

# Biomedicina e Farmácia: Aproximações 2

---

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes  
Tiago Sousa Melo  
(Organizadores)

---



**Atena**  
Editora

Ano 2019

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes  
Tiago Sousa Melo  
(Organizadores)

# Biomedicina e Farmácia: Aproximações 2

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Natália Sandrini e Lorena Prestes

Revisão: Os autores

#### Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

B615 Biomedicina e farmácia [recurso eletrônico] : aproximações 2 /  
Organizadores Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes, Tiago  
Sousa Melo. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. –  
(Biomedicina e Farmácia; v. 2)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-323-1

DOI 10.22533/at.ed.231191504

1. Biomedicina. 2. Ciências médicas. 3. Farmácia. I. Lopes,  
Letícia Bandeira Mascarenhas. II. Melo, Tiago Sousa. III. Série.

CDD 610

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de  
responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos  
autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

## APRESENTAÇÃO

Farmácia e Biomedicina integram o time das ciências da saúde que constituem nas áreas que estudam sobre a vida, a saúde e a doença. No qual focam na manutenção e na melhoria da saúde para o indivíduo, grupos específicos e comunidades.

A obra “Biomedicina e Farmácia: Aproximações” consiste de uma série de livro (E-book) de publicação da Atena Editora, em seus 28 capítulos de artigos científicos do volume I, a qual abordam temáticas atualizadas de diferentes âmbitos que vão desde relatos de casos até a análise de medicamentos, plantas e microbiologia, entre outros.

Sendo assim, almejamos que este livro possa contribuir com informações pertinentes e atualizadas para os estudantes e profissionais da área de farmácia e biomedicina, oportunizando a ampliação dos conhecimentos sobre o tema.

Desejamos a todos uma boa leitura!

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes

Tiago Sousa Melo

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
A IMPORTÂNCIA DA ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA PRESTADA AOS PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 1	
Gisele Lopes Cavalcante	
Maria Camila Leal de Moura	
José Virgulino de Oliveira Lima	
Yara Maria da Silva Pires	
Aline Suelen Silva Maria	
Ana Rita de Sousa França	
Izabela Borges de Carvalho	
Polyanna dos Santos Negreiros	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2311915041</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>15</b>
ANÁLISE BACTERIOLÓGICA DE QUEIJOS ARTESANAIS COMERCIALIZADOS NAS FEIRAS LIVRES DO MUNICÍPIO DE CARUARU-PE	
Jucélia Ivonete dos Santos	
Valéria da Silva Tabosa	
Agenor Tavares Jácome Júnior	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2311915042</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>26</b>
ANÁLISE DA EFICÁCIA DE PROGRAMAS DE CONTROLE DA DENGUE NO MUNICÍPIO DE BOA VISTA DO ESTADO DE RORAIMA	
Fabiana Nakashima	
Ítallo de Souza Almeida	
Tulio Marroquim Galvão	
Iran Barros de Castro	
Nathalia Bittencourt Graciano	
Isabella Maravalha Gomes	
Ana Iara Costa Ferreira	
Bianca Jorge Sequeira Costa	
Leila Braga Ribeiro	
Wagner do Carmo Costa	
Fabiana Zimmermann dos Santos	
Luis Enrique Galan Bermejo	
Rodrigo de Barros Feltran	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2311915043</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>34</b>
ANÁLISE DO PERFIL DOS PACIENTES SUBMETIDOS AO EXAME DE MICROALBUMINÚRIA REALIZADO NO LABORATÓRIO CENTRAL DE BIOMEDICINA NO PRIMEIRO TRIMESTRE DE 2018	
Flávia Karen Carvalho Garcia	
Marcos Emanuel Vilanova da Costa	
Jessica Santana de Oliveira	
Layanne Barbosa dos Santos	
Larissa Lisboa Rêgo Brito	
Rachel Freire Boaventura	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2311915044</b>	

**CAPÍTULO 5 ..... 40**

ANÁLISE HISTOQUÍMICA DA LÂMINA FOLIAR DE *Azadirachta indica* A.Juss

Rafaela Damasceno Sá  
Felipe Ribeiro da Silva  
Girllene da Silva Cavalcanti  
Karina Perrelli Randau

**DOI 10.22533/at.ed.2311915045**

**CAPÍTULO 6 ..... 46**

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA GOMA DE MANDIOCA COMERCIALIZADA NA FEIRA LIVRE DO BAIRRO ALVORADA II NA CIDADE DE MANAUS-AM

Uziel Ferreira Suwa  
Elias da Silva Lemos  
Andreia Ferreira Silva

**DOI 10.22533/at.ed.2311915046**

**CAPÍTULO 7 ..... 53**

APROVEITAMENTO DA SEMENTE DE ABÓBORA (*Cucurbita moschata*) NO DESENVOLVIMENTO DE CREME HIDRATANTE ESFOLIANTE

Mariana Gavioli dos Reis Pena  
Tatiane Amorim Lima  
Marcone Augusto Leal de Oliveira  
Guilherme Diniz Tavares  
Fabiano Freire Costa  
Paula Rocha Chellini

**DOI 10.22533/at.ed.2311915047**

**CAPÍTULO 8 ..... 68**

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS DE USO POPULAR NO BRASIL: CAMOMILA (*MATRICARIA CHAMOMILLA*), ERVA DOCE (*PIMPINELLA ANISUM*) E JUCÁ (*CAESALPINIA FERREA*)

Caroline Mendes Santos  
Carina Assis Lima Da Silva  
Carolina Azevedo Amaral  
Joyce dos Santos Brasil  
Daniela Soares Leite

**DOI 10.22533/at.ed.2311915048**

**CAPÍTULO 9 ..... 82**

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS DE USO POPULAR NO BRASIL: GOIABA (*PSIDIUM GUAJAVA* L.) E MELÃO DE SÃO CAETANO (*MOMORDICA CHARANTIA*)

Daniela Soares Leite  
Caroline Mendes Santos  
Carina Assis Lima Da Silva  
Carolina Azevedo Amaral

**DOI 10.22533/at.ed.2311915049**

**CAPÍTULO 10 ..... 93**

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO DA FOLHA DE *Bauhinia forficata* Link (PATA DE VACA)

Clara Santos Shen  
Eduarda dos Santos Lima  
Mariana Oliveira Arruda

**DOI 10.22533/at.ed.23119150410**

**CAPÍTULO 11 ..... 104**

AVALIAÇÃO DA CITOXIDADE, MUTAGENICIDADE E TOXICIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DOS FRUTOS DO *Lycium barbarum* (GOJI BERRY) POR MÉTODOS *Allium cepa* EM CÉLULAS EUCARIONTES

Ogenya Rafaela Bispo de Souza  
Francisca dos Santos  
Manoel Pinheiro Lúcio Neto

**DOI 10.22533/at.ed.23119150411**

**CAPÍTULO 12 ..... 114**

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO RASTREIO DA TOXOPLASMOSE DURANTE A GESTAÇÃO EM RORAIMA

Jéssyca Magalhães de Matos  
Wagner do Carmo Costa  
Ana Iara Costa Ferreira  
Fabiana Nakashima  
Leila Braga Ribeiro  
José Geraldo Ticianeli  
Camila Sampaio Florença Santana  
Allaelson dos Santos de Moraes  
Gabriela Moraes Gomes  
Fernanda Zambonin  
Bianca Jorge Sequeira

**DOI 10.22533/at.ed.23119150412**

**CAPÍTULO 13 ..... 127**

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS HEMOCOMPONENTES NO HEMOCENTRO COORDENADOR DE SERGIPE

Flávia Karen Carvalho Garcia  
Fátima de Jesus Santos  
Jéssica Araújo Menezes  
Larissa Lisboa Rêgo Brito  
João Victor Ferreira Santana  
Raphael Davisson Lopes Santos  
Weber De Santana Teles

**DOI 10.22533/at.ed.23119150413**

**CAPÍTULO 14 ..... 139**

AVALIAÇÃO DO PERFIL DE ANEMIAS EM EXAMES HEMATOLÓGICOS DE UMA POPULAÇÃO ATENDIDA POR PROJETO SOCIAL E SUA CORRELAÇÃO COM VALORES DE REFERÊNCIA

Gleice dos Anjos Santos  
Athos de Barros Vieira  
Jonas Alves Paiva  
Maria Helena Rodrigues De Mendonça

**DOI 10.22533/at.ed.23119150414**

**CAPÍTULO 15 ..... 152**

AVALIAÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA DE ISOLADOS DO COMPLEXO *Candida parapsilosis* CAUSADORES DE CANDIDEMIA NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO (HC-FMRP)

Márcia Eliana da Silva Ferreira  
Heliara Maria Spina Canela  
Bárbara Cardoso

**DOI 10.22533/at.ed.23119150415**

**CAPÍTULO 16 ..... 169**

BIORREMEDIAÇÃO DE MANGUEZAL CONTAMINADO COM PETRÓLEO COM OBTENÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA EM BIOPOLÍMEROS E PEPTÍDIOS CRISTALIZADOS

Odete Gonçalves  
Paulo Fernando de Almeida  
Cristina Maria A. L. T. M. H. Quintella  
Ana Maria Álvares Tavares da Mata

**DOI 10.22533/at.ed.23119150416**

**CAPÍTULO 17 ..... 186**

BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS OF THE YEAST CELL WALL WITH EMPHASIS ON THE DEVELOPMENT OF FEED ADDITIVES

Carina Maricel Pereyra  
Mariana Angélica Montenegro  
Lilia Reneé Cavaglieri

**DOI 10.22533/at.ed.23119150417**

**CAPÍTULO 18 ..... 204**

CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DA LÂMINA FOLIAR DE *Calotropis procera* (Aiton) W.T.Aiton

Rafaela Damasceno Sá  
Adolfo Santos da Silva  
Deysielle Maria dos Santos  
Karina Perrelli Randau

**DOI 10.22533/at.ed.23119150418**

**CAPÍTULO 19 ..... 211**

CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE *Schinus molle* L.

