de enorme procura para o sistema multiusuário da Central Analítica além de abranger diversas áreas dentro da biotecnologia, tais como a biologia, nutrição, fitoquímica, biodiesel, alimentos e outros.



MICROELETRÔNICA

TECNOLOGIA DA INFORMAÇÃO E COMUNICAÇÃO – SISTEMAS ELETRÔNICOS DE APLICAÇÃO ESPECÍFICA

Ao longo do ano de 2017 o CETENE atuou no desenvolvimento de quatro projetos da área de Microeletrônica. Toda produção em microeletrônica no Cetene é feita pelo Laboratório para Integração de Circuitos e Sistemas (Lincs). A missão do Lincs é realizar projetos de IP-cores e de sistemas eletrônicos em geral, tendo como premissa básica o desenvolvimento de produtos de qualidade, bem como o treinamento nas áreas de processo de desenvolvimento, síntese e técnicas de verificação funcional. Foram alcançados em 2017 os seguintes resultados:

T1 – Protótipo de leitor RFID – Khronus

Resumo do trabalho

Tem o objetivo de desenvolver um sistema de transmissão de informação por rádio frequência de baixo consumo de potência, bem como sua licença, uso e cessão para terceiros, a ser desenvolvido nos termos do Convênio anexo. O resultado do projeto é um sistema de transmissão e recepção de informação, prototipado em uma placa de circuito integrado e constituído de três subsistemas: um circuito integrado do modulador digital de sinais, o controlador do transmissor/receptor e os componentes comerciais RF de transmissão e recepção.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

Projeto financiado com recursos próprios da empresa Khronus Soluções e intermediado pela FUNDEP. Foi projetada, no LINCS, a placa mostrada na Figura 2 que inclui um FPGA (1) para programação e um chip analógico de radiofrequência. A placa contém 10 camadas e contém circuitos digitais e analógico (RF), além de conectores para interface com outros dispositivos.

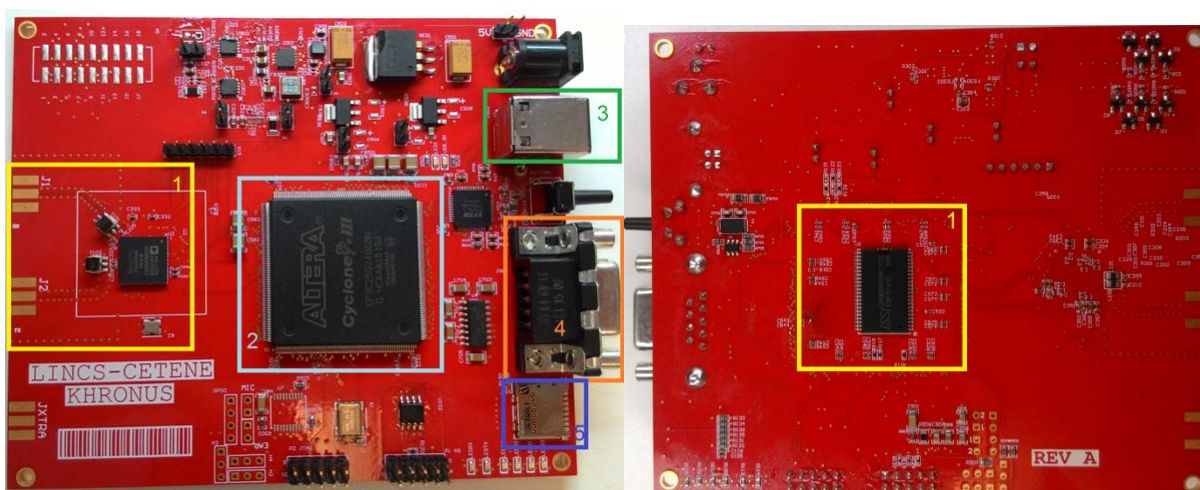


Figura 2 Esquerda: 1 Front-end Analógico, 2 FPGA, 3 USB Type B, 4 RS-232 DB9, 5 MicroSD. Direita: 256Kx16 SRAM

Relevância e os possíveis impactos da pesquisa

- Impactos do projeto para avanço do estado da arte na área do conhecimento,

- b) Contribuição do projeto para inovação de produtos, processos ou políticas públicas,
Produto nacional de um leitor para aplicações de Internet das Coisas e em setores de logística.
- c) Contribuição do projeto para formação de recursos humanos especializados,
- d) Contribuição do projeto para difusão e transferência do conhecimento

T2 - Desenvolvimento de módulo em hardware de detecção de pedestres baseado em CNN para sistemas de vigilância

Resumo do trabalho

O Projeto consiste no desenvolvimento de módulo para detecção de pedestres baseado em Redes Neurais Convolucionais (CNN). Este módulo faz parte de uma plataforma para aplicações de visão computacional para monitoramento de pedestres em câmeras de vigilância. Devido à necessidade de processamento em tempo real, faz-se necessário o processamento local da informação evitando perdas de qualidade de vídeo no processo de transmissão, compressão e armazenamento. Essa característica evita também a necessidade da construção de centrais de processamento remoto de grande capacidade de processamento e com banda de dados elevada. Fato que encareceria o projeto linearmente com o crescimento do número de câmeras instalado. Outro ponto fundamental na proposição desse projeto é a aceleração do processamento de vídeo através de implementação em hardware, permitindo o uso de técnicas baseadas em CNN computacionalmente intensivas em aplicações embarcadas. Não se pode esquecer que nesse cenário o baixo consumo de potência é um diferencial. O sistema pode não dispor de rede de alimentação disponível, necessitando ser alimentado por baterias. O sistema é composto de um módulo que faz interface com a câmera (recebendo o stream do vídeo), o módulo de detecção de pedestre e o módulo de comunicação com a central (recebendo os comandos e enviando o status do sistema).

O principal resultado do projeto proposto será o desenvolvimento de módulo para detecção de pedestres em hardware baseado em técnicas de inteligência computacional. O módulo proposto será integrado à plataforma de visão computacional para monitoramento de pedestres em sistemas de vigilância.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

O projeto está em fase inicial de desenvolvimento e não existem resultados para serem apresentados.

Relevância e os possíveis impactos da pesquisa

A principal inovação do produto proposto consiste na disponibilização de uma ferramenta tecnológica, até o momento não existente no mercado, capaz de potencializar o uso de câmeras de gravação e transmissão de imagens em áreas públicas ou privadas, substituindo de maneira muito mais eficiente e ostensiva o olhar do ser humano posicionado atrás dos monitores de vídeo, liberando-os para serem mais úteis na reação ao evento detectado.

Sob o ponto de vista tecnológico, a concepção de uma nova tecnologia baseada em processamento local inteligente de imagens para a identificação de eventos e segurança, baseada em dispositivos microeletrônicos embarcados, também inova na medida em que desconcentra e desonera os sistemas centrais de processamento de imagem, tornando as câmeras de vídeo mais inteligentes, considerando inclusive que o produto já poderá vir no futuro incorporado ao hardware das próprias câmeras.

Dentre os aspectos de inovação da solução, destacamos ainda:

- Possibilidade de processamento local de imagens, permitindo que haja uma atuação automática sem intervenção humana como, por exemplo, na apresentação de mensagens de alerta em caso de situação de risco;
- Possibilidade de que um número reduzido de profissionais fazendo o acompanhamento de uma grande quantidade de imagens uma vez que o sistema de processamento inteligente chamará a atenção para situações de risco que necessitem a atuação ou decisão humana;
- Aproveitamento da infra-estrutura já existente de câmeras de segurança e monitoramento, tendo como consequência a redução de investimento por parte do poder público para adquirir a solução;
- Processamento de imagens com controle automático de foco, melhorando a extração de informação das imagens;
- Rastreamento de pedestres e identificação de situações de risco.

É comum hoje no Brasil encontrarmos muitas cidades com as suas centrais de monitoramento instaladas, porém com baixa eficiência e retorno dos investimentos realizados, devido a necessidade de se ter uma estrutura de pessoal 24 horas para olhar e identificar possíveis situações de risco ou eventos de trânsito que ocorram. Para se ter uma idéia, um operador de uma central de monitoramento só consegue ter atenção eficiente em até no máximo 10 telas de vídeo com imagens diferentes, não conseguindo fazer esse trabalho de forma efetiva por mais de 6 horas consecutivas.

Como a solução proposta, as centrais de monitoramento poderão ser bem mais eficientes no que tange a detecção dos eventos e terá um custo de operação bastante reduzido, pois não necessitará de um número enorme de operadores para acompanhar as imagens da central de monitoramento. Os operadores precisarão somente acompanhar os alertas gerados pelos sistemas em caso de situação de risco.

A solução proposta trará um grande impacto no mercado de produtos para monitoramento de imagens, pois potencializará a comercialização de produtos na área de visão computacional diminuindo o tempo de desenvolvimento e reduzindo custos.

T3 - SELIDVAF - Sistema Embarcado de Localização Indoor para Deficientes Visuais em Ambientes Públicos

Resumo do trabalho

No Brasil, em 2010, existiam mais de 6,5 milhões de pessoas com deficiência visual severa, sendo 582 mil cegas e 6 milhões com baixa visão, segundo dados do Censo 2010 do IBGE. Esse montante corresponde a 3,46% da população brasileira.

Tendo como foco a dificuldade de se locomover de forma independente nas mais diversas

tarefas cotidianas, inúmeros fatores cooperam para a criação do abismo entre a pessoa com deficiência visual e o seu anseio por independência. Por exemplo, na locomoção, pode-se citar a dificuldade de explorar ambientes públicos como supermercados, shoppings e museus.

O sistema de localização mais utilizado hoje é o GPS- (Global Position System), e tem aplicações nas áreas comercial, civil e militar, estando presente na maioria dos smartphones. Porém, o GPS possui uma limitação de não ser eficaz em áreas internas. No caso de áreas interiores, ou até mesmo com uma cobertura vegetal densa, sua utilização fica bastante restrita.

O objetivo deste projeto é desenvolver um sistema que auxilie na localização de deficientes visuais em áreas internas através do mapeamento do ambiente, por meio de sinais de rede sem fio, técnicas de inteligência artificial e processamento embarcado. O sistema oferecerá auxílio na locomoção em ambientes fechados de grande circulação de pessoas, como shoppings através de feedback de comandos de voz. Isso resultará em melhoria na qualidade de vida dos usuários dando a eles acesso a um novo conjunto de possibilidades.

Resultados Esperados:

- Desenvolvimento e Integração de um hardware contendo sensores, unidade de processamento de baixa potência, bateria e software embarcado.
- Desenvolvimento de um aplicativo de celular que implementará a interface usuário-máquina de forma amigável para os deficientes visuais.
- Testes em usuários voluntários, avaliação dos resultados e adaptações da plataforma.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

O projeto está em fase inicial de desenvolvimento e não existem resultados para serem apresentados.

Relevância e os possíveis impactos da pesquisa

- 1) Como contribuição científica pretende-se investigar as técnicas de localização de pessoas em ambientes fechados, os custos de intervenções estruturais e custos do hardware. P pretende-se realizar a combinação de mais de uma dessas técnicas para se atingir um melhor desempenho.
- 2) Ao mesmo tempo, os requisitos não-funcionais, como o baixo tempo de resposta necessário, se apresentam desafios a serem vencidos através de aceleradores de hardware digital. Esses aceleradores ficarão disponíveis na biblioteca de componentes e podem ser reusados em outros projetos.
- 3) Os resultados desse projeto deverão ser publicados em jornais especializados na área de Ciência da Computação.
- 4) Outra grande contribuição deste projeto é a sua disponibilidade para uso pelas pessoas com deficiência visual com ganho em sua qualidade de vida.

