

Impactos das Tecnologias nas Ciências Biológicas e da Saúde

3

Christiane Trevisan Slivinski
(Organizadora)

 **Atena**
Editora

Ano 2019

Christiane Trevisan Slivinski
(Organizadora)

Impactos das Tecnologias nas Ciências Biológicas e da Saúde 3

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Geraldo Alves e Natália Sandrini

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)

I34 Impactos das tecnologias nas ciências biológicas e da saúde 3
[recurso eletrônico] / Organizadora Christiane Trevisan Slivinski. –
Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (Impactos das
Tecnologias nas Ciências Biológicas e da Saúde; v. 3)

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-85-7247-037-7
DOI 10.22533/at.ed.377191601

1. Ciências biológicas. 2. Farmacologia. 3. Saúde. 4. Tecnologia.
I. Slivinsk, Christiane Trevisan.

CDD 620.8

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

APRESENTAÇÃO

A tecnologia está ganhando cada dia mais espaço na vida das pessoas e em tudo que as cerca. Compreende-se por tecnologia todo o conhecimento técnico e científico e sua aplicação utilizando ferramentas, processos e materiais que foram criados e podem ser utilizados a partir deste conhecimento. Quando, para o desenvolvimento da tecnologia estão envolvidos sistemas biológicos, seres vivos ou seus metabólitos, passa-se a trabalhar em uma área fundamental da ciência, a Biotecnologia.

Toda produção de conhecimento em Biotecnologia envolve áreas como Biologia, Química, Engenharia, Bioquímica, Biologia Molecular, Engenharia Bioquímica, Química Industrial, entre outras, impactando diretamente no desenvolvimento das Ciências Biológicas e da Saúde. A aplicação dos resultados obtidos nos estudos em Biotecnologia está permitindo um aumento gradativo nos avanços relacionados a qualidade de vida da população, preservação da saúde e bem estar.

Neste ebook é possível identificar vários destes aspectos, onde a produção científica realizada por pesquisadores das grandes academias possuem a proposta de aplicações que podem contribuir para um melhor aproveitamento dos recursos que a natureza nos oferece, bem como encontrar novas soluções para problemas relacionados à manutenção da vida em equilíbrio.

No volume 2 são apresentados artigos relacionados a Bioquímica, Tecnologia em Saúde e as Engenharias. Inicialmente é discutida a produção e ação de biocompostos tais como ácido hialurônico, enzimas fúngicas, asparaginase, lipase, biossurfactantes, xilanase e eritritol. Em seguida são apresentados aspectos relacionados a análise do mobiliário hospitalar, uso de oxigenoterapia hospitalar, engenharia clínica, e novos equipamentos utilizados para diagnóstico. Também são apresentados artigos que trabalham com a tecnologia da informação no desenvolvimento de sistemas e equipamentos para o tratamento dos pacientes.

No volume 3 estão apresentados estudos relacionados a Biologia Molecular envolvendo a leptospirose e diabetes melitus. Também foram investigados alguns impactos da tecnologia no estudo da microcefalia, agregação plaquetária, bem como melhorias no atendimento nas clínicas e farmácias da atenção básica em saúde.

Em seguida discute-se a respeito da utilização de extratos vegetais e fúngicos na farmacologia e preservação do meio ambiente. Finalmente são questionados conceitos envolvendo Educação em Saúde, onde são propostos novos materiais didáticos para o ensino de Bioquímica, Biologia, polinização de plantas, prevenção em saúde e educação continuada.