Luciano de Medeiros Dantas  
Rafaela Damasceno Sá  
Larisse Bianca Soares Pereira  
Karina Perrelli Randau  
Flávia Carolina Lins da Silva

**DOI 10.22533/at.ed.23119150419**

**CAPÍTULO 20 ..... 223**

CARACTERIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE-DAD PARA *FINGERPRINT* DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM *Alternanthera brasiliana*

José Marcos Teixeira de Alencar Filho  
Hyany Andreysa Pereira Teixeira  
Iure Silva de Carvalho  
Pedrita Alves Sampaio  
Emanuella Chiara Valença Pereira  
Isabela Araujo e Amariz  
Larissa Araújo Rolim  
Edigênia Cavalcante da Cruz Araújo

**DOI 10.22533/at.ed.23119150420**

**CAPÍTULO 21 ..... 235**

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE PLANTAS DO SEMIÁRIDO NORDESTINO COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Ítalo da Silva Batista  
Francinalva Dantas de Medeiros

**DOI 10.22533/at.ed.23119150421**

**CAPÍTULO 22 ..... 244**

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA DOS EXTRATOS DE *Averrhoa carambola* L.

Tálison Taylon Diniz Ferreira  
Orlene Nascimento da Silva  
Jéssyca Wan Lume da Silva Godinho  
Kleyton Santos Veras  
Denise Fernandes Coutinho  
Flavia Maria Mendonça do Amaral

**DOI 10.22533/at.ed.23119150422**

**CAPÍTULO 23 ..... 256**

CONHECIMENTO DE MULHERES USUÁRIAS DE UMA UNIDADE DE ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SOBRE A TRICOMONÍASE

Jessé Alves de Souza  
Laís Marques da Silva Pedrosa  
Evilma Nunes de Araújo  
Alecio Marcelo Lima Dos Santos  
Paulyanne Karlla Araújo Magalhães  
Thiago José Matos Rocha

**DOI 10.22533/at.ed.23119150423**

**CAPÍTULO 24 ..... 266**

CONTROLE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS A BASE DE ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIAS

Mariana Ribeiro Gonçalves Cordeiro Cruz  
Bianca da Silva Cardoso  
Luiza Helena Nascimento Lopes  
Nadjanayra Soares Rodrigues  
Nathália Gonçalves Silva  
Thaísia Silva Pires  
Tálison Taylon Diniz Ferreira  
Maria dos Remédios Mendes de Brito  
Angélica Gomes Coelho

**DOI 10.22533/at.ed.23119150424**

**CAPÍTULO 25 ..... 275**

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DA SITAGLIPTINA POR CLAE

Bruna de Carvalho Mapa  
Jacqueline de Souza  
Iara Devula Tiso Tana  
Débora dos Santos da Silva  
Neila Márcia Silva-Barcellos

**DOI 10.22533/at.ed.23119150425**

**CAPÍTULO 26 ..... 287**

DETECÇÃO, ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE DERMATÓFITOS EM UTENSÍLIOS DE CENTROS DE ESTÉTICA DA CIDADE DE MACEIÓ, ALAGOAS

Bárbara Letícia Figueiredo Fonseca  
Marcus Vinícius de Andrade Silveir  
Caroline Fernanda Andrade Gomes  
Camila Neves de Melo Cavalcanti  
Aryanna Kelly Pinheiro Souza  
Gabriela Souto Vieira de Mello  
Marina Valdez dos Santos  
Ana Paula de Almeida Portela da Silva

**DOI 10.22533/at.ed.23119150426**

**CAPÍTULO 27 ..... 293**

DIVERSIDADE GENÉTICA DOS PAPILOMAVÍRUS HUMANOS DE ALTO RISCO 16, 53 E 66 EM ALAGOAS, BRASIL

Karwhory Wallas Lins da Silva  
Márcia Adriana Pessoa de Oliveira Esteves  
Sâmea Keise de Oliveira Silva  
Velber Xavier Nascimento

**DOI 10.22533/at.ed.23119150427**

**SOBRE OS ORGANIZADORES..... 305**

## BIORREMEDIAÇÃO DE MANGUEZAL CONTAMINADO COM PETRÓLEO COM OBTENÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA EM BIOPOLÍMEROS E PEPTÍDIOS CRISTALIZADOS

### Odete Gonçalves

Universidade Federal da Bahia, Departamento de Ciências da Biointeração, Instituto de Ciências da Saúde UFBA. SS-BA.

### Paulo Fernando de Almeida

Universidade Federal da Bahia, Departamento de Ciências da Biointeração, Instituto de Ciências da Saúde, UFBA. SS-BA.

### Cristina Maria A. L. T. M. H. Quintella

Universidade federal da Bahia, Departamento de Físico/Química, Instituto de Química. Universidade Federal da Bahia, UFBA. SS-BA.

### Ana Maria Álvares Tavares da Mata

Instituto Politécnico de Setúbal. Escola Superior de Tecnologia de Setúbal, IPS/Portugal

**RESUMO:** Nesse trabalho relata-se o processo biotecnológico de biorremediação de manguezal impactado com petróleo, através de consórcio microbiano, com produção de bioativos utilizando coprodutos de biocombustível, fungos *Aspergillus* spp e *Penicillium* spp. Esses compostos nutrem as células fúngicas, permitem seu crescimento e geração de bioativos. Fez-se a semeadura do consórcio para repique em 10 Placas Petri. Após 3 meses ocorreu nestes a síntese dos bioativos cristalizados. Paralelamente foi realizado um consórcio microbiano de biorremediação por 67 dias, em tanque/aquário obtendo-se a

produção de biopolímeros protéicos. Foi feito a desinfecção em autoclave para posterior análise, observando-se as interações e reações orgânicas oxidativas, redutivas e hidrolíticas. O biopolímero seco em estufa foi analisado para orgânicos em Infravermelho (FT-IR), Fluorescência Molecular e Difractometria de Raios-X, Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV/EDS para elementos inorgânicos. Obteve-se para FT-IR as bandas CO,  $1.665\text{ cm}^{-1}$  típico de amida I; C-N,  $1560\text{ cm}^{-1}$  à amida II, em  $1235\text{ cm}^{-1}$  típico para amida III (derivadas de ácido carboxílico). Foram realizados os testes de investigação de proteína e antimicrobiano com reagente Comassie com aplicação do protocolo de identificação pelo método Bradford, obtendo resultado positivo. Outro teste antimicrobiano PCA com solução Tampão Tris, para bactéria *Escherichia coli*, obteve-se positivo para amostra 4 e 7. Feita a padronização da técnica de produção das moléculas de amida cristalizada, para aplicação biotecnológica industrial e fármacos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biorremediação. Biopolímero. Consórcio microbiano. Antimicrobiano. Fungos.

**ABSTRACT:** This work reports the biotechnological process of bioremediation of mangrove impacted with oil, through a microbial consortium, with the production of bioactives

using co-products of biofuel, fungi *Aspergillus* spp and *Penicillium* spp. These compounds nourish the fungal cells, allow their growth and bioactive generation. The consortium was sown to peal in 10 Petri dishes. After 3 months, the synthesis of the crystallized bioactives occurred. In parallel, a microbial consortium of bioremediation was carried out for 67 days, in a tank / aquarium obtaining the production of protein biopolymers. The autoclave was disinfected for further analysis, observing the oxidative, reductive and hydrolytic interactions and organic reactions. The greenhouse dried biopolymer was analyzed for organic in Infrared (FT-IR), Molecular Fluorescence and X-ray Diffraction, Scanning Electron Microscopy - SEM/EDS for inorganic elements. The CO bands were obtained for FT-IR, 1.665 cm<sup>-1</sup> typical of amide I; C-N, 1560 cm<sup>-1</sup> to amide II, in typical 1235 cm<sup>-1</sup> for amide III (derived from carboxylic acid). The protein and antimicrobial tests were carried out with Comassie reagent with application of the Bradford method, obtaining a positive result. Another PCA antimicrobial test with Tris Buffer solution for *Escherichia coli* bacterium was positive for sample 4 and 7. Standardized the production technique of crystallized amide molecules for industrial biotechnological application and drugs.