T4 – Sistema para Monitoramento Remoto de Acumuladores Elétricos

Resumo do trabalho

Os acumuladores elétricos são utilizados desde sua invenção nas mais diversas áreas da economia. Eles são aplicados, por exemplo, em sistemas de telecomunicações, veículos para tração, carros e sistemas de geração, transmissão e distribuição de energia elétrica. Diversificada também são as condições de trabalho dos acumuladores, que podem operar nas condições adversas do trânsito nas cidades e estradas ou ficar armazenados em salas para receber e repassar carga para um sistema por eles alimentado.

O monitoramento e gerenciamento dos ciclos de carga e descarga dos acumuladores elétricos, bem como o monitoramento de suas condições operacionais, são essenciais para o bom aproveitamento de toda capacidade dos acumuladores disponíveis no mercado. Cargas excessivas ou descargas profundas podem comprometer a capacidade de reter energia dos acumuladores ou até mesmo os inutilizar. Por outro lado, um bom monitoramento e gerenciamento podem prolongar o tempo de vida do equipamento e aperfeiçoar a sua aplicação em uma determinada tarefa.

A quantidade e capacidade de armazenamento de energia, assim como o tempo de vida do acumulador, podem ser estimados através de medição de grandezas físicas como a temperatura, a corrente de carga e descarga e a tensão nos terminais do acumulador monitorado. Isso permite estimar quando o acumulador necessita ser carregado e quando o mesmo se apresenta pronto para uso. Um bom monitoramento das condições operacionais dos acumuladores pode aperfeiçoar seu uso em várias aplicações. Um sistema, por exemplo, que seja capaz de detectar quando a bateria estacionária está próxima de falhar ou até mesmo necessitando de carga pode evitar diversos transtornos para os proprietários de sistemas de telecomunicações. Em centros de distribuição de grandes lojas é necessário um grande número de acumuladores para alimentar as empilhadeiras utilizadas no depósito e busca de mercadorias. A capacidade de identificar quando os acumuladores estão prontos para o uso ou quando precisam ser recarregados é essencial para otimizar o trabalho das empilhadeiras e para economizar energia elétrica. Esse é mais um exemplo simples de como o monitoramento e gerenciamento das condições operacionais dos acumuladores pode causar grande impacto nas suas aplicações.

Dentro deste contexto, os pesquisadores envolvidos no projeto Sistema para Monitoramento de Acumuladores Elétricos estão desenvolvendo um sistema para monitoramento remoto de acumuladores elétricos utilizados em aplicações tracionárias. Tal sistema, quando finalizado, será capaz, através da medição de algumas grandezas físicas e a comparação com parâmetros pré-estabelecidos de funcionamento dos acumuladores monitorados, identificar suas capacidades operacionais e determinar, de forma aproximada, o seu tempo de vida. Além disso, o sistema em desenvolvimento será capaz de executar ações para evitar a degradação, por carga ou descarga excessiva, dos acumuladores monitorados e vai ser uma ferramenta para o gerenciamento da energia utilizada no carregamento das baterias monitoradas.

Resultados e conclusões obtidos até o momento

1. Desenvolvimento do primeiro protótipo do sistema tendo como base baterias automotivas. Este protótipo foi desenvolvido para monitorar a energia consumida em baterias automotivas e enviar os resultados do monitoramento para um aplicativo mobile

responsável por exibir a condição instantânea de operação da bateria.

2. Desenvolvimento de um protótipo para monitoramento da energia consumida e armazenada em baterias tracionárias. Neste protótipo novamente os resultados do monitoramento foram exibidos em um aplicativo mobile e nele eram apresentadas as condições operacionais de baterias tracionárias.
3. Desenvolvimento do terceiro protótipo do projeto. Tal protótipo monitora a energia consumida/armazenada em acumuladores elétricos utilizados em empilhadeiras e envia para a nuvem os dados coletados. Na nuvem os dados são tratados e apresentados, através de uma plataforma web, para o usuário final do sistema.
4. Desenvolvimento de um sistema de armazenamento e exibição dos dados enviados a partir das baterias tracionárias. Esse sistema possui um banco de dados e uma plataforma web para a exibição dos dados relevantes para o usuário do sistema.
5. Desenvolvimento de um circuito eletrônico próprio para a medição do nível de eletrólito presente nos acumuladores elétricos monitorados.
6. Implantação de um piloto do sistema no Centro de Distribuição da Acumuladores Moura S.A.

Relevância e os possíveis impactos da pesquisa

- a) Impactos do projeto para avanço do estado da arte na área do conhecimento; O projeto possui um potencial de impacto no desenvolvimento de novas metodologias para estimativa do estado de carga de uma bateria em funcionamento e no desenvolvimento de novas metodologias para determinação do estado de saúde das baterias monitoradas.
- b) Contribuição do projeto para inovação de produtos, processos ou políticas públicas; O produto final do projeto será um sistema inovador para o monitoramento de forma não invasiva de acumuladores elétricos.
- c) Contribuição do projeto para formação de recursos humanos especializados; Todos os envolvidos no projeto serão de alguma forma capacitados a desenvolver aplicações na área de IoT e estarão habilitados a trabalhar em novos projetos nesta área do conhecimento que nos próximos anos tem tendência a receber grandes investimentos tanto de instituições públicas quanto privadas.
- d) Contribuição do projeto para difusão e transferência do conhecimento; Os resultados do projeto serão confidenciais, no entanto existe a intenção de publicação dos resultados relacionados à estimativa do estado de carga e estado de saúde das baterias monitoradas.

III. RESUMO DOS RESULTADOS REFERENTES À PRESTAÇÃO DE SERVIÇO

A infraestrutura do CETENE atuou em sistema multiusuário em 2017 atendendo aproximadamente 21 mil análises. Este serviço foi realizado nos seguintes laboratórios:

- Central Analítica – CEAN;
- Laboratório de Fitoquímicos e Processos – LAFIP;
- Laboratório de Bioprocessos – LABIO;
- Laboratório Multiusuário de Nanotecnologia – LNANO; e
- Laboratório de Microscopia e Microanálise – LMM.

Em 2017 o número de análises superou em 14% o total realizado em 2016. Assim como no ano anterior, este número foi significativamente maior para as universidades (70% das análises totais) do que para os pesquisadores do CETENE (26,8%). A maior parte das análises se enquadrou no âmbito acadêmico, mais especificamente sob demanda da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), que atingiu 56,75% do total, seguido pelo CETENE, com 27,5%. Assim, 96,8% das análises foram realizadas para instituições do estado de Pernambuco.

A maior parte das análises do CETENE foi realizada na CEAN, com o 53% do total, seguida pelo LAFIP, LABIO e LNANO (12-17%). O LMM realizou apenas 2,62% das análises devido à manutenção de alguns equipamentos. Em relação à demanda estacional, foi observado um aumento no número de análises no mês de setembro-outubro. Considerando o número de análises por equipamento, com a inclusão do LABIO, este teve preponderância devido à alta demanda dos equipamentos lá instalados. Neste caso, cada solicitação de uso foi considerada como uma análise.

Os gráficos e tabelas a seguir ilustram algumas informações referentes à utilização da plataforma multiusuário do CETENE, permitindo visualizar a abrangência da utilização da infraestrutura em diferentes áreas e instituições.

| # | ATENDIMENTO TECNOLÓGICO | Nº |
|----|--|--------|
| 1 | TOTAL DE ANÁLISES | 21.036 |
| 2 | TOTAL DE AMOSTRAS ANALISADAS | 13.181 |
| 3 | TOTAL DE SOLICITAÇÕES | 2.500 |
| 4 | TOTAL DE PESQUISADORES ATENDIDOS | 171 |
| 5 | TOTAL DE ORIENTADORES ATENDIDOS | 125 |
| 6 | TOTAL DE LABORATÓRIOS ATENDIDOS | 130 |
| 7 | TIPOS DE AMOSTRAS ANALISADAS | 72 |
| 8 | TOTAL DE ÁREAS COMPREENDIDAS | 39 |
| 9 | TOTAL DE DEPARTAMENTOS | 43 |
| 10 | TOTAL DE EQUIPAMENTOS DISPONIBILIZADOS | 36 |
| 11 | TOTAL DE INSTITUIÇÕES | 19 |
| 12 | TOTAL DE TÉCNICOS RESPONSÁVEIS | 15 |
| 13 | TOTAL DE ESTADOS ATENDIDOS | 9 |
| 14 | TOTAL DE TIPOS DE INSTITUIÇÕES | 6 |
| 15 | TOTAL DE GRANDES ÁREAS | 7 |

Tabela 1. Principais indicadores do atendimento tecnológico em sistema multiusuário do CETENE nos laboratórios LAFIP, LABIO, LNANO, LMM e CEAN.

Conforme informado acima, as universidades foram o tipo de instituição que mais demandaram análises do CETENE no ano de 2017, conforme a Tabela 2.

| TIPO DE INSTITUIÇÃO | NUMERO DE ANÁLISES | % |
|-------------------------|--------------------|--------------|
| Universidade | 14.736 | 70,0 |
| CETENE | 5.620 | 26,8 |
| Instituição de Pesquisa | 463 | 2,2 |
| FACEPE | 114 | 0,5 |
| Empresa | 76 | 0,4 |
| Escola de referência | 27 | 0,1 |
| TOTAL | 21.036 | 100,0 |

Tabela 2. Número total de análises realizadas pelo CETENE por tipo de instituição.

O Gráfico 1, a seguir, ilustra a Tabela 2, exibindo o elevado número de participação das universidades na solicitação de amostras ao CETENE em 2017.

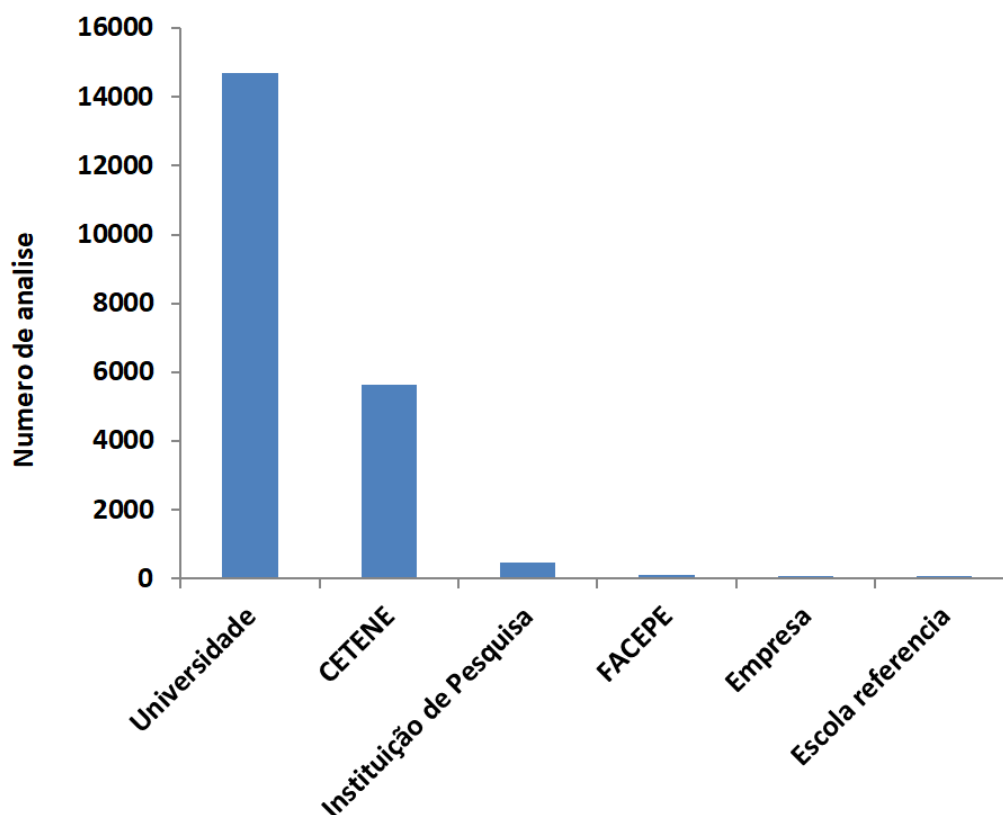


Gráfico 1. Número total de análises em sistema multiusuário do CETENE por tipo de instituição solicitante.