Christiane Trevisan Slivinski

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
A SOS BOX PATTERN FOR LEPTOSPIRA SPP.	
Livia de Moraes Bomediano	
Renata Maria Augusto da Costa	
Ana Carolina Quirino Simões	
DOI 10.22533/at.ed.3771916011	
CAPÍTULO 2	7
ANÁLISE IN SILICO DO GENE LIPID TRANSFER PROTEIN SOB CONDIÇÕES DE ESTRESSE ABIÓTICO	
Renan Gonçalves da Silva	
Jóice de Oliveira Leite Silva	
Lucas de Faria Nogueira	
Cyro Bueno Neto	
Sonia Marli Zingaretti	
DOI 10.22533/at.ed.3771916012	
CAPÍTULO 3	16
ANÁLISE DO POLIMORFISMO DE DELEÇÃO DOS GENES GSTM1 E GSTT1 E <i>DIABETES MELLITUS</i> EM IDOSOS: ESTUDO PILOTO	
Layse Rafaela Moroti – Perugini	
Luana Oliveira de Lima	
Audrey de Souza Marquez	
Regina Célia Poli-Frederico	
DOI 10.22533/at.ed.3771916013	
CAPÍTULO 4	25
CRISPR/CAS9 – UMA PROMISSORA FERRAMENTA DE EDIÇÃO GÊNICA	
Dalila Bernardes Leandro	
Jessyca Kalynne Farias Rodrigues	
Isaura Isabelle Fonseca Gomes da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.3771916014	
CAPÍTULO 5	41
POLIMORFISMOS NO GENE DA LECTINA LIGANTE DE MANOSE (MBL2)	
Carmem Gabriela Gomes de Figueiredo	
Maria Soraya Pereira Franco Adriano	
Claudence Rodrigues do Nascimento	
Luciane Alves Coutinho	
Marizilda Barbosa da Silva	
Patrícia Muniz Mendes Freire de Moura	
DOI 10.22533/at.ed.3771916015	
CAPÍTULO 6	52
SELEÇÃO DE CARACTERÍSTICAS POR ALGORITMO GENÉTICO NA CLASSIFICAÇÃO DA CARDIOPATIA CHAGÁSICA	
Lucas de Souza Rodrigues	
Cristina Sady Coelho da Rocha	
Murilo Eugênio Duarte Gomes	
DOI 10.22533/at.ed.3771916016	

CAPÍTULO 7	61
MICROCEPHALY BRAIN UNFINISHED	
Cicera Páz da Silva	
Italo Marcos Páz de Andrade	
DOI 10.22533/at.ed.3771916017	
CAPÍTULO 8	67
O SUJEITO DA CLÍNICA E A CLÍNICA RELACIONAL: CONTRIBUIÇÕES PARA A CLÍNICA DE ATENÇÃO BÁSICA DO SUS	
Rita de Cássia Gabrielli Souza Lima	
DOI 10.22533/at.ed.3771916018	
CAPÍTULO 9	79
AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIA EM SAÚDE: PERFIL DO USUÁRIO BRASILEIRO DO PROGRAMA FARMÁCIA POPULAR COM HIPERTENSÃO ARTERIAL DIAGNOSTICADA	
Simone Bezerra Franco	
Ronni Geraldo Gomes de Amorim	
Marília Miranda Forte Gomes	
DOI 10.22533/at.ed.3771916019	
CAPÍTULO 10	91
ENSAIO DE AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA COM SORO DO LÁTEX DE <i>HIMANTHUS SUCUUBA</i>	
Janeth Silva Pinheiro Marciano	
Renan Gonçalves da Silva	
Juliana da Silva Coppede	
Sonia Marli Zingaretti	
DOI 10.22533/at.ed.37719160110	
CAPÍTULO 11	98
PERFIL DO CONSUMO DE ÁLCOOL POR ESTUDANTES DE FISIOTERAPIA DE UMA UNIVERSIDADE PRIVADA DE SALVADOR	
Aísa de Santana Lima	
Ana Paula Amaral de Brito	
Átina Carneiro Rocha	
Gleice de Jesus Oliveira	
DOI 10.22533/at.ed.37719160111	
CAPÍTULO 12	111
USO DE BIOMASSA FÚNGICA PARA REMOÇÃO DE FÁRMACOS	
Caroline Aparecida Vaz de Araujo	
Elidiane Andressa Rodrigues	
Giselle Maria Maciel	
Priscila Ayumi Sybuia	
Wagner Mansano Cavalini	
Cristina Giatti Marques de Souza	
DOI 10.22533/at.ed.37719160112	

CAPÍTULO 13 118

ANORMALIDADES ERITROCÍTICAS EM *Sciades herzbergii* E FATORES BIÓTICOS E ABIÓTICOS NA AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE RIOS DA ILHA DO MARANHÃO

Natália Jovita Pereira
Nayara Duarte da Silva
Sildiane Martins Cantanhêde
Janderson Bruzaca Gomes
Ligia Tchaicka
Débora Martins Silva Santos

DOI 10.22533/at.ed.37719160113

CAPÍTULO 14 130

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE *Beauveria bassiana* (HYPOCREALES: CORDYCIPITACEAE) E ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Pogostemon cablin* (LAMIALES: LAMIACEAE) SOBRE O DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO INICIAL DE *Gallus gallus* (GALLIFORMES: PHASIANIDAE)