**KEYWORDS:** Bioremediation. Biopolymer. Microbial consortium. Antimicrobial. Fungi.

## 1 | INTRODUÇÃO

É conhecido da literatura técnica especializada que os manguezais são ecossistemas costeiros abrigados que ocorrem no encontro das águas dos rios com água do mar, sendo assim sujeitos ao regime das marés. Eles se desenvolvem em regiões de alta temperatura e precipitação em terrenos apropriados. No entanto, sua vegetação não é rica em diversidade, sendo composta por árvores e arbustos pertencentes a famílias que apresentam grande tolerância a águas salgadas e salobras. Ecossistemas de manguezal são grandemente sensíveis a distúrbios antrópicos como a contaminação por petróleo ou por outros produtos tóxicos, que podem causar danos a toda a biota, exercendo impacto por longo prazo.

Neste sentido, pode-se afirmar que a biorremediação é uma técnica que se mostra promissora para a recuperação de manguezais contaminados por hidrocarboneto (BENTO et al., 2003; DUA et al., 2002; RAHMAN et al., 2002; Xu, et al.; 2005). A transformação dos hidrocarbonetos pelos microrganismos pode ser facilitada pela produção de enzimas como catalisadores biológicos que controlam as reações bioquímicas, produzindo energia e material para a proliferação de novas células microbianas (UÑA e GARCIA, 1983). Os fungos produzem enzimas extracelulares oxidativas capazes de quebrar compostos policíclicos aromáticos de cadeia longa e transformá-los em compostos assimiláveis ao seu metabolismo (MARIANO, 2006). Estas enzimas hidrolisam ligações peptídicas, liberando peptídeos que são degradados a aminoácidos livres (RODWELL, 2009). A biorremediação através de processos de óxido-redução atinge a degradação e a mineralização de hidrocarbonetos policíclicos

aromáticos e de compostos fenólicos em solo de manguezal impactado com petróleo e outros (BR PI 221109478199, GONÇALVES, O.; QUINTELLA, C. M.; TRIGUI, J. A.; 2011). Isto se verifica quando o processo de transformação das substâncias, inicialmente, em fermentação, emite dispersão de gases (partículas menores). Em seguida, dá-se o efeito das emulsões, passando para a água as partículas solúveis com trocas iônicas e, finalmente, acontece, no substrato, as transformações físico-químicas produzidas pelos microrganismos para metabolismo, assimilação (BR PI1105932-0, QUINTELLA; GONÇALVES, 2011).

Em seus estudos os autores, apontam os fungos endófitos em processos de simbiose como produtores de enzimas hidrolases como fundamental fonte de catalisadores biológicos atualmente com aplicação nas mais diversas indústrias (BAGCHI E BANERJEE (2013), PINHEIRO et al.; 2013). As xilanases como indispensáveis bioconversores de compostos lignocelulósicos que degradam o polissacarídeo linear hidrolisando ligações (Beta)  $\beta$ -(1,4) da molécula de xilana (DELAYE et al., 2013). As enzimas fúngicas como as xilanases estão sendo apontadas como um produto bio sustentável com ampla aplicação devido a especialidade catalítica, estabilidade e alta atividade (GASPAR JÚNIOR, 2014). O que é confirmado recentemente por Elegbede e Lateef (2018) a produção de xilanase por diferentes linhagens de *Aspergillus* spp dentre eles as espécies *Aspergillus niger* L3, *A. fumigatus* SD5A e *A. flavus* SD4A.

O teste de determinação de proteína pelo método de Bradford, (1976) e Teste antimicrobiano (Jornal (anexo) EC 761/2009) são técnicas atualmente muito utilizadas para a determinação de proteínas totais com o apoio auxiliar do corante de “Coomassie brilliant blue” BG-250. São utilizados apontamentos da absorvência em UV-VIS em 595 nm (COMPTON, 1985), com solução Tampão Tris e Azul de Comassie (proteínas e Teste PCA antimicrobiano) se observando ambiente estéril.

Neste trabalho, apresentar-se o processo de biorremediação com produção de biopolímero e cristais residuais com atividade antimicrobiana decorrente da biotransformação de energia vegetal armazenada em células dos fungos que metabolizam os contaminantes e devolvem ao ambiente o residual sintetizado com aplicação em fármacos e medicinais.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente foi investigado a presença de nitrogênio e orgânicos que compõem as proteínas e compostos orgânicos. Importante esclarecer que este trabalho foi desenvolvido de modo similar à patente “Processo microbiológico para captura de voláteis e produção de biopolímero proteico”, depósito UFBA BR PI 1105932-0, 2011. O trabalho foi realizado no Instituto de Ciências da Saúde (ICS/UFBA) Laboratório de Biotecnologia e Ecologia de Microrganismos (LABEM).

**A área de estudo** - No tocante a delimitação do problema, o sedimento

manguezal e a solução salina foram coletados na porção nordeste da Baía de Todos os Santos (BTS), às margens do Rio São Paulo, próximo à estação Pedra Branca, nas coordenadas 12° 44' 26,0" (S) e 38° 31' 53,9", o qual desagua na BTS. Encontrase nestas imediações as instalações da Refinaria Landulfo Alves Mataripe, a qual ao longo das décadas vêm tornando crescente os contaminantes como hidrocarbonetos (HC). Esta área fica situada entre os municípios de Madre de Deus, Candeias e São Francisco do Conde, do sistema Bioma Mata Atlântica no ecossistema manguezal, inserida na Bacia sedimentar do Recôncavo Baiano.

**O processo de biorremediação e a contribuição do consórcio** - Na biorremediação utilizou-se um consórcio de subprodutos de biocombustíveis – glicerina bruta e torta de mamona – empregados como bioestímulo e associados aos fungos *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. Destaca-se, neste caso, o uso da torta de mamona, oriunda da *Ricinus communis*, como uma fonte de energia para os microrganismos heterotróficos, modificando a atividade enzimática. A cisteína é uma metalo-protease que usa um íon metal no seu mecanismo catalítico e hidrolisa as proteínas em aminoácidos, facilitando a sua absorção pelas células, possui um papel despolimerizante (ALVAREZSANCHEZ et al., 2000). Para a quebra das cadeias poliméricas e conseqüentemente a sua bioassimilação, os microrganismos produzem as enzimas proteases as quais catalisam hidrólise de ligações peptídicas (CHANDRA, RUSTGI; 1998; SCOTT, 2000). Os autores afirmam ainda, que outras possivelmente são condicionadas para catalise da hidrólise de ligações éster. Tal processo se realiza entre outros como por exemplo nos PHAs, policíclicos alifáticos (CHANDRA, RUSTGI; 1998).

**Microrganismos caracterização** – As cepas dos fungos foram coletadas de amostras do experimental de reservatório, já acondicionadas em petróleo, e enviadas ao Laboratório de Toxicologia de Farmácia da UFBA para análise de micologia de isolamento e identificação dos fungos. Os microrganismos foram analisados através dos testes microbiológicos por técnicas de micro cultivo em Ágar batata, descrita por Lacaz (2002).

**A semeadura** - A semeadura se procedeu em 10 placas de Petri sendo utilizada como amostras comparativas com as espécies de fungos. Após os procedimentos de quantificação, foram processadas em agitador aquecedor magnético, para obtenção e distribuição das amostras em semeadura com identificadas e inoculação dos fungos, para incubação e crescimento por 7 dias.

**O processo de biorremediação** - O processo de biorremediação foi efetuado em tanque/aquários de campo, contendo 8 provetas no seu interior para armazenagem dessas amostras compostas, consórcio microbiano manguezal. O meio de produção para ensaio possuía a seguinte composição (w/w): 600 g de substrato manguezal contaminado com petróleo exsudado; 24,60 g glicerina bruta; 34,40 g de torta de mamona; e 50 mL água de produção e repiques de cepas dos fungos - *Aspergillus* spp e *Penicillium* spp. Tiveram acompanhamento durante o período de 8 semanas,

monitorados os parâmetros físico-químicos dos bioestímulo não conservativos semanalmente, para acompanhar a bioaumentação, apontando o comportamento do pH e Eh e influências químicas.