Quanto às áreas do conhecimento, o Gráfico 2 informa que as Ciências Biológicas predominaram no conjunto de solicitações de análises ao CETENE, com quase três mil ocorrências em 2017. Além desta grande área, destacam-se as áreas de Engenharia Química, Biocombustíveis, Química, Cromatografia Analítica, Engenharia de Materiais e Biotecnologia Industrial, com cerca de mil a 2,5 mil solicitações de análises cada uma.

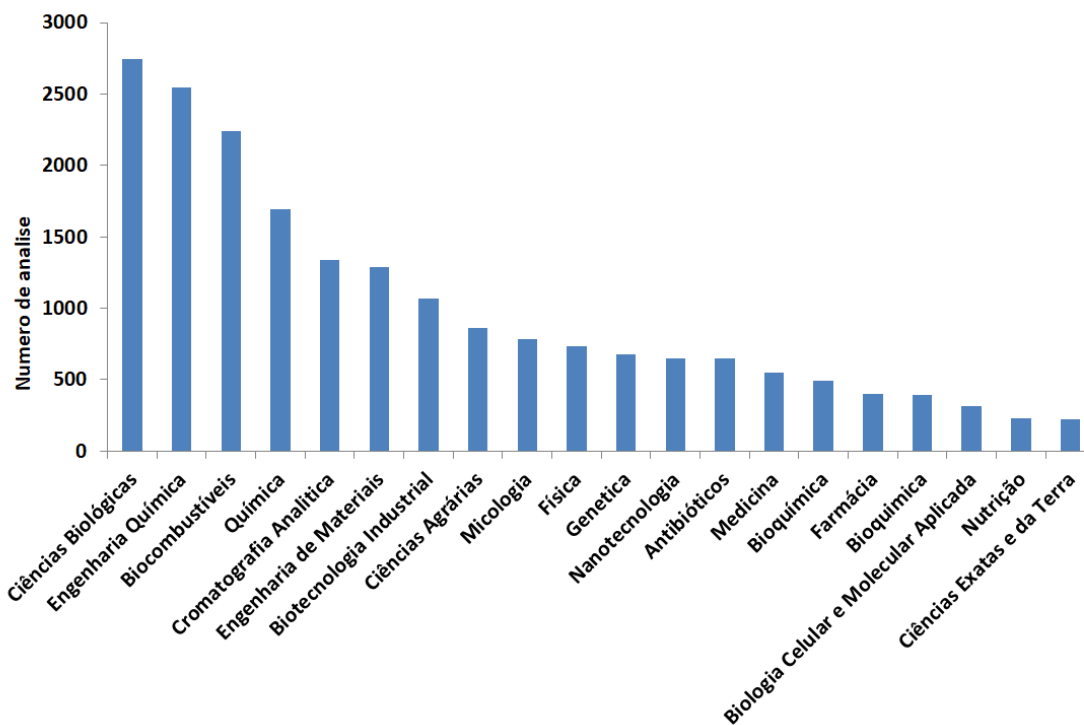


Gráfico 2. Número total de análises em sistema multiusuário do CETENE por área do conhecimento.

De acordo com o Gráfico 3, entre as instituições que solicitaram análises do CETENE no seu sistema multiusuário em 2017, a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) posiciona-se em primeiro lugar, com cerca de 12 mil pedidos atendidos. Em seguida, como solicitante externo, porém com demanda bem abaixo da UFPE, está a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), com cerca de mil análises atendidas.

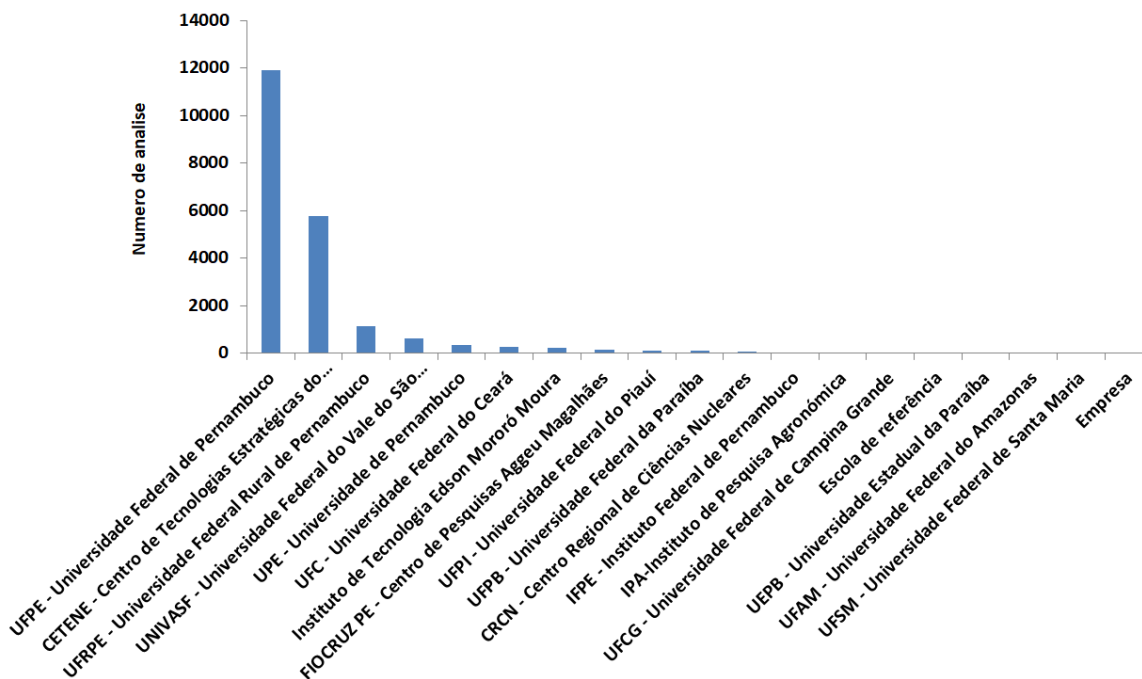


Gráfico 3. Número total de análises em sistema multiusuário do CETENE por instituição solicitante.

A Unidade da Federação que teve o maior número de análises atendidas pelo CETENE em 2017 foi Pernambuco, com 97% do total. Ceará, Paraíba e Piauí aparecem em seguida, conforme a Tabela 3, a seguir.

| ESTADO | NUMERO DE ANÁLISES | % |
|-------------------|--------------------|--------------|
| Pernambuco | 20.366 | 96,81 |
| Ceará | 279 | 1,33 |
| Paraíba | 168 | 0,80 |
| Piauí | 116 | 0,55 |
| Bahia | 47 | 0,22 |
| Alagoas | 24 | 0,11 |
| Amazonas | 18 | 0,09 |
| Universidade | 12 | 0,06 |
| Rio Grande do Sul | 6 | 0,03 |
| TOTAL | 21.036 | 100,0 |

Tabela 3. Número total de análises realizadas pelo CETENE por estado da Federação.

O Gráfico 4, abaixo, ilustra a Tabela 3, reforçando o predomínio do estado de Pernambuco entre os solicitantes de análises no sistema multiusuário do CETENE no ano de 2017.

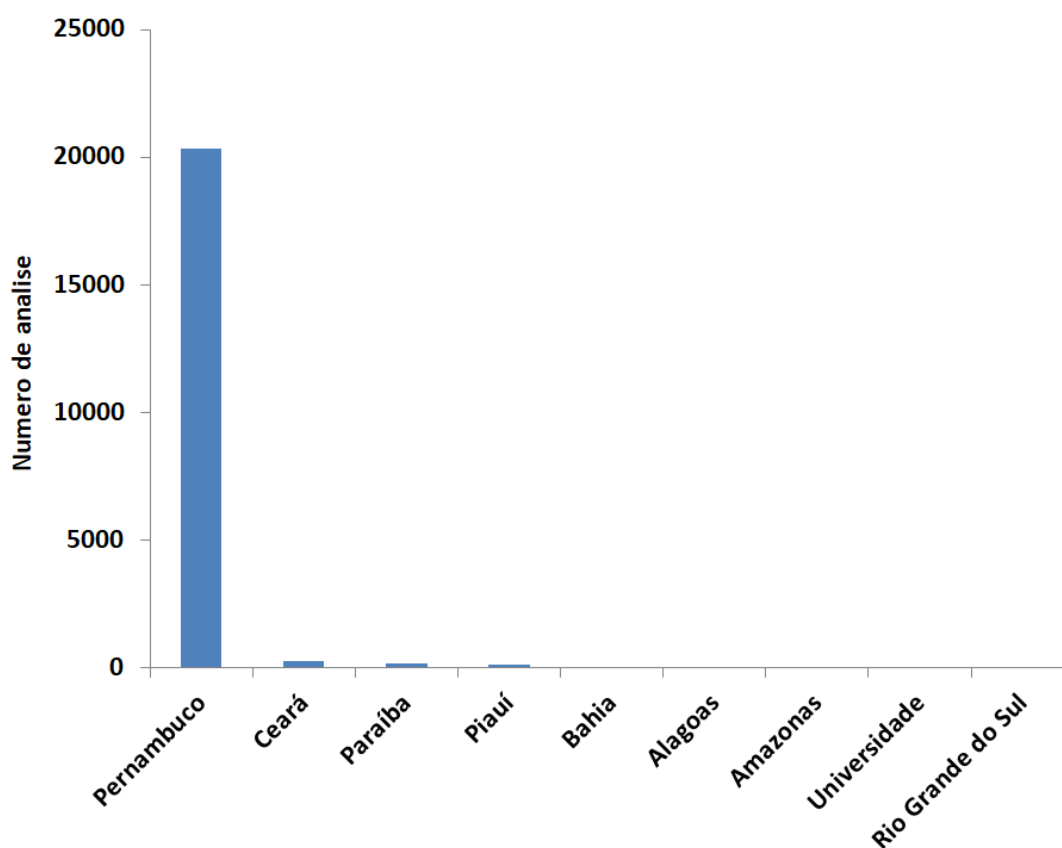


Gráfico 4. Número total de análises em sistema multiusuário do CETENE por estado da Federação.