Lucas Trentin Larentis
Tainá dos Santos
Alanda de Oliveira
Patricia Franchi de Freitas

DOI 10.22533/at.ed.37719160114

CAPÍTULO 15 135

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS ORGÂNICOS DO ISOLADO JUANT028 NO CONTROLE DE FITOPATÓGENOS

Igor Shoiti Shiraishi
Wellington Luiz de Oliveira
Robert Frans Huibert Dekker
Aneli de Melo Barbosa-Dekker
Juliana Feijó de Souza Daniel

DOI 10.22533/at.ed.37719160115

CAPÍTULO 16 144

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE EXTRATO VEGETAL DE *Cymbopogon winterianus* SOBRE O DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO INICIAL DE AVE

Gabrielly Cristina Galvão
Juliana Marceli Hofma Lopes
Letícia Mencatto Bueno
Patricia Franchi de Freitas

DOI 10.22533/at.ed.37719160116

CAPÍTULO 17 150

EXTRATO DE *Fusarium graminearum* É UMA ALTERNATIVA NÃO TÓXICA PARA USO COMO CORANTE NATURAL: OBTENÇÃO, ESTABILIDADE E ATIVIDADE BIOLÓGICA

Brenda Kischkel
Beatriz Paes Silva
Fabiana Gomes da Silva Dantas
Kelly Mari Pires de Oliveira
Terezinha Inez Estivalet Svidzinski
Melyssa Negri

DOI 10.22533/at.ed.37719160117

CAPÍTULO 18 166

O USO DE HERBICIDAS À BASE DE GLIFOSATO NO BRASIL E NO MUNDO E SEUS IMPACTOS AO MEIO AMBIENTE E SAÚDE HUMANA

Yuri Dornelles Zebral

Adalto Bianchini

DOI 10.22533/at.ed.37719160118

CAPÍTULO 19 178

AVALIAÇÃO DE LINGUIÇA TOSCANA ADICIONADA DE INULINA COMO SUBSTITUTO DA GORDURA E INGREDIENTE FUNCIONAL PREBIÓTICO

Fabiane Ferreira dos Santos

Rosires Deliza

Simone Pereira Mathias

DOI 10.22533/at.ed.37719160119

CAPÍTULO 20 191

QUALIDADE DA DIETA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA

Olívia Farias dos Santos

Cecília Fischer Fernandes

Cristielle Aguzzi Cougo de Leon

Fernanda Vighi Dobke

Sandra Costa Valle

Renata Torres Abib Bertacco

DOI 10.22533/at.ed.37719160120

CAPÍTULO 21 199

CONSTRUINDO RELAÇÕES DE CUIDADO POR MEIO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE: O PAPEL DO FISIOTERAPEUTA NA ESCOLA REGULAR

Maria Bethânia Tomaschewski Bueno

Tatiane Barcellos Corrêa

DOI 10.22533/at.ed.37719160121

CAPÍTULO 22 209

ESTUDO DOS PADRÕES DE POLINIZAÇÃO DE *Apis mellifera* L. EM PLANTAS DA CAATINGA, COMO ESTRATÉGIA PARA A CONSTRUÇÃO DE UM MATERIAL DIDÁTICO

Fernanda Kamila Oliveira de Aquino

Raíza Lorena Peixoto

Larissa Mércia Peixoto

George Machado Tabatinga Filho

Ileane Oliveira Barros

DOI 10.22533/at.ed.37719160122

CAPÍTULO 23 224

IMAGENS ANALÓGICAS EM LIVROS DIDÁTICOS DE BIOLOGIA

Francisco Alves Santos

Andréa Pereira Silveira

Isabel Cristina Higino Santana

DOI 10.22533/at.ed.37719160123

CAPÍTULO 24 234

SITUAÇÃO DA PREVENÇÃO DE DOENÇAS EM CRIANÇAS MENORES DE CINCO ANOS, MORADORAS NA ÁREA DE ABRANGÊNCIA DE UM SERVIÇO DE ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE

Déborah Silveira König
Juvenal Soares Dias da Costa
Denise Silva da Silveira
Cintia Müller Leal
Ubirajara Amaral Vinholes Filho

DOI 10.22533/at.ed.37719160124

CAPÍTULO 25 239

UMA NOVA ABORDAGEM PARA A ORIENTAÇÃO SEXUAL NA ESCOLA ESTADUAL NESTOR LIMA, NATAL RN.