**Produção de bioativos cristalizados residuais** - Os cristais são produzidos com lento aquecimento bioquímico, são sintetizando através das interações e reações orgânicas oxidativas, redutivas e hidrolíticas. O processo de cristalização acontece na superfície das amostras em placas de Petri, totalmente lacrada, após o período de 90 dias da semeadura dos fungos. Período em que se operam as mudanças físico/químicas no consórcio microbiano para biorremediação de manguezal contaminado (PI UFBA nº 1105932-0, 2011). Os cristais residuais são produzidos na parte vegetativa dos fungos, acima dos conídios das vesículas que compõe os conidióforos a partir das hifas filamentosos dos fungos. É sabido que quando os átomos se agrupam formam as moléculas das diversas substâncias cada uma com seus arranjos orbitais e características próprias. Com base no mecanismo clássico de cristalização (MULLIN, J.W., 1961), a formação de núcleos de cristais, essa etapa só ocorre na presença de corpos sólidos; os quais se transformarão em centros de nucleação (nano cristais) (GRUSE, W. A.; STEVENS, D.R., 1942).

**Caracterização dos bioativos por difratometria de raios-X** - É importante destacar o fator tempo na validação de determina os resultados dos cristais residuais. Para isso foi investigado por difratometria de raios-X a semeadura 1 aos 90 dias e a semeadura 2 após 150 dias com evolução.

**Espectrofotometria** - O método permite o monitoramento de tocoferóis, ácido butírico e outros componentes fluorescentes em óleos. Foi utilizado o equipamento Espectrofluorímetro PerkinElmer – Precisão modelo LS 55. Os espectros de emissão fluorescente das amostras foram obtidas detectando a emissão de 300 a 900 nm em intervalos de 0,5 nm enquanto a amostra sofria excitação em comprimento de onda fixos na faixa de 200 a 775 nm.

**Infravermelho (FTIR)** se utilizou o equipamento modelo FRONTIER, PerkinElmer Spectrometer número de série 91411, metodologia de medidas de absorção, acessório reflectância total (ATR), atenuada com um cristal de seleneto de zinco, resolução 4 cm<sup>-1</sup>, trans. 4000 a 650 cm<sup>-1</sup> varredura 16 scans.

**Microscopia eletrônica de varredura**, MEV/EDS foi utilizado o metalizador, marca DENTON VACUUM, modelo DESK V., com precipitação à vácuo, de película micrométrica. As imagens foram obtidas do tipo elétron secundário (SEI) e as análises químicas foram por EDS. Posteriormente, micrografia do produto biopolímero manguezal, na forma seca e gelatinosa com o espectrofotômetro marca JEOL, modelo JSM-6610LV Scanning Microspore.

**Purificação dos bioativos com testes de atividade proteica e antimicrobiana** - Este trabalho foi realizado no Instituto Politécnico de Setúbal (IPS/PO), Programa PDSE Capes 88881.134321/2016-01. Estes foram realizados através de testes de proteína e antimicrobiano, a fim de possibilitar a viabilidade de aplicação nas áreas

biotecnológicas, dentre outras, fármacos, na produção de cosméticos e medicinais.

O método de Bradford, (1976), é uma técnica atualmente muito utilizada para a determinação de proteínas totais com o apoio auxiliar do corante de “Coomassie brilliant blue” BG-250. Para este trabalho inicialmente foi feito o Reagente de Coomassie com a dissolução de 0,1 g de Azul Brilhante de Coomassie G250 em 47,0 g de etanol, adição de 85,0 g de ácido fosfórico e diluição de 1 L com água destilada. Em seguida foi observado o protocolo de identificação de aminoácidos pelo método Bradford, seguindo como pré-estabelecido para positivo como resultado a cor azul, em seguida feita a leitura da absorvência em Espectrofotômetro UV-VIS Evolution 160. Foi utilizado ainda, a solução Tampão Tris, obedecendo ao preparo da solução do Tampão Tris – HCL 0,1 m, pH 7,0 com a aplicação do método. No pH de reação, a interação entre a proteína de alto peso molecular e o corante BG-250 provoca o deslocamento do equilíbrio do corante para a forma aniônica, emitindo sinais de absorção em 595 nm (COMPTON, 1985).

**Os antimicrobianos** - Os antimicrobianos são substâncias que agem sobre microorganismos inibindo o seu crescimento e proliferação ou mesmo causando a sua destruição, podendo ser estes naturais (antibióticos) ou sintéticas (quimioterápicos) (SÁEZ-LLORENS, 2000). Conforme dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) as, 25% das mortes em todo o mundo e 45% das mortes em todo o mundo são causadas por infecções em países com menos recursos e menos desenvolvidos (WANNMACHER, 2004). Conforme, Banhos et al., (2014), alguns dos seus fungos endofíticos, após estudos, se verificou que apresentavam atividade antimicrobiana. Para eficiência na medicação antimicrobiana, quanto ao patógeno, é necessário a confirmação da suspeita da infecção por meio de culturas positivas para microorganismos isolados e localização provável (MOTA et al., 2010).

### 3 | RESULTADOS

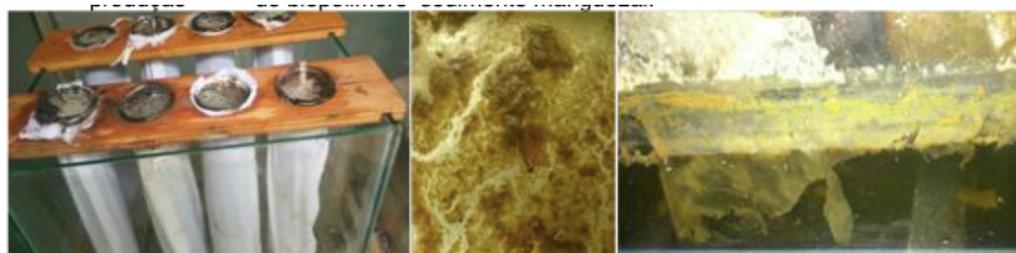
**Investigação (duplicata) de Nitrogênio Análise Elementar – CHNS (em mg/1000 ppm).** Foram obtidos positivo para Manguezal Cristal Residual (M.CR.1) com Nitrogênio 38%, Carbono 9,55, Hidrogênio 1,48 e Enxofre 0,24; para Manguezal Biopolímero Gelatinoso (M.BG.1); foi obtido percentual de Nitrogênio 33%, Carbono 6,11, Hidrogênio 4,51 e Enxofre 0,1 (REQUIMTE, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, PT, 2017). Estes resultados orgânicos leva a possibilidade de existência de proteína nas amostras dos produtos.

Foi obtido o perfil granulométrico com centrifugação, o que permitiu um pico mais vertical e elevado com o resultado de  $D(v.05) = 23.30 \mu\text{m}$  para o sedimento manguezal. Foi bom resultado mostrando a fina granulometria do sedimento manguezal argiloso que contribui influenciando na interação dos fluidos.

**Microrganismos caracterização** - No resultado Microbiológico obteve-

se o Reino *Fungi*, do Filo Ascomycota, dos Gêneros *Aspergillus* spp e *Penicillium* spp e espécies *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*. Este trabalho utiliza os fungos *Aspergillus* spp e *Penicillium* spp na formulação, consórcio microbiano (CRISTINA M. QUINTELLA; ODETE GONÇALVES; PI BR 1004444-2 A2, 2010). Além disso, foi investigado com testes de toxicologia, se obtendo resultado negativo para Aflatoxinas e nenhum produtor de micotoxinas foi detectado.

**Bioprocesso para a produção do biopolímero** - A fermentação e a formação de emulsão continuavam a ocorrer, obteve-se com 25 dias formação total dos biopolímeros (Figura 1ABC), estes foram reservados de forma natural para caracterização com a identificação de Manguezal Biopolímero Gelatinoso (M.BG). O restante foi recolhido e feito um tratamento e com identificação da amostra biopolímero seco (M.BS). Ambos os biopolímeros foram levados à estufa para secagem à 37°C e aí permaneceram por 5 dias, porém com suas substâncias e compostos originais, sem desnaturar a provável proteína.



**Figura 1A, B e C. A)** Experimental Aquário com 8 provetas em processo de biorremediação; **B)** Biopolímero após retirada da solução salina; **C)** Aquário com produção de biopolímero sedimento manguezal.

Fonte: Imagem elaborada pela autora.

Como forma de biorremediação do sedimento contaminado, resultou pela ação dos fungos, a transformação de substâncias HPAs em moléculas menores e voláteis, lançadas para a solução salina, vindo a reagir com a enzima da proteína vegetal ricina da mamona uma metalo-protease. Portanto, as substâncias degradadas e os voláteis são capturados para a produção de biopolímero. Durante o período experimental foram acompanhados os parâmetros físico/químico do experimental com temperatura externa 33° C, temperatura dentro da estação de tratamento 32° C e temperatura dentro da cubeta 29° C por um período de 67 dias.