Na infraestrutura laboratorial do CETENE, a Central Analítica (CEAN) se apresenta como o setor com maior demanda de análises no ano de 2017, atingindo 54% dos procedimentos atendidos, seguida pelo Laboratório de Fitoquímicos e Processos (LAFIP), com 18%, o Laboratório de Bioprocessos (LABIO), com 13% do total, segundo a Tabela 4.

| LABORATÓRIO/CETENE | NÚMERO DE ANÁLISES | % |
|--------------------|--------------------|--------------|
| CEAN | 11.326 | 53,92 |
| LAFIP | 3.771 | 17,95 |
| LABIO | 2.796 | 13,16 |
| LNANO | 2.592 | 12,34 |
| LMM | 551 | 2,62 |
| TOTAL | 21.036 | 100,0 |

Tabela 4. Número total de análises realizadas por laboratório do CETENE.

O desempenho dos laboratórios do CETENE na demanda por análises no sistema multiusuário da instituição em 2017 está exibido no Gráfico 5, a seguir.

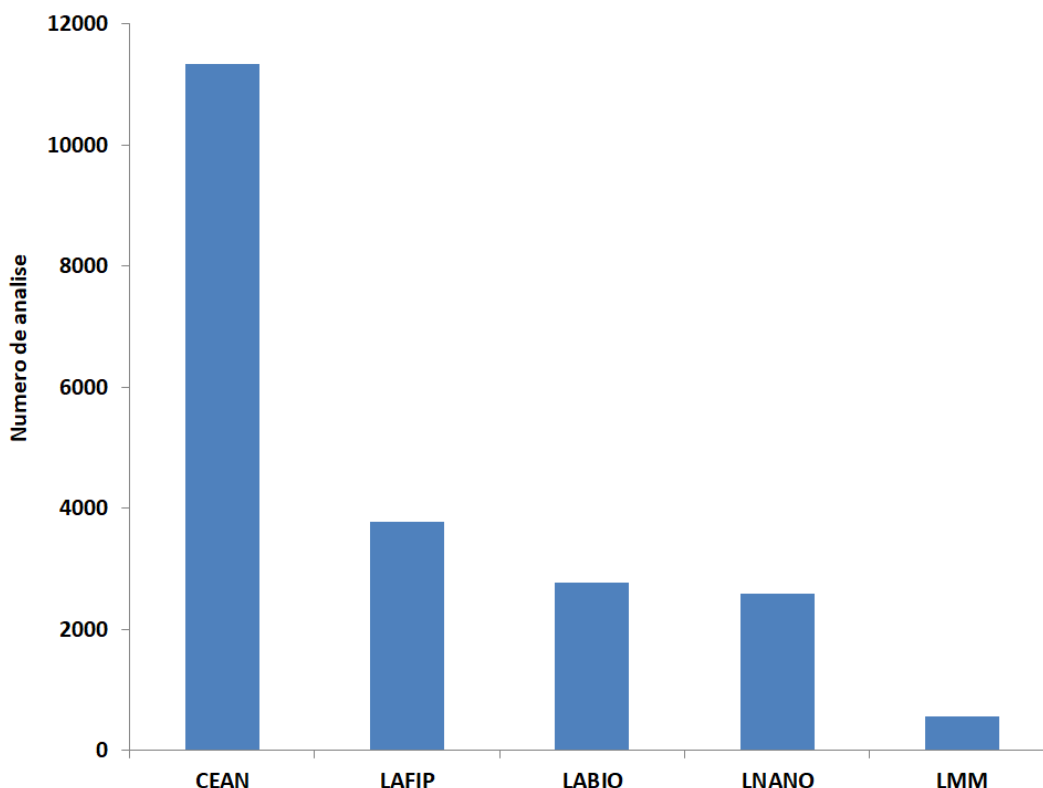


Gráfico 5. Número total de análises em sistema multiusuário por laboratório do CETENE.

Durante o ano de 2017 constatou-se, de acordo com o Gráfico 6, abaixo, que os meses de setembro e outubro apresentaram a maior ocorrência de análises realizadas pelo CETENE, conforme informado no início deste capítulo.

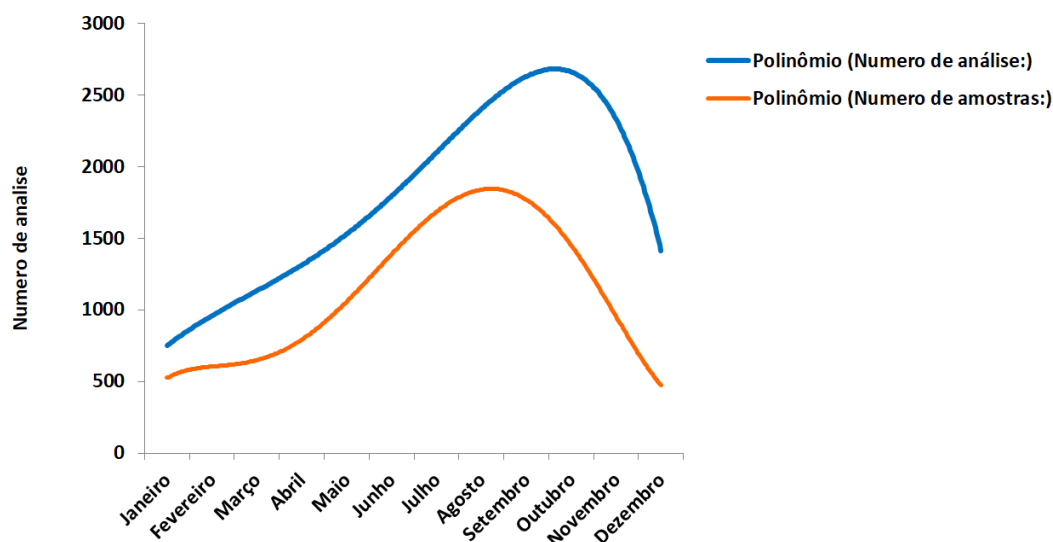


Gráfico 6. Número total de análises e amostras no sistema multiusuário do CETENE por mês/2017.

O Gráfico 7 informa que o equipamento mais utilizado em análises no sistema multiusuário do CETENE em 2017 foi o Espectrômetro de Massa MALDI-TOF, com cerca de 5 mil usos em procedimentos. Em segundo lugar no número de empregos em análises, esteve o Viscosímetro Stabinger, com mais de 3 mil ocorrências e o Cromatógrafo Líquido HPLC aparece em seguida, com cerca de 2,5 mil aplicações.

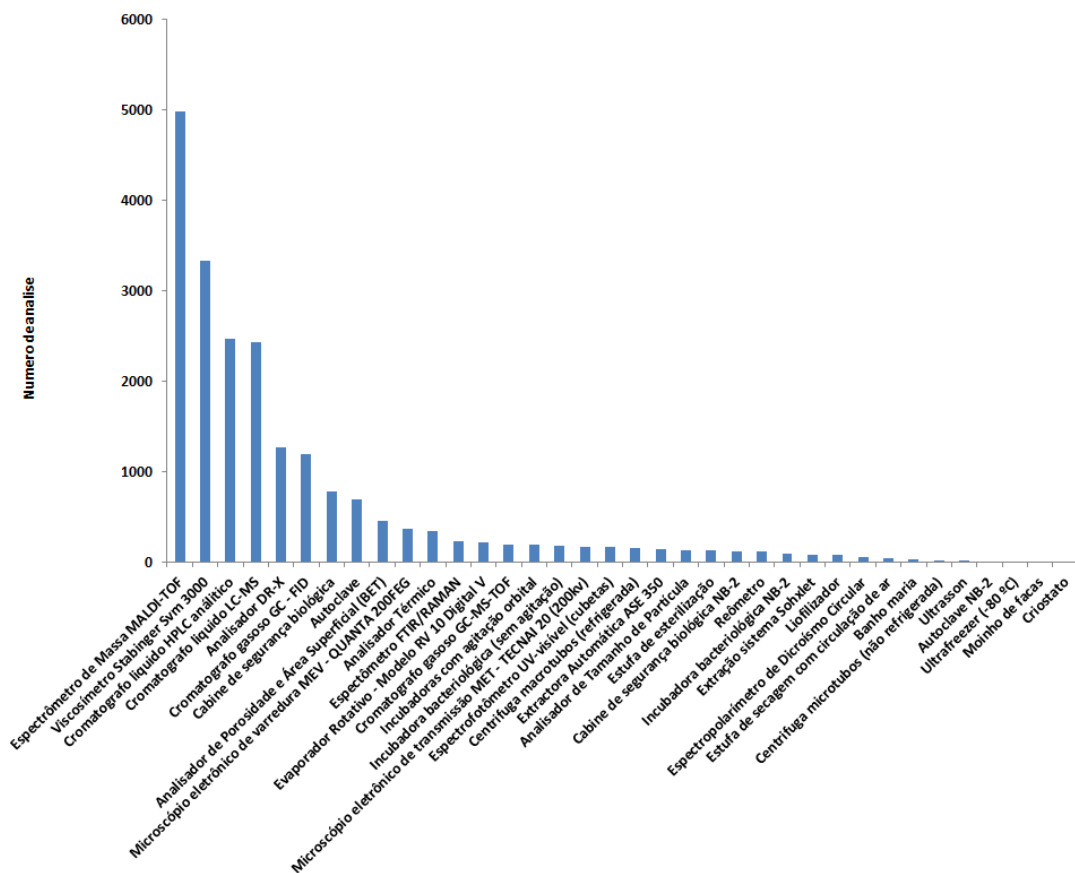


Gráfico 7. Número total de análises em sistema multiusuário do CETENE por equipamento.

Com mais de dois mil análises cada uma, a fermentação e os polímeros predominam nos tipos de amostras analisadas no ano de 2017 pelo CETENE, conforme exibe o Gráfico 8.

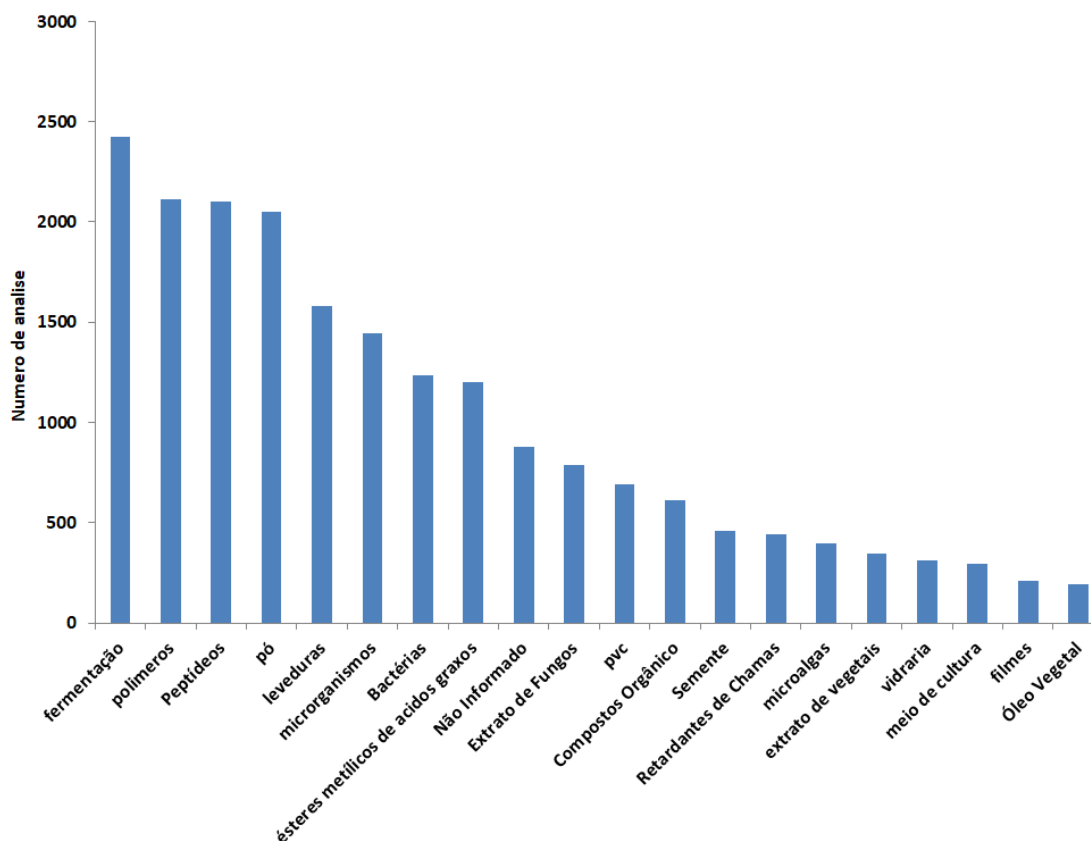


Gráfico 8. Número total de análises em sistema multiusuário do CETENE por tipo de amostra.