Francicleide Venâncio Bezerra Alves
Gabriel Henrique Santana da Silva
Kaline Karla Gomes dos Santos
Rosangela Lopes Dias

DOI 10.22533/at.ed.37719160125

CAPÍTULO 26 252

UTILIZAÇÃO DE ESTUDO DE CASO NO TÓPICO SISTEMA REPRODUTOR HUMANO NO ENSINO MÉDIO

Messias Rodrigues Arruda
Isabel Cristina Higino Santana
Andréa Pereira Silveira

DOI 10.22533/at.ed.37719160126

CAPÍTULO 27 263

INTERVENÇÃO PEDAGÓGICA DO PIBID CIÊNCIAS BIOLÓGICAS COM SALA DE RECURSO MULTIFUNCIONAL

Emellyn Gabriela Ioris
Claudinei de Freitas Vieira
Leide Daiane Nascimento Mascarello
Michele Potrich

DOI 10.22533/at.ed.37719160127

CAPÍTULO 28 268

UTILIZAÇÃO DO LÚDICO NO ENSINO DE BIOQUÍMICA: JOGOS DE ENCAIXE PARA DEMONSTRAÇÃO DIDÁTICA DE MUDANÇAS ESTRUTURAIS DOS COMPOSTOS INTERMEDIÁRIOS DA GLICÓLISE

Maria Julia Sousa da Fonseca
Rebeca Eller Ferreira
Luis Flávio Mendes Saraiva

DOI 10.22533/at.ed.37719160128

SOBRE A ORGANIZADORA 273

EXTRATO DE *Fusarium graminearum* É UMA ALTERNATIVA NÃO TÓXICA PARA USO COMO CORANTE NATURAL: OBTENÇÃO, ESTABILIDADE E ATIVIDADE BIOLÓGICA

Brenda Kischkel

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biologia
Maringá-PR

Beatriz Paes Silva

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Bioquímica
Maringá-PR

Fabiana Gomes da Silva Dantas

Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Dourados-MS

Kelly Mari Pires de Oliveira

Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Dourados-MS

Terezinha Inez Estivalet Svidzinski

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina
Maringá-PR

Melyssa Negri

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina
Maringá-PR

RESUMO: A obtenção de corantes naturais de fungos apresenta algumas vantagens como ser de fonte renovável, de baixo impacto ambiental e alta capacidade de biodegradação, sendo mais harmônica com meio ambiente e menos

nociva à saúde do que os corantes sintéticos. Os pigmentos naturais têm ampla aplicação e podem ser utilizados nas indústrias têxtil, farmacêutica e alimentícia. Este trabalho teve como objetivo desenvolver um bioprocesso simples para a produção e extração de pigmentos de *Fusarium graminearum*, bem como avaliação de possíveis atividades biológicas do extrato. Para otimizar a produção de pigmento pelo fungo, este foi exposto a fermentação submersa e semi-sólida, variando a composição do meio, temperatura e pH. Além disso, o extrato de pigmentos foi exposto a diferentes condições físico-químicas e parâmetros de tingimento para avaliação de sua estabilidade. A confiabilidade do extrato foi determinada através de metodologias para avaliação de atividade antibacteriana, citotoxicidade e mutagenicidade. A produção de pigmentos pelo fungo apresentou potencial em meio PDA semissólido, pH 6, incubado a 27 °C na ausência de luz. Os pigmentos obtidos foram estáveis aos parâmetros testados: temperatura, pH, vapor quente e condições de tingimento. O extrato demonstrou baixa citotoxicidade, efeito antibacteriano e não apresentou potencial mutagênico. Esses resultados são animadores, pois atestam a confiabilidade do extrato para uso industrial.

PALAVRAS-CHAVE: Fermentação semissólida, Pigmentos, Fungos, Bioprocesso, Citotoxicidade.

ABSTRACT: The obtaining natural dyes from fungi present some advantages as a replaceable source, low environmental impact and high capacity for biodegradation, being more harmonic with environment and less harmful to health than synthetic dyes. The natural pigments have wide application and can be used in the textile, pharmaceutical and food industries. This study aimed to develop a simple bioprocess for the production and extraction of pigments from *Fusarium graminearum*, as well as evaluation of possible biological activities of the extract. To optimize pigment production by the fungus, it was exposed to submerged and semi-solid fermentation, varying the composition of the medium, temperature and pH. In addition, the pigment extract was exposed to different physicochemical conditions and dyeing parameters to evaluate its stability. The reliability of the extract was determined through methodologies for evaluation of antimicrobial activity, cytotoxicity and mutagenicity. The production of pigments by the fungus presented potential in a semi-solid PDA medium, pH 6, incubated at 27 ° C in the absence of light. The pigments obtained was stable to the parameters tested as temperature, pH, hot steam and dyeing conditions. The extract showed low cytotoxicity, antibacterial effect and did not present mutagenic potential. These results are encouraging since they attest to the reliability of the extract for industrial use.