**Caracterização do biopolímero por espectrofluorimetria** - Nas análises de fluorescência molecular do biopolímero se obteve os perfis espectrofotométricos compatíveis com proteína devido a absorção ultravioleta detectada em 220 nm devido a ligação peptídica e em 280 nm para os aminoácidos. Mais especificamente na excitação 250-300<sup>h</sup> e na emissão 270-360<sup>h</sup> podendo ser fenilalanina, cisteína, cistina, metionina, triptofano, histidina e tirosina (FIGURA 2A). Sabe-se que o aminoácido glutâmico, proveniente da torta de mamona, é um neurotransmissor inibitório de ácido

no SNC. Possui como derivado o ácido  $\gamma$ -aminobutírico. Assim sendo os resultados também possuem evidências de ácido butanoico com excitação em 193<sup>f</sup> e emissão em 273<sup>f</sup> para fluorescência molecular.

Para o bioativo cristalizado, (Figura 2B) e espectros para interpretação de compostos orgânicos derivados do aminoácido Triptofano (Ácido 2-amino-3-indolpropiónico) na excitação nm 350<sup>h</sup> 380<sup>h</sup> e emissão de 400-500<sup>h</sup> 357<sup>h</sup>. Os espectros de emissão fluorescente detectaram a emissão entre 200 nm a 550 nm enquanto a amostra sofria excitação em comprimento de onda na faixa de 200 nm à 500 nm de emissão. Aminoácido glutâmico é um neurotransmissor inibitório de ácido no SNC. Possui como derivado o ácido  $\gamma$ -aminobutírico. Campbell e Halushka, 1996, afirma que a enzima S-transferase aciona o tripetídio Glutathiona dá-se a transformação bioquímica mantendo apenas a cisteína.

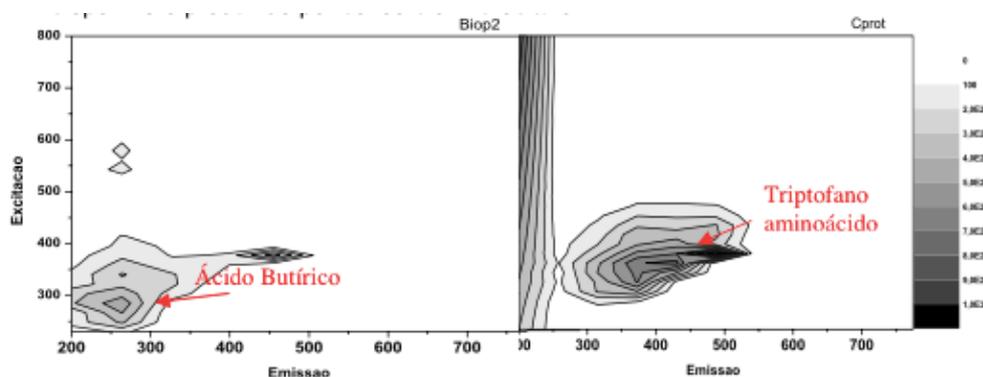


Figura 2: Perfil espectrofotométrico por mapa de fluorescência molecular de biopolímero produzido por consórcio microbiano.

Fonte: arquivo pessoal.

**Caracterização do biopolímero em infravermelho-FTIR** - No biopolímero seco após caracterização orgânica por FTIR, obteve-se os resultados para o biopolímeros 1 e 2 (seco) (Figura 3). Após estudos de identificação se atribui o número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) nas bandas de estiramento de OH na região de 3232  $\text{cm}^{-1}$ ; em 2922  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento  $\text{CH}_2$  assimétrico) atribuída a quantidade de lipídios; em 1634  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\text{C}=\text{O}$ , referentes a amida I (colágeno); banda 1028  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\text{C}-\text{O}$  de ésteres e sulfóxido e dos halogênios de Cl, Br.

Ao analisar o bioativo residual do produto microbiológico cristalizado em infravermelho, (Figura 4) obteve-se a origem orgânica do produto, destacando as bandas características de amidas em  $\text{CO}$ , 1.665  $\text{cm}^{-1}$  típico de amida I;  $\text{C}-\text{N}$ , 1560  $\text{cm}^{-1}$  à amida II, pode-se dizer que em 1637.07518  $\text{N}$ ,  $\text{N}$ - substituídas que representam a estrutura secundária da proteína. Segundo Pranoto e colaboradores (2007), a banda amida I é a banda mais interessante para estudos sobre a estrutura secundária de proteínas. apresenta sinais a 1660, 1643 e 1633  $\text{cm}^{-1}$ , correspondendo à banda Amida I (YAKIMETS *et al.*, 2005).

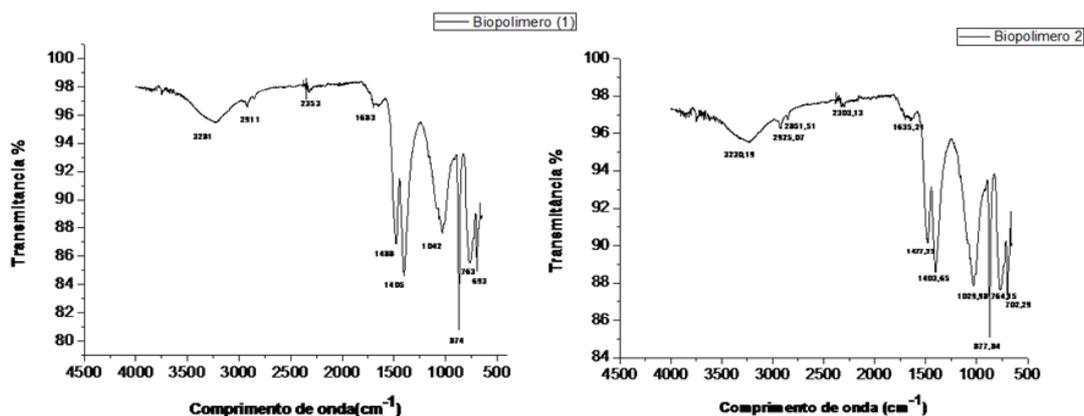


Figura 3– Caracterização de biopolimero seco 1 e 2 manglezais por FTIR.

Fonte: arquivo pessoal

O sinal a  $1660\text{ cm}^{-1}$  é característico da estrutura tripla-hélice e a  $1633\text{ cm}^{-1}$  corresponde à estrutura novelo (YAKIMETS *et al.*, 2005). De 1700 a 1630, C=O de amidas; levando em consideração o gráfico, pode-se identificar os picos que indicam no comprimento de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) de 3.600 a 2.700, a absorção de átomos de C-H, O-H e N-H; em 1.400 C-Halogenios, C-Cl, C-Br; em 1.311,  $\text{SO}_2$ ; - em 1.347 C-O de ácidos carboxílicos; em 1.037 S=O sulfóxido. Estudos indicam a região da AMIDA II ( $1483\text{-}1595\text{ cm}^{-1}$ ) esta surge na sequência dos modos normais de vibração C-N-H e estiramentos C-N dos peptídeos, podendo conter ligações peptídicas; mais precisamente em  $1557$  e  $1591\text{ cm}^{-1}$  atribui-se as presenças de olefinas, fenilalanina e tirosina, respectivamente (CASPERS *et al.*, 1998; PENTEADO *et al.*, 2008; TFAYLI *et al.*, 2007); já a banda dos modos vibracionais centrada em  $1440\text{ cm}^{-1}$  refere-se à presença de lipídeos e proteínas e apresentam como função impermeabilizar, prevenindo a perda de água (CASPERS *et al.*, 1998; PENTEADO *et al.*, 2008; TFAYLI *et al.*, 2007).

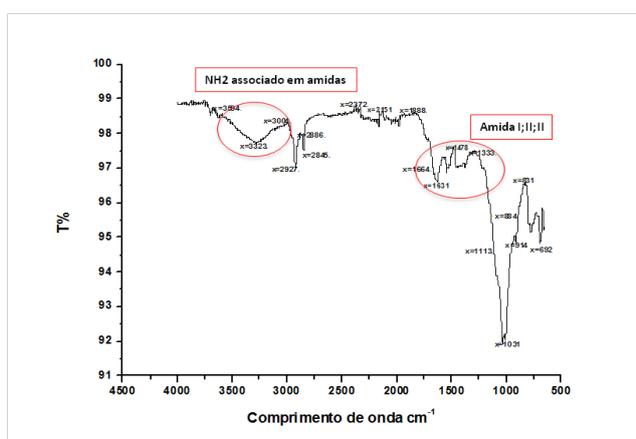


Figura 4– Caracterização de cristal residual manglezal por FTIR

Fonte: arquivo pessoal

## Difratometria de raios-X. Foram caracterizados os bioativos cristais residuais

para inorgânicos por difratometria de raios-X no qual se observou que o fator tempo influência o diâmetro nas estruturas cristalinas com maior forma em tamanho. Através desta análise identificou-se a presença do mineral Halita (NaCl), proveniente da solução salina (água do mar). Entretanto, agregam, em sua composição, outros compostos reativos minerais existentes no manguezal. O espectro mostrou os picos 4.04 H; 3.35 H; 2.86 H; 2.82 H; 1.99 H; 1.62 H, até 90 dias. Após este período picos 4.2 Qz e 3.34 Qz além dos outros já existentes.

**Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (EDS)** - Foram caracterizados os biopolímeros e cristais residuais em microscopia eletrônica de varredura MEV/EDS, utilizando as siglas (Bio\_gel), (Bio\_sec), (cristal res 16) com apontamentos de peso total e % atômico dos inorgânicos existentes (Tabela 1). No mapa químico foi obtido a composição, quantificação, distribuição mineral dos elementos cromóforos existentes no biopolímero gelatinoso e seco, e no bioativo cristal residual, destacando Carbono, Oxigênio, Cloro, Sódio, Alumínio, Magnésio, Cálcio, Ferro entre outros.

Na amostra (CR\_16) cristal residual manguezal, se observa uma maior quantidade de carbono inorgânico capturado um percentual de 86.73 Wt%, este resultado contribuiu para uma maior investigação e depósito da “PI BR 10 2014 0192018, Processo de Purificação de Carbono Mineral em Cristal de Halita Sintetizado em Biorremediação de Manguezal com Aplicação em Biotecnologia”.

Isto se atribui a volatilização dos hidrocarbonetos de cadeias menores de 10 carbonos em forma de gás condensados (aprisionados) nos cristais de halita, em processo de biotransformação biogeoquímica e inorgânicos. Em MEV/EDS por BSE, com a composição mineral da amostra Bio\_sec), destacando o oxigênio, o carbono em reação com o ferro, no composto biológico na presença de enxofre.

Amostra	Bio_gel	Bio_sec		Cristal_ Res16		Manguezal	
Biorreat	Aquário	Aquário		Placa Petri		Etiqueta	
Peso	Wt%	Atômico %	Wt%	Atômico %	Wt%	Atômico %	Padrão
C	11.2	22.34	44.39	58.80	86.73	91.44	C Vit
O	6.1	9.13	29.07	28.91	8.4	6.65	SiO <sub>2</sub>
Na	33.43	34.84	4.16	2.88	0	0	Albite
Mg	1.21	1.19	1.02	0.67	0.62	0.32	MgO
Al	0.23	0.20	0.87	0.51	0.16	0.07	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Si	0.49	0.42	1.10	0.62	0.66	0.30	SiO <sub>2</sub>
S	0	0	1.31	0.65	1.82	0.72	FeS <sub>2</sub>
P	0	0	1.48	0.76	0	0	GaP
Cl	45.62	30.83	6.27	2.82	0.89	0.32	NaCl
K	0.84	0.51	0.67	0.27	0	0	KBr
Ca	0.88	0.52	3.11	1.24	0.21	0.07	Wollastonite
Fe	0	0	6.54	1.86	0.52	0.12	Fe

Amostra	Bio_gel	Bio_sec		Cristal_ Res16		Manguezal	
Biorreat	Aquário	Aquário		Placa Petri		Etiqueta	
Peso	Wt%	Atômico %	Wt%	Atômico %	Wt%	Atômico %	Padrão
Total	100		100		100		

Tabela 1 - Demonstrativo da quantificação elementar em peso de análise em MEV/EDS de biopolímero gelatinoso, biopolímero seco e cristal residual manguezal

Fonte: Própria autoria.

A eletromicrografia/EDS apresenta o biopolímero gelatinoso em 50 $\mu$ m textura intrínscica, destacando hifas de fungos de forma cilíndrica e os elementos inorgânicos (Figura 5A) com evidências da presença de colágeno já citado nas análises de orgânicos em FT-IR. Na Figura 5B MEV/EDS com mapeamento da composição, quantificação, mineral dos elementos cromóforos Cloro, Sódio devido a solução salina mais os elementos Carbono, Oxigênio, Magnésio, Cálcio.

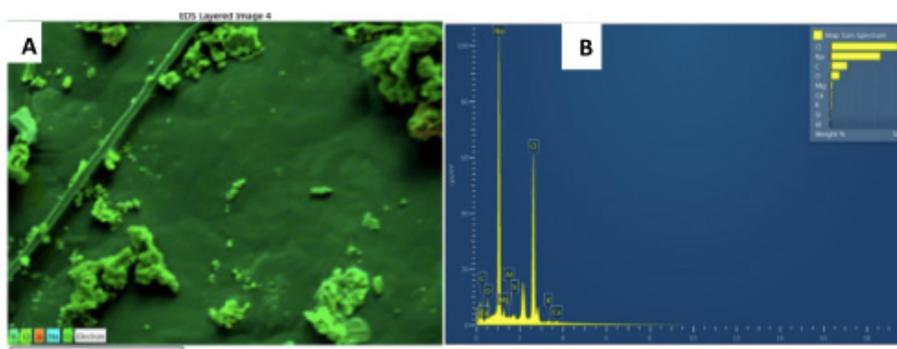


Figura 5A e B. A - Eletromicrografia/EDS com imagem de hifa microbiana no biopolímero gelatinoso em 50 $\mu$ m, indicando as cores dos elementos inorgânicos da parte tecidual do produto. B) Espectro de microscopia eletrônica de varredura/EDS em BSE com a composição mineral do biopolímero gelatinoso manguezal, destacando Cloro e Sódio, seguido de Carbono e Oxigênio.

Autor: Dados da pesquisa.

O radical OH $\cdot$  é citado como altamente oxidante em reações rápidas e inespecíficas com distintos substratos, podendo assim potencialmente reagir com todos os tipos indistintamente de moléculas biológicas (AGUIAR; FERRAZ, 2007; MYLONA; POLIDOROS, 2010). Em investigação a amostra biopolímero seco (Bio\_sec) (Figura 6ABC), apresentou em imagem de eletromicrografia hifas fungicas com abertura cilíndrica, visualizando textura tecida à nível nanométrico.

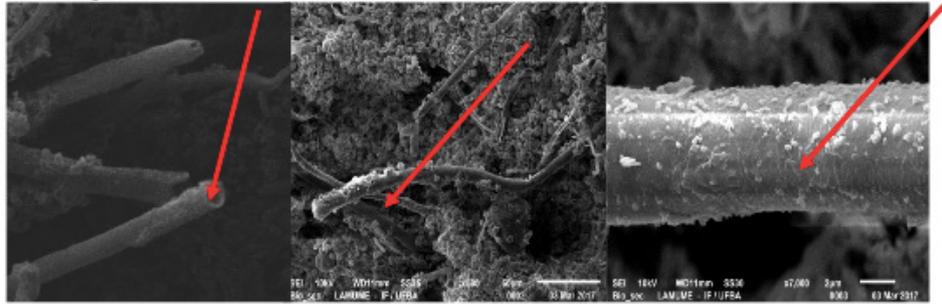


Figura 6BC – A Imagem de eletromicrografia apresenta hifas de fungos no biopolímero com abertura cilíndrica; B Imagem em SEI aumentada em x500 com 50µm; C Eletromicrografia/MEV de hifa com aumento em x7.000 com 2µm produzida pelos fungos.

Fonte: arquivo pessoal, dados da pesquisa.

Tal produto foi visualizado para estudo em SEI imagem de eletromicrografia/EDS, inicialmente em 50µm depois em 2µm garantindo uma boa imagem, mostrou evidência de ser produzido a nível molecular por retenção e aglutinação de partículas. Em um trabalho recente o autor observou em análise de microscopia eletrônica de varredura, por eletromicrografia que a imobilização é um método seguro no qual o micélio fúngico permanece no interior do grânulo totalmente protegido (V.G. ELISEI, et al, 2014).

### Separação e purificação dos bioativos

#### Determinação de proteína pelo método Bradford e Teste antimicrobiano.

Conforme adaptação (Jornal (anexo) EC 761/2009). Neste trabalho o reagente Comassie Azul Brilhante foi utilizado para investigação de teste antimicrobiano e investigação de teste de proteínas das amostras. Inicialmente foi feito um (1) litro de solução Tris (250 mg BSA m 100 mL – solução Mãe).

**Curva de calibração da proteína** - As amostras foram analisadas em espectrofotômetro UV-VIS Evolution 160 na absorvência de 595 nm, na concentração de 0,1, 5, 10, 20, 25 e 50 mg/L, subtraído o valor de absorvência do branco TRIS para cada amostra.