Finalmente, numa análise comparativa entre os anos de 2015 e 2017, a Tabela 5 e o Gráfico 9, a seguir, apresentam a evolução dos números totais referentes ao atendimento tecnológico do CETENE no período, com destaque para o sensível aumento no número de solicitações entre 2016 e 2017 e o crescimento do número total de análises realizadas entre 2015 e 2017, passando de 15,5 mil para 21 mil procedimentos.

| INDICADORES | 2015 | 2016 | 2017 | INCREMENTO 2016 PARA 2017 (%) |
|--|--------|--------|--------|-------------------------------|
| TOTAL DE SOLICITAÇÕES | 1.227 | 920 | 2500 | 128,77 |
| TOTAL DE AMOSTRAS ANALISADAS | 12.505 | 11.865 | 13.181 | 10,52 |
| TOTAL DE ANÁLISES | 15.555 | 18.387 | 21.036 | 14,24 |
| TOTAL DE ORIENTADORES ATENDIDOS | 208 | 158 | 125 | -15,87 |
| TOTAL DE PESQUISADORES ATENDIDOS | 365 | 287 | 171 | -31,78 |
| TOTAL DE LABORATÓRIOS ATENDIDOS | 193 | 158 | 130 | -14,51 |
| TOTAL DE DEPARTAMENTOS | 62 | 25 | 43 | 29,03 |
| TOTAL DE ESTADOS ATENDIDOS | 12 | 10 | 9 | -8,33 |
| TOTAL DE INSTITUIÇÕES | 30 | 35 | 19 | -45,71 |
| TOTAL DE EQUIPAMENTOS DISPONIBILIZADOS | 33 | 31 | 36 | 15,15 |
| TÉCNICOS RESPONSÁVEIS | 15 | 18 | 15 | -16,67 |
| TOTAL DE TIPOS DE INSTITUIÇÕES | 4 | 7 | 6 | -14,29 |
| TOTAL DE GRANDES ÁREAS | 6 | 13 | 7 | -46,15 |
| TIPOS DE AMOSTRAS ANALISADAS | 349 | 79 | 72 | -2,01 |

Tabela 5. Quadro geral comparativo do número total de análises realizadas pelo CETENE entre 2015 e 2017.

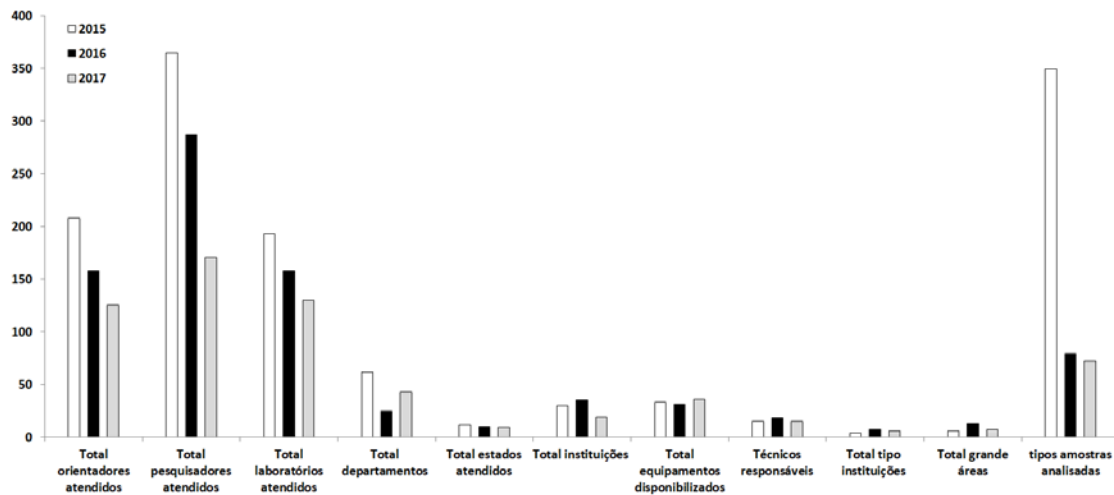


Gráfico 9. Comparação do número total de análises realizadas pelo CETENE entre 2015 e 2017.

Conforme demonstrado acima, a infraestrutura do CETENE, com laboratórios de referência, multiusuários, nas macroáreas de Biotecnologia, Microeletrônica e Nanotecnologia, atendeu em 2017 um expressivo número de pesquisadores, instituições e solicitações, cumprindo a sua missão estratégica de apoiar o desenvolvimento tecnológico e econômico da região Nordeste.

IV. OUTROS PROJETOS/PROGRAMAS DESENVOLVIDOS

1. PROJETOS EM COOPERAÇÃO INSTITUCIONAL

- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – **IBAMA**
 - Projeto: “Monitoramento de resíduos de agrotóxicos em amostras ambientais de regiões vulneráveis representativas das diferentes zonas climáticas do país”
 - Objetivo: Execução das coletas e análises necessárias para o monitoramento de agrotóxicos em amostras ambientais de água superficial, água da chuva e solo provenientes de 5 pontos de coleta localizados em 5 regiões vulneráveis mais um ponto de coleta em local escolhido como controle. As ações envolvem análise multirresíduo de agrotóxicos nas matrizes água superficial, água da chuva e solo e deve incluir necessariamente os compostos glifosato, atrazina, imidacloprido, fipronil, clotianidina e tiametoxam a fim de verificar a ocorrência de agrotóxicos e avaliar a sustentabilidade do ecossistema aquático.

- Universidade Federal de Alagoas – **UFAL**
 - Projeto: “Desenvolvimento tecnológico para estabelecimento de processos voltados a micropropagação de diferentes espécies de bambu”
 - Objetivo: Identificar a existência de potencial responsivo para micropropagação de mudas e definir as condições ideais para introdução e propagação in vitro em larga escala de bambu das espécies “Dendrocalamus giganteus”, “Phyllostachys pubescens” e “Guadua angustifolia” nos laboratórios de pesquisa em cultura de tecidos no CETENE e no Centro de Ciências Agrárias (CECA)-UFAL.

- Universidade Federal Rural de Pernambuco – **UFRPE**
 - Projeto: “Biotecnologia vegetal: melhoramento do cultivo de espécies vegetais em larga escala através da técnica de micropropagação”
 - Objetivo: Aprimorar o Programa de Melhoramento Genético voltado, dessa forma, à realização da multiplicação in vitro de materiais promissores e/ou cultivares em desenvolvimento, necessários para fins de pesquisa nessa área.

- Universidade Federal de Pernambuco – **UFPE**
 - Projeto: “Sensibilização de nanotubos de TiO₂ com nanopartículas de Bi₂S₃ via eletroquímica”
 - Objetivo: Desenvolver nanotubos de TiO₂ sensibilizados com o Bi₂S₃ de forma a absorver toda a faixa desde o UV até o infravermelho próximo, melhorando significativamente a eficiência dos nanotubos, utilizando uma nanopartícula de baixa toxicidade e garantindo a preparação do material através de rota sintética mais limpa.
 - Projeto: “Desenvolvimento de Rotas de Produção e Aplicações para o Grafite Expandido, Grafeno e Óxido de Grafeno”
 - Objetivo: Propor novas rotas, ou modificações das existentes, para a produção de Grafeno e Óxido de Grafeno, assim como a sua caracterização e propor aplicações para os produtos das reações, como adsorventes, fotocatalisadores, entre outras.

- Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – **MAPA**
 - Projeto: “Estudos e ensaios para o estabelecimento de especificações de referência de produtos fitossanitários destinados à produção orgânica e agroecológica pela Rede de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Vegetal e Animal – RRC”
 - Objetivo: Atender demanda de estudos e testes do Plano Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica – PLANAPO, por meio da Rede de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Vegetal e Animal – RRC, instituída pela Portaria Interministerial nº 1373, de 16 de dezembro de 2014.

2. PROGRAMAS

- Programa **FUTURAS CIENTISTAS** – visa a aumentar o interesse e a participação das mulheres nas diversas áreas de ciência e tecnologia, destinado a alunas e professoras do ENSINO MÉDIO de escolas públicas Estaduais da região metropolitana de Recife. Lançamento de nova edição.
- Programa **INOVA/CETENE** – objetiva selecionar parcerias em Projetos Tecnológicos de interesse de empresas públicas e privadas, associações sem fins lucrativos, centros de pesquisa e demais instituições brasileiras congêneres, cujas linhas de pesquisa e desenvolvimento sejam em áreas de competência do CETENE. Realização de parcerias com a iniciativa privada.
- Programa de Bolsas **FACEPE/CETENE** – objetiva disponibilizar a infraestrutura do CETENE para atender a demanda de pesquisa para bolsistas de outros estados/instituições. Esta iniciativa visa incrementar a descentralização da utilização da infraestrutura de pesquisa, montada em Pernambuco, para dar suporte ao desenvolvimento P&D na região NE do Brasil. Neste programa, a FACEPE seleciona candidatos que receberão bolsas para dar suporte a pesquisadores durante a estada em Pernambuco para realização das análises nos laboratórios do CETENE. Parte dos projetos aprovados foi agraciada com duas cotas de bolsas. O programa concedeu cerca de 31 bolsas (tabela abaixo) a 18 projetos. Tabela com os projetos e instituições que foram selecionadas para desenvolvimento de P&D no CETENE:

| Nº | TÍTULO DO PROJETO | BOLSISTA | INSTITUIÇÃO | INICIO | TÉRMINO |
|----|--|--------------------------------------|-------------|------------|------------|
| 1. | A transferência de tecnologias de gestão entre Organizações de Pesquisa Tecnológica (OPT): oportunizando a melhoria do modelo de laboratório multiusuário do Cetene por meio da experimentação com outras OPT dos sistema pernambucano de inovação | Amanda Tályta Barbosa de Albuquerque | IBRATEC | 01/05/2017 | 01/05/2018 |
| 2. | | Mariane Nunes Ferreira | UFPE | 01/05/2017 | 01/12/2017 |
| 3. | | Wemerson de Sousa Martins | UPE | 01/05/2017 | 01/05/2018 |
| 4. | Análise de compostos fenólicos de interesse enológico em vinhos comercializados em Pernambuco como impressão digital | Raiana Apolinário de Paula | UFPE | 01/04/2017 | 01/04/2018 |
| 5. | Bioprospeção de Leveduras oleaginosas industriais: fonte de biomassa alternativa com potencial na produção de biodiesel | Naiara Priscila Silva Reis | | 01/04/2017 | 01/04/2018 |
| 6. | | Tayane de Cássia Dias Mendes Silva | UFPE | 01/08/2017 | 01/07/2018 |
| 7. | Células solares nanoestruturadas sensibilizadas por corantes de alta eficiência | Paloma Bantim Barreto | UFPE | 01/05/2017 | 01/10/2018 |
| 8. | | Thaís Angelo de Farias | UFPE | 01/05/2017 | 01/10/2018 |