KEYWORDS: Semi-solid Fermentation, Pigments, Fungi, Bioprocess, Cytotoxicity.

1 | INTRODUÇÃO

Durante muito tempo a industrialização foi imprescindível na sociedade e trouxe consigo a deposição de materiais, produtos e substâncias potencialmente tóxicos ao meio ambiente, como os resíduos de processos industriais (ZAGATTO, 2008). Entre essas substâncias encontram-se os corantes sintéticos utilizados em diversos processos, como a coloração de tecidos, alimentos e cosméticos (AKILANDESWARI & PRADEEP, 2016). Anualmente, são produzidas 700 mil toneladas de corantes e estima-se que 50% dos corantes utilizados pela indústria têxtil estejam depositados em efluentes, que se não tratados corretamente, podem prejudicar e modificar o efluente (RANI *et al.*, 2014). A presença destes compostos interfere na absorção de luz e oxigênio pelas plantas e animais aquáticos (TEIXEIRA *et al.*, 2014) alterando o ecossistema circundante e interferindo na saúde da população, uma vez que possui efeitos tóxicos, carcinogênicos, teratogênicos e mutagênicos (SURYAVATHI *et al.*, 2005; BABHITA, SOCCOL & PANDEY, 2007; KUMAR *et al.*, 2017). Assim, a produção de materiais que podem afetar diretamente a saúde da população, como a coloração de alimentos e tingimento de roupas, especialmente roupas infantis, apresentam a necessidade de utilização de corantes ecológicos, não-tóxicos (SIVAKUMAR *et al.*, 2009).

Um conceito que atrai interesse na pesquisa é a biorrefinaria, que se trata da conversão de substratos em produtos de valor agregado (BABHITA, SOCCOL & PANDEY, 2007). Os produtos oriundos de fontes renováveis e sustentáveis vêm ganhando destaque devido aos benefícios que trazem à saúde e ao meio ambiente,

como corantes naturais que podem ser obtidos através de plantas, insetos, minerais e micro-organismos (SHARID, UL-ISLAM & MOHAMMAD, 2013). O crescente interesse, por fontes alternativas, para a produção de pigmentos tem incentivado a investigação de fungos filamentosos como potenciais produtores (BLUMENTHAL, 2004), uma vez que os pigmentos obtidos podem apresentar atividade biológica adicional, como propriedades anticancerígenas (TORRES et al., 2016).

Os fungos filamentosos além de desempenharem papéis importantes na natureza, produzem uma ampla gama de substâncias metabolicamente ativas (SUN et al., 2011) que são amplamente exploradas industrialmente como fornecedores de ácido cítrico, glucônico e itacônico, além de enzimas, antibióticos e pigmentos (FERREIRA et al., 2016). Fungos ascomicetos como *Monascus*, *Penicillium*, *Neurospora* e *Fusarium* já foram importantes fontes de pigmentos (FERREIRA et al., 2016), sendo estes últimos, produtores eficientes devido à presença de pigmentos de antraquinona, um grupo de policetídeos aromáticos que são produzidos como metabólitos secundários pelos fungos e responsáveis pelo fenômeno da cor (VELMURUGAN et al., 2010a; DUVAL et al., 2016).

A principal fonte de pigmentos naturais atualmente são as plantas, mas seu uso tende a ser limitado (VELMURUGAN et al., 2010b) e ter algumas desvantagens como quantidade disponível, questões ecológicas, uso do solo e trabalho intenso (SANCHEZ, RUTZ & RODRÍGUEZ-SANOJA, 2013). Em contrapartida, a obtenção de pigmentos de fungos apresenta vantagens como ser de fonte renovável, baixo impacto ambiental e alta capacidade de biodegradação, muito mais harmônica com o meio ambiente (MIRJALILI, NAZARPOOR & KARIMI, 2011). Em 2010, 40% dos corantes disponíveis no mercado eram sintéticos, enquanto o restante representava corantes naturais ou corantes idênticos aos encontrados na natureza. Desta forma, entende-se que a fermentação de micro-organismos como os fungos, são uma fonte muito próspera de pigmentos naturais, segundo Pagano e Dhar (2015), os corantes naturais, devem substituir os corantes sintéticos no futuro.