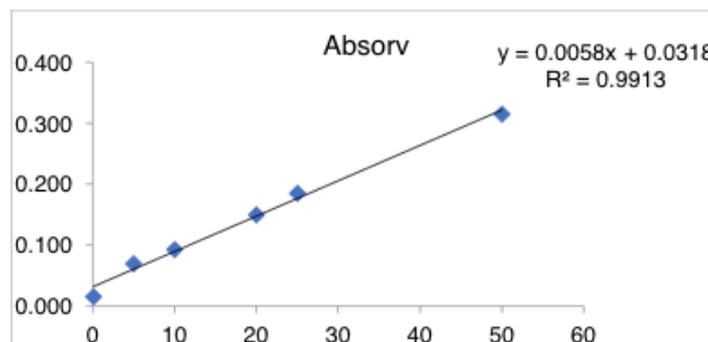


Figura 7. Gráfico curva de calibração com dados de absorvência em 595 nm com cálculo de linha de tendência

Fonte: Própria autoria.

Inicialmente de posse dos dados obtidos na curva de calibração foram processadas as amostras em Absorvência de 595 nm no espectrofotômetro UV-Vis com TRIS e 2,5 mL do Reagente Azul de Comassie e 0,5 mL da amostra (Método Bradford (Jornal (anexo) EC 761/2009) no qual se obteve a concentração proteica de cada amostras. Preparou-se as amostras de 100 mg da amostra para 10 mL de Tris = 10g/L. Foram tomados os apontamentos do pH e Condutividade das amostras para teste de proteína. Obteve-se os apontamentos das amostras para determinação de proteína pelo Método Bradford, absorvência em UV-VIS à 595 nm com reagente Comassie e amostra diluída em Tris. Com os dados obtidos seguiu-se ao cálculo da Equação da Reta dos Padrões  $Y = bx + a$ .

Descrição Amostras	Sigla	Nº amostra	pH	Condutividade
Mang Crist Biorrem	M.CP.1	4	4.48	3.11 mS/cm
Cristal Manguezal 12	M.CR.1	7	5.87	14.83 mS/cm
Membrana seca Biopol	M.BS.1	12	7.92	10.85 mS/cm
Membrana seca 11	M.BS.2	13	9.28	4.37 mS/cm
Biorremed Mang Sec12	M.SB	15	8.35	2.49 mS/cm
Biopol Nat Soluç aquos	M.BG.1	20	8.80	4.09 mS/cm

Tabela 2 - Apontamentos de pH e condutividade das amostras teste proteína Método Bradford

Fonte: Própria autoria.

O cristal manguezal apresenta um pH mais ácido entre 4.48 a 5.87; isto se atribui ao fato de ser um cristal de halita, com maior quantidade de sal NaCl em cada amostra, com boa condutividade em mS/cm. Quanto ao biopolímero manguezal e membrana seca, o pH se apresenta mais básico entre 7.68 a 9.28, com uma condutividade em mS/cm, evidenciando mais condutividade.

**Resultados para determinação da proteína método Bradford** – Dentre elas com apontamentos da Absorvência em UV-VIS em 595 nm se destacaram positivo para proteína pelo método Bradford Azul de Comassie em TRIS as amostras : a amostra 4, M.CR.1 com 1,308 nm o que corresponde a 81mg/L; A amostra M.BS com 1,222 nm corresponde à 64 mg/L, segue a M.BG com 1,114 nm correspondente a 45 mg/L. Considera-se abaixo as 5 mg/L como inclusivo.

**Testes antimicrobianos PCA em placas de Petri** - Após 3 dias as amostras em placas de Petri incubadas na estufa foram analisadas visualmente. Se obteve os resultados para o Teste antimicrobiano PCA purificação dos bioativos com bactéria *Escherichia coli* em placas de Petri, amostra 4 (M.CR1) e amostra 7 (M.CR) e 12 (M.BS) manguezal; as amostras foram analisadas, visualmente e selecionadas para cada grupo conforme crescimento bacteriano. Destacou-se a amostra cristal 7, e amostra biopolímero seco 12, estas de anos anteriores, vindo assim a confirmar a

atividade antimicrobiana dos bioprodutos.

### Resultado do teste antimicrobiano com reagente Comassie análise visual

O inóculo bactéria *E. Coli* na placa de *Petri*, ao ser colocado entre os brancos com o fundo de cartolina preta pode-se visualizar nitidamente que a bactéria foi inibida em seu crescimento com espaços vazios, crescimento de forma não uniforme (Figura 10A e B).

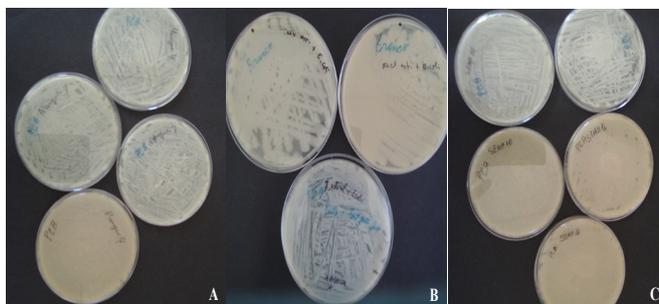


Figura 8 A B) Teste antimicrobiano PCA em placas de Petri com bactéria *Escherichia coli* utilizando o instrumento L método riscado amostra 4 e 7 comparada com branco;

Fonte. Dados da pesquisa

## 4 | DISCUSSÃO

Após caracterização em ambos os produtos, mostrou evidências de uma proteína “amida” que norteia para investigações mais aprofundadas. Está proveniente do processo de hidrólise e captura das substâncias ciclisadas e gasosas na produção de biopolímeros formado por aminoácidos de microorganismos e vegetais com retenção e aglutinação das partículas de óleo. Em Infravermelho, o biopolímero apresenta o pico em  $1634\text{cm}^{-1}$ , C=O, atribuindo-se a possível amida I (colágeno) (YAKIMETS, et al., 2005); na banda  $1028\text{cm}^{-1}$ , C-O, atribui-se a ésteres e sulfóxido e dos halogênios de Cl, Br. Enquanto que o cristal residual apresenta banda C-N,  $1560\text{cm}^{-1}$  atribuída a amida II, esta surge na sequência dos modos normais de vibração C-N-H e estiramentos C-N dos peptídeos, podendo conter ligações peptídicas; atribuem-se as presenças de olefinas, fenilalanina e tirosina, respectivamente (PENTEADO, et al., 2008); Os perfis espectrofotométricos para cristal residual foram de  $\lambda_{\text{exc.}} 193\text{nm}$  e  $\lambda_{\text{emis.}} 273\text{nm}$  para o biopolímero,  $\lambda_{\text{exc.}} 250\text{nm}$  e  $\lambda_{\text{emis.}} 360\text{nm}$  e são compatíveis com proteína, confirmando os estudos químicos. Em análise por MEV o biopolímero concentrou alto índice de carbono inorgânico num percentual que se verifica nas imagens de BSE, em MEV  $86.73\text{Wt}\%$ ; este resultado contribuiu para o depósito de Propriedade Industrial - PI UFBA- (PI BR 1020140192018).

No teste antimicrobiano PCA, com maior potencial antimicrobiano, foram amostras 4 e 7, cristal residual, são as que contém maior poder de inibição para a bactéria *E. coli*. No teste antimicrobiano com reagente Comassie análise visual, verificou-se em lupa e microscópio, visualizando positivo para o cristal residual. A determinação de proteína

pelo Método Bradford foi positiva para o cristal proteico manguezal (M.CP.1) foi de 81 mg/L; para o biopolímero seco manguezal (M.BS.1) foi de 45 mg/L; manguezal sedimento biorremediado (M.SB) foi de 64 mg/L; manguezal biopolímero gelatinoso (M.BG.1) 45 mg/L, de proteína por litro.

## 5 | CONCLUSÕES

Assim, em um primeiro aspecto, apresenta um produto biopolímero gelatinoso que disponibiliza um tecido microbiológico resistente. No biopolímero seco em infravermelho apresenta a banda  $1634\text{ cm}^{-1}$ , C=O, referente um grupo proteico amida, possivelmente colágeno. Por imagem de eletromicrografia com aumento em  $\times 7.000$ , com  $2\mu\text{m}$  apresenta hifas tecidas intrinsecamente produzida pelos fungos no biopolímero com abertura cilíndrica, podendo ser utilizada na imobilização microbiana para uso em biotecnologia por ser um método seguro. Em um segundo aspecto, viabiliza o processo de transferência de elétrons ferro/enxofre possibilitando a formação de compostos orgânicos entre peptídeos e proteínas produtoras de biomassa. Confere um produto biopolímero emulsificado em solução salina com moléculas e elementos minerais essenciais bioativos orgânicos, como colágenos e glutamato neurotransmissor, antioxidante, os quais se espera direcionar sua aplicação para a área de cosméticos e fármacos. Quanto ao cristal residual demonstrou que através da biorremediação foi possível a purificação de carbono mineral com alto índice de concentração num percentual de 86.73 Wt% por microscopia eletrônica de varredura que contribuiu para o depósito de Propriedade Industrial. O que sugere um estudo de nanotubos de carbono e ou nanopartículas, a nível molecular. Com base nos ensaios descritos, ficou confirmada a presença de atividade antimicrobiana com inibição para a bactéria *Escherichia coli* por teste PCA e com reagente Comassie e aplicação do protocolo de identificação pelo método Bradford. Isto se atribui a presença de óxido de ferro e metalóides no processo bioquímico com a ricina de mamona com seus alérgenos e os agentes microbianos fungos desenvolvendo moléculas antimicrobianas quando em ambiente de estresse para sua defesa. No teste de proteína Método Bradford o êxito foi confirmado, visto o resultado analítico de outras caracterizações, comprovado pelo cristal proteico residual, com concentração de 81 mg/L, positivo. Portanto, se conclui que o processo de biorremediação com a produção de biopolímeros e bioativos cristalizados antimicrobianos cria possibilidade de investimentos mais contundentes para viabilizar aplicação em área da saúde, fármacos e cosméticos contribuindo nos processos biológicos e biotecnológicos.