| Nº | TÍTULO DO PROJETO | BOLSISTA | INSTITUIÇÃO | INICIO | TÉRMINO |
|-----|--|--|-------------|------------|------------|
| 9. | Construção de reatores de microcanais TiO ₂ /PET e TiO ₂ /Latão para fotodegradação de têxtil | Letícia Bazante Vellozo de Sales | UFPE | 01/04/2017 | 01/10/2018 |
| 10. | Desenvolvimento de módulo em hardware de detecção de pedestres baseado em CNN para sistemas de vigilância | Lucas Geraldo Cilento | UFPE | 01/09/2017 | 01/09/2018 |
| 11. | | Severino José de Barros Júnior | UFPE | 01/10/2017 | 01/10/2018 |
| 12. | Estudo e avaliação de implementações abertas da arquitetura do conjunto de instruções RISC-V | André Luiz Damazio de Sales Júnior | UFPE | 01/11/2017 | 01/10/2018 |
| 13. | Micropropagação in vitro de <i>Guadua angustifolia</i> a partir de microestacas para produção massal de mudas | Gustavo Rubens de Castro Torres | CETENE | 01/09/2017 | 01/09/2018 |
| 14. | Nano e fitoinseticidas: inovação no combate a pragas agrícolas | Barbara Jose Rocha Cardoso de Lima | UFPE | 01/04/2017 | 01/04/2018 |
| 15. | | Elinaldo Francisco de Lima Bento | UFPE | 01/04/2017 | 01/10/2018 |
| 16. | Osseointegração e atividade antimicrobiana promovidas por superfície biomimética de nanotubos de titânio eletrodepositados com hidroxiapatita e revestidos com quitosana | Isabel Renata de Souza Arruda | CETENE | 01/10/2017 | 01/10/2018 |
| 17. | | Rhauane Almeida Galvao | UFPE | 01/08/2017 | 01/08/2018 |
| 18. | Otimização da geração de biogás através de biodigestão anaeróbia de resíduos sólidos e glicerina com monitoramento da emissão de poluentes através do uso de líquen | Linaldo Severino dos Santos | UFPE | 01/07/2017 | 01/07/2018 |
| 19. | | Sávio Henrique de Barros Holanda | UFPE | 01/05/2017 | 01/05/2018 |
| 20. | | Talita Vasconcelos de Lucena | UFPE | 01/05/2017 | 01/05/2018 |
| 21. | Produção biotecnológica de polihidroxialcanoatos por bactérias para síntese de polímeros biodegradáveis | Priscilla Barbosa Sales de Albuquerque | UFPE | 01/04/2017 | 01/06/2018 |
| 22. | Produção de exopolissacarídeo bacteriano e sua utilização para o desenvolvimento de novo protótipo terapêutico antineoplásico à base de vanádio | Ludhimilla Suelen Gomes Lins de Lima | UFRPE | 01/04/2017 | 01/06/2018 |
| 23. | Proposta, implementação e avaliação de um conjunto de instruções estendido da ISA RISC-V para reconhecimento de palavras em tempo real | Danilo de Castro Blera | UFRPE | 01/04/2017 | 01/10/2018 |
| 24. | | Diego Thiago Fernando de Sousa Marinho | UFRPE | 01/04/2017 | 01/10/2018 |
| 25. | Prospecção de antioxidantes em sementes de castanheira (<i>Bertholletia excelsa</i> Bonp.) (<i>Lecythidaceae</i>) | Leonardo Devilles Santos | UFPE | 01/04/2017 | 01/10/2018 |
| 26. | | Sofia Cabral Pinheiro | UFPE | 01/04/2017 | 01/10/2018 |
| 27. | Sistema embarcado de localização indoor para deficientes visuais em ambientes públicos | Diogo Moury Fernandes Izídio | UFPE | 01/05/2017 | 01/10/2018 |
| 28. | | Rodolfo Ivo Santos de Andrade | UFPE | 01/05/2017 | 01/10/2018 |
| 29. | Sistemas baseados em nanoestruturas para liberação controlada de fertilizantes | Yolice Patricia Moreno Ruiz | CETENE | 01/04/2017 | 01/10/2018 |
| 30. | Uso de resíduos de crustáceos como catalisador na síntese de biodiesel de segunda geração em micro e macro escala com óleo de fritura e etanol de manipueira | Izabelle Taynã Dourado de Siqueira | UFRPE | 01/06/2017 | 01/10/2018 |
| 31. | | José Roberto de Almeida Silva | UFRPE | 01/11/2017 | 01/10/2018 |

V. INDICADORES DE DESEMPENHO

| Indicadores | Unidade | Peso | Série Histórica (executado) | | | | | | Previsto 2017 | Executado 2017 |
|--|--------------------|------|-----------------------------|-------|-------|-------|--------|-------|---------------|----------------|
| | | | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | | |
| 01. IGPUB – Índice Geral de Publicações | NGPB/TNSE | 03 | 0,06 | 0,27 | 0,53 | 0,41 | 0,41 | 0,37 | 0,20 | 0,94 |
| 02. PPACI – Programas, Projetos e Ações de Cooperação Internacional | NPPCI | 01 | 01 | 01 | 01 | 01 | 01 | 00 | 00 | 00 |
| 03. PPACN – Programas, Projetos e Ações de Cooperação Nacional | NPPCN | 03 | 01 | 11 | 06 | 14 | 15 | 22 | 10 | 10 |
| 04. PcTD – Índice de Processos e Técnicas Desenvolvidas | NPTD/TNSE | 03 | 0,01 | 0,27 | 0,30 | 0,76 | 1,07 | 0,20 | 0,10 | 0,05 |
| 05. ICPC – Índice de Cumprimento de Prazos e Contratos | ICPC=CAP/NTC *100 | 02 | 08% | 67% | 68% | 91% | 70% | 100% | 100% | 100% |
| 06. IAT – Índice de Atendimento Tecnológico | NRD/TNSE | 03 | 1,02 | 1,28 | 1,99 | 12,83 | 16,14 | 35 | 20 | 309,01 |
| 07. IPIn – Índice de Propriedade Intelectual | NP/TNSE | 03 | 00 | 0,01 | 00 | 0,03 | 0,039 | 0,013 | 0,013 | 0,00 |
| Administrativo-Financeiros | | | | | | | | | | |
| 08. APD – Aplicação em Pesquisa e Desenvolvimento | [1-(DM/OCC)] *100 | 03 | 44% | 50% | 59% | 25,5% | 23,5% | 32,3% | 10% | 56% |
| 09. RRP – Relação entre Receita Própria e OCC | RPT/OCC *100 | 01 | 120% | 71% | 68% | 28,9% | 21,5% | 18,7% | 8% | 2% |
| 10. IEO – Índice de Execução Orçamentária | VOE/OCCe *100 | 03 | 98% | 99% | 96% | 97,7% | 99,1% | 99,4% | 100% | 65% |
| Recursos Humanos | | | | | | | | | | |
| 11. ICT – Índice de Investimento em Capacitação e Treinamento | (ACT/OCC) *100 | 02 | 0,03% | 0,05% | 0,03% | 0,01% | 0,015% | 0,01% | 00 | 0% |
| 12. PRB – Participação Relativa de Bolsistas | NTB/(NTB+NTS) *100 | 02 | 321 | 267 | 206 | 359 | 77,33 | 80 | 80 | 74% |
| 13. PRPT – Participação Relativa de Pessoal Terceirizado | NPT/(NPT+NTS) *100 | 01 | 252 | 311 | 369 | 341 | 72,13 | 73 | 73 | 66% |
| Inclusão Social | | | | | | | | | | |
| 14. IIS – Indicador de Inclusão Social | NPIS | 02 | 01 | 04 | 00 | 01 | 01 | 01 | 01 | 01 |

Legenda: NA = Não se aplica. / 2014 = Primeiro ano em que o CETENE firmou TCG isoladamente do INT.

1. PUBLICAÇÕES (IGPUB)

a) Artigo em periódico com ISSN

| # | NÚCLEO | TÍTULO | PERIÓDICO | VOLUME, NÚMERO E PÁGINAS |
|----|---------------|--|--|--|
| 1 | BIOTEC BRANCA | A new lectin isolated from <i>Calliandra surinamensis</i> leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibio film effect | International Journal of Biological Macromolecules | V. 98, P. 419-429 |
| 2 | BIOTEC BRANCA | Analysis of protein profile of tomato root infected with <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>lycopersici</i> | Genetics and Molecular Research | V. 16, N. 2, P. 1-10 |
| 3 | BIOTEC BRANCA | Biofilm formation by <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>viticola</i> affected by abiotic surfaces and culture media | Tropical Plant Pathology | V. 1, P. 1-6 |
| 4 | BIOTEC BRANCA | Diversity of Brazilian Fungi (Part 2) | Rodriguésia, Rio de Janeiro | 66, 4, 1033-1045 |
| 5 | BIOTEC BRANCA | Effects of Caatinga Plant Extracts in Planktonic Growth and Biofilm Formation in <i>Ralstonia solanacearum</i> | Microbial Ecology | V. 1, P. 1-7 |
| 6 | BIOTEC BRANCA | Full-term potential of goat <i>in vitro</i> produced embryos after different cryopreservation methods | Cryobiology | V. XXX, P. 1-5, 2017 |
| 7 | BIOTEC BRANCA | <i>Microgramma vacciniifolia</i> (Polypodiaceae) fronds contain a multifunctional lectin with immunomodulatory properties on human cells | International Journal of Biological Macromolecules | V. 103, P. 36-46 |
| 8 | BIOTEC BRANCA | Perspectives on the production, structural characteristics and potential applications of bioplastics derived from <i>Polyhydroxyalkanoates</i> | International Journal of Biological Macromolecules | V. 1, P. 1-32 |
| 9 | BIOTEC VERDE | Can γ -radiation modulate hemagglutinating and anticoagulant activities of PpyLL, a lectin from <i>Phthirusa pyrifolia</i> ? | International Journal of Biological Macromolecules | V. 104, P. 125-136 |
| 10 | BIOTEC VERDE | Lectin-carbohydrate interactions: implications for the development of new anticancer agents | Current Medicinal Chemistry | V. 24, P. 1 |
| 11 | BIOTEC VERDE | Mendel e suas exceções à luz das ômicas e da biologia de sistemas | Mendel - Das Leis da Hereditariedade à Engenharia Genética | 1 ED. BRASÍLIA: EMBRAPA, P. 301-371. |
| 12 | BIOTEC VERDE | Physical and chemical methods for contaminant control during the <i>in vitro</i> introduction and establishment of <i>Bambusa vulgaris</i> Schrad. ex J. C. Wendl. | Científica, Jaboticabal | V. 45, N. 4, P. 368-378, Novembro/2017 |
| 13 | BIOTEC | Avaliação do potencial de uso do óleo de fritura dos restaurantes da Universidade Federal de Pernambuco para produção de biodiesel | Arrudea, Jardim Botânico do Recife | V. 3, N. 1-2, P. 41-50 |
| 14 | NANO | AGNPS: The new allies against <i>Streptococcus mutans</i> Biofilm - a pilot clinical trial and microbiological assay | Brazilian Dental Journal | V. 28(4): 417-422 |
| 15 | NANO | Antimicrobial activity of the colloids with different size and shapes of silver nanoparticles against <i>Streptococcus mutans</i> | Research on Chemical Intermediates | V. 43, P. 5889-5899 |
| 16 | NANO | Characterization and application of self-assembled thin films of <i>Polyelectrolytes</i> /TiO ₂ /CdSe for hydrogen production | International Journal of Hydrogen Energy | V. 42, P. 16568 - 16578 |
| 17 | NANO | Control of properties of nanocomposites bio-based collagen and cellulose nanocrystals | Cellulose | V. 24, P. 1731 - 1744 |

| # | NÚCLEO | TÍTULO | PERIÓDICO | VOLUME, NÚMERO E PÁGINAS |
|----|--------|--|---|---|
| 18 | NANO | Dispersão e consolidação de zircônia dopada com WO _x a partir do tungstato de zircônio e trietanolamina em meio aquoso | Cerâmica | V. 63, P. 11 – 21 |
| 19 | NANO | Dispersão e consolidação de zircônia dopada com WO _x a partir do tungstato de zircônio e trietanolamina em meio aquoso | Cerâmica | V.63, P.11 – 21, 2017 |
| 20 | NANO | Economically attractive route for the preparation of high quality magnetic nanoparticles by the thermal decomposition of iron (III) acetylacetonate | Nanotechnology | V. 28, P. 115603 – 115611 |
| 21 | NANO | Factorial design applied for evaluation of effect of interactions among precursors on the thermal decomposition temperature of Montmorillonite/Poly (Methyl Methacrylate) Nanocomposites | Journal of The Brazilian Chemical Society | V. 1, P. 1 |
| 22 | NANO | Functionalization of titanium dioxide nanotubes with biomolecules for biomedical applications | Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications | V. 1, P. 1 – 15 |
| 23 | NANO | Nanoparticle-assisted Polymerase Chain Reaction (NanoPCR): Optimization of PCR detection of <i>Leifsonia xyli</i> subsp. <i>xyli</i> by the addition of nanoparticles | Journal of Applied and Advanced Research | V. 2, P. 13 – 20 |
| 24 | NANO | Photochemical hydrogen production of Ta ₂ O ₅ Nanotubes Decorated with NiO Nanoparticles by modified sputtering deposition | Journal of Physical Chemistry C. | V.121, P. 5855 – 5863 |
| 25 | NANO | Silver nanoparticles in dentistry | Dental Materials | V. 33, ISSUE 10, OCTOBER 2017, P. 1110-1126 |
| 26 | NANO | <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Staphylococcus epidermidis</i> infections on implants | Journal of Hospital Infection | V.1, P.1 |

b) Artigos completos em congresso nacional

| # | NÚCLEO | TÍTULO | EVENTO | LOCAL |
|---|---------------|--|---|------------------|
| 1 | BIOTEC BRANCA | Biochemical characterization of endophytic bacteria isolated from bamboo (<i>Bambusa vulgaris</i>) | 29º Congresso Brasileiro de Microbiologia | Foz do Iguaçu/PR |
| 2 | BIOTEC BRANCA | Contribuição de um projeto científico no ensino médio como facilitador da aprendizagem de bioquímica | 4º Congresso de Licenciatura em Biologia | Recife/PE |
| 3 | BIOTEC BRANCA | Phytochemical study and antimicrobial activities of extract ethyl acetate from <i>Cleome spinosa</i> JACQ | 29º Congresso Brasileiro de Microbiologia | Foz do Iguaçu/PR |
| 4 | BIOTEC BRANCA | Solubilização de fosfato por fungos isolados da rizosfera de cana-de-açúcar (<i>Saccharum</i> spp. L.) | SEMBIO | Paulo Afonso/BA |
| 5 | BIOTEC VERDE | Análise qualitativa do comportamento de plântulas decana de açúcar de diferentes variedades utilizando a metodologia de imersão temporária. | I Colóquio P&D – CETENE | Recife/PE |
| 6 | BIOTEC VERDE | Avaliação do cultivo <i>in vitro</i> de meristemas de cana-de-açúcar associado a antibióticos, visando a obtenção de plantas livre de <i>Leifsonia xyli</i> subsp. <i>xyli</i> . | I Colóquio P&D – CETENE | Recife/PE |
| 7 | BIOTEC VERDE | Biodiversity of fungal from cheese industry in the Pernambuco state | 29º Congresso Brasileiro de Microbiologia | Foz do Iguaçu/PR |
| 8 | BIOTEC VERDE | Biofábrica: gerenciamento da rotina e da tecnologia | I Colóquio P&D – CETENE | Recife/PE |

| # | NÚCLEO | TÍTULO | EVENTO | LOCAL |
|----|--------------|--|---|------------------|
| 9 | BIOTEC VERDE | Biometria de mudas de cana de açúcar micropropagada durante aclimatização em cultivo protegido com filme plástico suncover av blue® e escalonamento de período | I Colóquio P&D – CETENE | Recife/PE |
| 10 | BIOTEC VERDE | Bioprospecção de leveduras oleaginosas do agreste Pernambucano: síntese de lipídios para a produção de biodiesel a partir do resíduo glicérol bruto | XVII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE | Recife/PE |
| 11 | BIOTEC VERDE | Controle da ação microbiana sobre plântulas micropropagadas de cana-de-açúcar em uma Biofábrica | I Colóquio P&D – CETENE | Recife/PE |
| 12 | BIOTEC VERDE | Efeito da adição de N ⁶ -benzilaminopurina em meio de cultura suplementado com ácido 2,4-diclorofenoxiacético sobre a multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Guadua angustifolia</i> Kunth | Congresso de Engenharia Ambiental do Sul do Brasil | Lages/SC |
| 13 | BIOTEC VERDE | Índices biométricos da variedade RB86 3129 de cana-de-açúcar micropropagada pós aclimatização em cultivo protegido com relação ao cultivo convencional em viveiro primário | XVI JEPEX – Inovação Tecnológica em Ensino Pesquisa e Extensão | Recife/PE |
| 14 | BIOTEC VERDE | Biometria de mudas de cana-de-açúcar micropropagada durante aclimatização em cultivo protegido com filme plástico suncover av blue® e escalonamento de período | I Colóquio P&D – CETENE | Recife/PE |
| 15 | BIOTEC VERDE | Multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Guadua angustifolia</i> Kunth. em meio de cultura suplementado com N ⁶ -benzilaminopurina de forma isolada ou conjunta com ácido 2,4-diclorofenoxiacético | Congresso de Engenharia Ambiental do Sul do Brasil | Lages/SC |
| 16 | BIOTEC VERDE | Qualitative analysis of the behavior of the seedlings of sugar cane of different varieties using the method of temporary immersion | I Colóquio P&D – CETENE | Recife/PE |
| 17 | BIOTEC VERDE | Utilização da técnica de NanoPCR para diagnose dos patógenos de cana-de-açúcar <i>Leifsonia xyli</i> subsp. <i>Xyli</i> E <i>Xanthomonas albilineans</i> em amostras puras e mistas | I Colóquio P&D – CETENE | Recife/PE |
| 18 | NANO | A facile way to obtain TiO ₂ gold polyaniline nanocomposites and its photocatalytic activity | XVI MRS Meeting – SBPMAT | Gramado/RD |
| 19 | NANO | Ação do óleo essencial de <i>Tetragastris catuaba</i> (Burseraceae) sobre a produção de biofilmes bacterianos formados por <i>Listeria monocytogenes</i> e <i>Enterococcus faecalis</i> | 9 Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais | Caxias do Sul/RS |
| 20 | NANO | Assembly of nanostructured systems containing gold and TiO ₂ I | IUPAC 2017 | São Paulo/SP |
| 21 | NANO | Catalisadores de Co-Ru/SiO ₂ aplicados a síntese de Fischer-Tropsch: comparação entre sistemas em po e estruturado | 19 Congresso Brasileiro de Catalise e IX Congresso Mercosul de Catalise | Ouro Preto/MG |
| 22 | NANO | Charge transfer interactions in TiO ₂ /CDS and TiO ₂ /Au photoanode systems for hydrogen generation by solar energy | IUPAC 2017 | São Paulo/SP |
| 23 | NANO | Efeito da alta polarização anódica em filmes passivos de aços inoxidáveis superduplex | II Mostra de Engenharia de Materiais da UFPE – II MEMU | Recife/PE |
| 24 | NANO | Efeito de líquidos iônicos no desempenho de células fotovoltaicas sensibilizadas por corantes | II Mostra de Engenharia de Materiais da UFPE – II MEMU | Recife/PE |
| 25 | NANO | Estudo comparativo de nanocomposites a base de TiO ₂ para geração de hidrogênio a partir de energia solar | II Mostra de Engenharia de Materiais da UFPE – II MEMU | Recife/PE |

| # | NÚCLEO | TÍTULO | EVENTO | LOCAL |
|----|--------|--|---|---------------|
| 26 | NANO | Estudos de variáveis de preparação de filmes catalíticos de TiO ₂ suportados em pet para fotodegradação do corante Reactive Black 5 | 19 Congresso Brasileiro de Catalise e IX Congresso Mercosul de Catalise | Ouro Preto/MG |
| 27 | NANO | Impact of electron transfer on photocatalyst TiO ₂ /BiVO ₄ sensitized with au nanoparticles system for Z Scheme Hydrogen generation | IUPAC 2017 | São Paulo/SP |
| 28 | NANO | <i>In situ</i> electrochemical sensitization of Bi ₂ S ₃ QDS on TiO ₂ nanotubes films with enhanced visible light photoelectrochemical conversion | XVI SBPMAT | Gramado/RS |
| 29 | NANO | Influence of new ionic liquid BTDCVI mixed iodide electrolyte on the photovoltaic performance of dye sensitized solar cells | XVI SBPMAT | Gramado/RS |
| 30 | NANO | Micro-raman spectroscopy investigations of chitosan-coated silver nanoparticles on dental enamel remineralization process | 46th World Chemistry Congress – IUPAC 2017 | São Paulo/SP |
| 31 | NANO | Montagem de sistemas nanoestruturados contendo TiO ₂ - Au para produção de hidrogênio | II Mostra de Engenharia de Materiais da UFPE – II MEMU | Recife/PE |
| 32 | NANO | Nanoestruturado de Tinb2O7: controle da área superficial específica e avaliação dos efeitos sobre a fotogeração de H ₂ | 19 Congresso Brasileiro de Catalise e IX Congresso Mercosul de Catalise | Ouro Preto/MG |
| 33 | NANO | Preparação e caracterização de creme dental contendo nanopartículas de prata para a prevenção de lesões de cárie | 28º CONIC/UFPE | Recife/PE |
| 34 | NANO | Síntese de nanoestrutura de pentóxido de tantalum em diferentes temperaturas | II Mostra de Engenharia de Materiais da UFPE – II MEMU | Recife/PE |
| 35 | NANO | Síntese de nanopartículas core-shell ouro polianilina | II Mostra de Engenharia de Materiais da UFPE – II MEMU | Recife/PE |
| 36 | NANO | Synthesis of films of chitosan and carbon nanotubes decorated with polystyrene and coumarin 6 nanoparticles | 46th World Chemistry Congress, 40ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química and IUPAC 49th General Assembly | São Paulo/PE |
| 37 | NANO | TiO ₂ gold polyaniline nanocomposites: fabrication and photocatalytic activity | II Mostra de Engenharia de Materiais da UFPE – II MEMU | Recife/PE |
| 38 | NANO | TiO ₂ nanotubes sensitized with nanoparticles of ag and au by water splitting method for H ₂ production | XVI MRS Meeting – SBPMAT | Gramado/RS |