## 6 | AGRADECIMENTOS

Reconhecemos ao Programa de Recursos Humanos - PRH 49 – Agência

Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis ANP/MCTI, através de bolsas de pesquisa de doutorado. Agradecemos o apoio financeiro da CAPES (Brasil) através do Programa Doutorado Sanduíche no Exterior PDSE 88881.134321 / 2016-01. Instituto de Física UFBA-LAMUME. ESTSstúbal-IPS.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, A.; FERRAZ, A.; **Mecanismo e aplicações da reação de Fenton assistida por compostos fenólicos redutores de ferro**. Química Nova, v. 30, p.623-628, 2007.

ALVAREZ-SANCHEZ, M. E. A. *et al.* **A novel cysteine proteinase (CP65) of Trichomonas vaginalis involved in citotoxicity**. Microbial pathogenesis, v. 28, p. 193-202, 2000.

BAGCHI, B. e BANERJEE, D. **Diversity of fungal endophytes in Bauhinia vahlii (a lianas) from different regions of Paschim Medinipur district of West Bengal**. IJSET, v. 2, p.748-756, 2013.

BANHOS, E. F.; *et al.* **Endophytic fungi from Myrcia guianensis at the Brazilian Amazon: Distribution and bioactivity**. Brazilian Journal of Microbiology. v. 45. n. 1, p. 153-161. 2014.

BENTO, F.M. *et al.* **Bioremediation of soil contaminated by diesel oil**. Braz. J. Microbiol., n. 34, 65-68, 2003.

BRADFORD, M.M. (1976). **A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding**. Anal Biochem 72:248-54.

CHANDRA, R. RUSTGI, R. Prog. **Polym. Sci.**, v.23, p.1273-1335, 1998.

COMPTON, S.J. and JONES, C.J. (1985). **Mechanism of dye response and interference in the Bradford protein assay**. Anal Biochem 151:369-74.

C. M. QUINTELLA; O. GONÇALVES. PI BR 1020140192018 - **Processo de Purificação de Carbono Mineral em Cristal de Halita Sintetizado em Biorremediação de Manguezal com Aplicação em Biotecnologia**. 2014.

C. M. QUINTELLA; O. GONÇALVES. **Processo de obtenção de produto biodegradável para aplicação na remediação de solos, águas e ambientes impactados e método de funcionamento**. BR PI 1004444-2 A2, 03 mar. 2010.

C. M. QUINTELLA; O. GONÇALVES. **Processo Microbiológico para captura de voláteis e produção de biopolímero proteico**. Patente BR PI 1105932-0, 21 out. 2011.

DELAYE L.; GARCÍA-GUZMÁN.; H. E. L MARTIN. **Endophytes versus biotrophic and necrotrophic pathogens-are fungal lifestyles evolutionarily stable traits?** Fungal diversity, v. 60, p 125-135, 2013.

ELEGBEDE, J. A. e LATEEF, A. **Valorization of corn-cob by fungal isolates for production of xylanase in submerged and solid state fermentation media and potential biotechnological applications**. Waste and Biomass Valorization, v.9, n.8, p. 1273-1287, 2018.

ELIZEI, V. G.; *et. al.* **Imobilização de fungos filamentosos com potencial para uso agroindustrial**. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.81, n.2, p.165-172, 2014.

GRUSE, W. A.; STEVES, D. R., **Chemical technology of petroleum**,sNew York, London, McGraw-

Hill book company, inc, 1942.

Jornal Oficial da União Européia (anexo) EC 761/2009-anexo IV (método equivalente ao OECD TG 201).

LACAZ, C. S. L.; et al. **Tratado de Micologia Médica**. 9. ed. São Paulo: Sarvier. 2002.

MARIANO, A.P., **Avaliação do potencial de biorremediação de solos de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel** [s.n.], p. 162 f., 2006.

MOTA, L. M. et al. **Uso racional de antimicrobianos**. Medicina (Ribeirão Preto), v. 43, n.2, p. 164-172. 2010.

MULLIN, J. W. **Optimização da unidade de cristalização do clorato de sódio Crystallization**; Butterworths; University of London; fourth Edition, 1961.

MYLONA, P.V.; POLIDOROS, A.N. ROS regulation of antioxidant genes. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfi eld: Science Publishers, 2011. Cap.6, p.101-128.

O. GONÇALVES, C. M. QUINTELLA; J. A. TRIGUI, Patente BR PI 1105934-6. **Processo para obtenção de biossensores e biossensores**, 2011.

PRANOTO, Y.; LEE, C. M.; PARK, H. J.; Characterizations of fish gelatin films added with gellan and k-carrageenan. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v.40, n.5, p.766-774, 2007.

PENTEADO, S. C.; et al. **Diagnosis of degenerative lesions of supraspinatus rotator cuff tendons by Fourier Transform-Raman spectroscopy**. **Journal of Biomedical Optics**, v.13, n.1, p.14-18, 2008.

PINHEIRO, E. A. A.; et al. **Antibacterial activity of alkaloids produced by endophytic fungus *Aspergillus sp.*** EJC08 isolated from medical plant *Bauhinia guianensis*. **Natural Product Research**, v.27, p.1633-1638, 2013.

RODWELL, V. W.; **Catabolism of Proteins Amino Acid Nitrogen**, Biomedical Importance, 28. 2009.

SÁEZ-LLORENS, X. et al. **Impact of an antibiotic restriction policy on hospital expenditures and bacterial susceptibilities: a lesson from a pediatric institution in a developing country**. **Pediatr Infect Dis J.** v. 19, p. 200-206. 2000.

UÑA, G. V.; GARCÍA, M. J. N.; **Biodegradation of non-ionic dispersants in sea water**, **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology.** 18 (5) (1983) 315.

WANNMACHER, L. **Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma guerra perdida? Uso racional de medicamentos: temas selecionados**, Brasília, v. 1, n. 4, mar. 2004.

YAKIMETS, I.; et al. Mechanical properties with respect to water content of gelatin films in glassy state. **Polymer**, v.46, n.26, p.12577-12585, 2005.

XU, R.; et al.; **Bioremediation of oil-contaminated sediments on an inter-tidal shoreline using a slow-release fertilizer and chitosan**. **Marine Pollution Bulletin**, v. 51, p. 1062-1070, 2005.

## **SOBRE OS ORGANIZADORES**

**LETÍCIA BANDEIRA MASCARENHAS LOPES** Farmacêutica, Graduada em Farmácia pelo Centro Universitário INTA (UNINTA). Especialista em caráter de Residência Multiprofissional em Urgência e Emergência (SCMS e UNINTA), especialista em Gestão e Logística Hospitalar pela Universidade Cândido Mendes (UCAM), pós - graduanda em Farmácia Clínica e Cuidados Farmacêutico, pela Escola Superior da Amazônia (ESAMAZ), pós - graduanda em Análises Clínicas e Microbiologia pela Universidade Cândido Mendes (UCAM).

**TIAGO SOUSA MELO** Possui graduação em FARMÁCIA pela Universidade Federal do Ceará (2009). Doutor em Biotecnologia em Saúde pela Rede Nordeste de Biotecnologia RENORBIO. Atualmente é professor dos Cursos de Farmácia e Odontologia e gestor de pesquisa do curso de Farmácia do Centro Universitário INTA. Também exerce atividade como tutor da Residência Multiprofissional em Urgência e Emergência da Santa Casa de Misericórdia de SobralCE. Tem experiência na área de Farmacologia Pré-Clínica de Produtos Naturais, com ênfase no estudo de plantas medicinais com ação em distúrbios metabólicos (diabetes, dislipidemia e obesidade) e Farmacologia Clínica.

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-7247-323-1



9 788572 473231