2. COOPERAÇÕES INICIADAS/VIGENTES EM 2017

| # | NÚCLEO | PARCEIRO | TÍTULO | ESPÉCIE |
|---|--------|--|---|---|
| 1 | ADM | Escola Técnica Professor Agamenon Magalhães – ETEPAM | Promover incentivar e facilitar a integração entre as instituições nas áreas de suas competências | Acordo de Cooperação Técnica e Científica |
| 2 | ADM | Escola Técnica Professor Agamenon Magalhães – ETEPAM | Programa de estágio dirigido a estudantes de nível médio da ETEPAM | Termo de Ajuste nº 01/2017 |
| 3 | ADM | Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA | Programa de estágio dirigido a estudantes de graduação | Convênio |
| 4 | ADM | Universidade Federal da Paraíba – UFPB | Promover incentivar e facilitar a integração entre as instituições nas áreas de suas competências | Acordo de Cooperação Técnica e Científica |

| # | NÚCLEO | PARCEIRO | TÍTULO | ESPÉCIE |
|----|---------------------------------|--|--|--|
| 5 | BIOTEC/ LAPAB | Universidade Federal da Paraíba – UFPB | Sequenciamento da produção de bambu in situ a partir de mudas geradas pelos processos de micropropagação desenvolvidos no CETENE | Termo de Ajuste nº 01/2017 |
| 6 | BIOTEC/ LAPAB | Universidade Federal de Alagoas – UFAL | Desenvolvimento tecnológico para estabelecimento de processos voltados a micropropagação de diferentes espécies de bambu | Convênio nº 01/2016 |
| 7 | ADM | Universidade Federal de Pernambuco – UFPE | Programa de estágio dirigido a estudantes de ensino superior e de pós-graduação | Termo de Ajuste nº 01/2017 |
| 8 | ADM | Centro Regional de Ciências Nucleares – CRCN | Descentralização de recursos para custeamento das despesas do Campus MCTI | Termo de Execução Descentralizada – TED nº 01/2017 |
| 9 | BIOTEC/ CENTRAL ANALÍTICA | Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa – FUNDEP | Monitoramento e avaliação da presença de resíduos de agrotóxicos em produtos orgânicos colocados no mercado brasileiro | Contrato de Prestação de Serviço nº 04/2016 – FUNDEP |
| 10 | BIOTEC/ CENTRAL ANALÍTICA | Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa – FUNDEP | Monitoramento de resíduos de agrotóxicos em amostras ambientais de regiões vulneráveis representativas das diferentes zonas climáticas do país | Contrato de Prestação de Serviços nº 01/2017 – IBAMA |

3. PROTOTIPAGEM

| # | NÚCLEO | TÍTULO |
|---|--------|---|
| 1 | LINCS | Sistema para Monitoramento Remoto de Acumuladores Elétricos |
| 2 | LINCS | RFBiogrowing |

4. PROCESSOS E TÉCNICAS DESENVOLVIDAS

| # | NÚCLEO | TÍTULO DO POP |
|----|--------------|---|
| 1 | BIOTEC VERDE | Tratamento térmico e químico de palmitos de cana de açúcar |
| 2 | BIOTEC VERDE | Coleta de palmitos de cana de açúcar |
| 3 | BIOTEC VERDE | Matrizeiro in vivo |
| 4 | BIOTEC VERDE | Aclimatização de plântulas de cana-de-açúcar |
| 5 | BIOTEC VERDE | Introdução de bandeiras |
| 6 | BIOTEC VERDE | Coleta de campo de cana de açúcar |
| 7 | BIOTEC VERDE | Utilização da estufa para fins de pesquisa |
| 8 | BIOTEC VERDE | Aplicação de defensivos e fertilizantes |
| 9 | BIOTEC VERDE | Coleta de dados do pluviômetro |
| 10 | BIOTEC VERDE | Limpeza das estufas |
| 11 | BIOTEC VERDE | Repicagem de mudas de cana de açúcar na estufa |
| 12 | BIOTEC VERDE | Sistema de irrigação |
| 13 | BIOTEC VERDE | Poda |
| 14 | BIOTEC VERDE | Limpeza dos fluxos laminares |
| 15 | BIOTEC VERDE | Descontaminação de material na autoclave |
| 16 | BIOTEC VERDE | Esterilização de material na autoclave |
| 17 | BIOTEC VERDE | Esterilização de material na estufa |
| 18 | BIOTEC VERDE | Limpeza do laboratório de produção |
| 19 | BIOTEC VERDE | Solução de HCl e NaOH pHmetro |
| 20 | BIOTEC VERDE | Preparação de álcool 70% e hipoclorito de sódio em diversas concentrações |
| 21 | BIOTEC VERDE | Esterilização química dos BIT |
| 22 | BIOTEC VERDE | Procedimento máquina de lavar potes |
| 23 | BIOTEC VERDE | Limpeza máquina de lavar potes |
| 24 | BIOTEC VERDE | Preparação conjunto de mangueira BIT |

| # | NÚCLEO | TÍTULO DO POP |
|----|---------------|--|
| 25 | BIOTEC BRANCA | Procedimento para extração de lipídeos de amostras de microalgas e leveduras para o laboratório de Bioprocessos do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste |
| 26 | BIOTEC BRANCA | Procedimento para extração do carotenoide astaxantina de amostras de microalgas para o laboratório de Bioprocessos do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste |
| 27 | BIOTEC BRANCA | Elaboração do Procedimento Operacional Padrão para Análise de Ácido Fólico por LC-MS para a Central Analítica do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste |
| 28 | BIOTEC BRANCA | Elaboração do Procedimento Operacional Padrão para Análise de Anti-inflamatórios não Esteroides por LC-MS para a Central Analítica do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste |
| 29 | BIOTEC BRANCA | Elaboração do Procedimento Operacional Padrão para Análise de Retardantes de Chamas Organofosforados por LC-MS para a Central Analítica do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste |
| 30 | BIOTEC BRANCA | Elaboração do Procedimento Operacional Padrão para Análise de Paclitaxel por LC-MS para a Central Analítica do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste |
| 31 | BIOTEC BRANCA | Elaboração do Procedimento Operacional Padrão para Análise de Frutooligosacarídeos por LC-MS para a Central Analítica do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste |
| 32 | BIOTEC BRANCA | Elaboração do Procedimento Operacional Padrão para Análise por cromatografia gasosa de ésteres metílicos de ácidos graxos para a Central Analítica do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste |
| 33 | BIOTEC BRANCA | Elaboração do Procedimento Operacional Padrão para Preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos para a Central Analítica do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste |
| 34 | BIOTEC BRANCA | Elaboração do Procedimento Operacional Padrão para Determinação do índice de peróxido para o Laboratório de Fitoquímica e Processos do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste |

5. CUMPRIMENTO DE PRAZOS DE CONTRATOS (PRESTAÇÃO DE SERVIÇOS TECNOLÓGICOS)

| # | NOME DO SOLICITANTE | TÉCNICAS | QUANT. ANÁLISE | DATA SOLICITAÇÃO | DATA AGENDAMENTO | DATA ENTREGA AMOSTRA | DATA ENSAIO | DATA ENVIO RELATÓRIO | STATUS |
|-----------------------|-------------------------------|----------|----------------|------------------|------------------|----------------------|-------------|----------------------|------------------------|
| 1 | TERPHANE LTDA | DR-X | 3 | 17/02/2017 | 17/02/2017 | 20/02/2017 | 20/02/2017 | 22/02/2017 | REALIZADO |
| 2 | M&G POLÍMEROS BRASIL S.A | DR-X | 2 | 06/03/2017 | 06/03/2017 | 13/04/2017 | 14/04/2017 | 15/04/2017 | REALIZADO |
| 3 | CARINA SCANONI MAIA | MET | 2 | 25/05/2017 | 21/07/2017 | 24/07/2017 | 05/09/2017 | 26/09/2017 | REALIZADO |
| 4 | VIVIX VIDROS PLANOS | MEV | 1 | 28/08/2017 | 28/08/2017 | 06/09/2017 | 15/09/2017 | 03/10/2017 | REALIZADO |
| 5 | EMANUELA POLIMINI DE MESQUITA | MET | 18 | 14/12/2017 | 04/12/2017 | 02/01/2018 | 02/01/2018 | 02/01/2018 | REALIZADO |
| 6 | TERPHANE LTDA | | | | | | | | DESISTÊNCIA DO CLIENTE |
| 7 | ISABELA ALBUQUERQUE FARIA | | | | | | | | DESISTÊNCIA DO CLIENTE |
| 8 | GABRIELA RIBEIRO | | | | | | | | DESISTÊNCIA DO CLIENTE |
| 9 | MÁRIA INÊS SUCUPIRA MACIEL | MEV | 4 | 17/11/2017 | 04/12/2017 | 21/11/2017 | 04/12/2017 | 04/12/2017 | REALIZADO |
| 10 | OSVALDO RESENDE | | | | | | | | DESISTÊNCIA DO CLIENTE |
| 11 | RANILSON DE SOUZA BEZERRA | | | | | | | | DESISTÊNCIA DO CLIENTE |
| 12 | RAPHAEL ARAÚJO DE HOLANDA | | | | | | | | DESISTÊNCIA DO CLIENTE |
| 13 | LAURA HECKER DE CARVALHO | MET | 6 | 17/11/2017 | 05/12/2017 | 05/12/2017 | 05/12/2017 | 05/12/2017 | REALIZADO |
| 14 | ISABELLE AMORIM VIEGAS | MET | 1 | 01/12/2017 | 15/12/2017 | 15/12/2017 | 15/12/2017 | 15/12/2017 | REALIZADO |
| TOTAL NO PRAZO | | | | | | | | | 08 |

6. ATENDIMENTO TECNOLÓGICO (PLATAFORMA MULTIUSUÁRIO)

| # | CEAN, LAFIP, LABIO, LNANO E LMM | Nº |
|---|----------------------------------|--------|
| 1 | TOTAL DE ANÁLISES | 21.036 |
| 2 | TOTAL DE AMOSTRAS ANALISADAS | 13.181 |
| 3 | TOTAL DE SOLICITAÇÕES | 2.500 |
| 4 | TOTAL DE PESQUISADORES ATENDIDOS | 171 |
| 5 | TOTAL DE ORIENTADORES ATENDIDOS | 125 |
| 6 | TOTAL DE LABORATÓRIOS ATENDIDOS | 130 |
| 7 | TIPOS DE AMOSTRAS ANALISADAS | 72 |

| # | CEAN, LAFIP, LABIO, LNANO E LMM | Nº |
|----|--|----|
| 8 | TOTAL DE ÁREAS COMPREENDIDAS | 39 |
| 9 | TOTAL DE DEPARTAMENTOS | 43 |
| 10 | TOTAL DE EQUIPAMENTOS DISPONIBILIZADOS | 36 |
| 11 | TOTAL DE INSTITUIÇÕES | 19 |
| 12 | TOTAL DE TÉCNICOS RESPONSÁVEIS | 15 |
| 13 | TOTAL DE ESTADOS ATENDIDOS | 9 |
| 14 | TOTAL DE TIPO DE INSTITUIÇÕES | 6 |
| 15 | TOTAL DE GRANDES ÁREAS | 7 |