Levando isso em consideração, este estudo teve como proposta padronizar uma metodologia com melhor qualidade de pigmento natural sintetizado por *Fusarium graminearum*, avaliando os pigmentos obtidos quanto a estabilidade aos parâmetros de produção, possibilidade de apresentar atividade antimicrobiana, efeitos citotóxicos e genotóxicos.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Micro-organismo

Fusarium graminearum foi isolado do campo de trigo da Cooperativa Central de Pesquisa Agropecuária (CODETEC) de Palotina - Brasil. A cepa foi gentilmente

cedida pela professora Marialba A. Alves Castro Prado do Departamento de Ciências Biológicas da UEM e atualmente está armazenada no laboratório de Micologia Médica da UEM.

2.2 Meio de cultura e condições iniciais para a produção de pigmentos

O fungo foi cultivado em dois meios de cultura: submerso (sais-glicose) e semissólido de batata (PDA semissólido). O meio de sais-glicose foi preparado contendo por litro de água deionizada 20 g de glucose; 848 mg NaNO_3 ; 165 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 300 mg KCl; 0,4 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 100 mg NaH_2PO_4 ; 40 mg $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 5,7 mg H_3BO_4 ; 5 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,025 mg $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 3,1 mg $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 4,4 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. O segundo meio foi o PDA semissólido, contendo 50 g de batata por litro de água deionizada; 7,0 g de dextrose (D-glicose anidra; Synth; São Paulo, Brasil) e 1,8 g de ágar bacteriano (Kasvi; Itália) em erlenmeyer. Ambos os meios foram inoculados com pedaços do micélio (aproximadamente 12 mm de diâmetro) da cultura de *F. graminearum* recém crescidos em ágar batata e incubados a 28°C em condições estacionárias e ausência de luz por 4-6 semanas.

2.3 Avaliação do pH e temperatura ideais para a melhor produção de pigmentos

Após o período inicial de incubação, os meios que propiciaram a coloração foram selecionados para as etapas subsequentes. A avaliação do pH foi realizada no meio selecionado, em frascos diferentes, e em duplicata para cada faixa de pH (2, 3, 4, 5, 6 e 7). O efeito da temperatura foi avaliado no mesmo meio, com o pH que forneceu pigmentos mais fortemente expressos em experimentos anteriores, sendo avaliada a temperatura a 20 e 27°C (GUNASEKARAN & POORNIAMMAL, 2008; NAGIA, ELMOUHAMED, 2007). Todas as condições de cultura foram incubadas durante 4-6 semanas na ausência de luz.

2.4 Extração do pigmento fúngico e obtenção de biomassa

Posteriormente, os pigmentos foram extraídos de todas as culturas testadas, bem como a retenção da biomassa constituída pelo fungo. O micélio foi separado por filtração em gaze estéril. Em seguida, uma solução a 95% (v/v) de etanol (Synth; São Paulo, Brasil) foi adicionada ao filtrado. A mistura foi incubada em agitador (Nova Ética, 430 - RDBP, Brasil) a 180 rpm a 30 °C por 30 min, centrifugada a 4000 rpm por 10 min, então o sobrenadante foi recuperado e filtrado em filtro Millipore 0,45 µm. O extrato livre de células foi analisado em espectrofotômetro ultravioleta visível (UV-Vis - Quimis®; São Paulo, Brasil) a 530, pois representa a absorção máxima de pigmentos vermelhos. O micélio foi incubado em estufa para secagem e obtenção do peso seco.

2.5 Estabilidade dos pigmentos

Os testes de estabilidade seguiram a metodologia descrita por Velmurugan et al (2010b) e Perumal et al (2009). Após a produção e extração dos pigmentos (500 mL da cultura fermentada otimizada), a solução extraída foi rotaevaporada e ao extrato resultante, foram adicionados 150 mL de água destilada. Nos tubos de ensaio foram adicionados 3 mL do extrato de pigmento e cada tubo foi submetido a condições diferentes. Os tubos foram submetidos à análise no espectrofotômetro UV-Vis antes e após a exposição às seguintes condições: temperatura de 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 °C por 10 min, mudança de pH para 2, 4, 6, 8, 10 e 12, incubação a 60 °C por 12 h, exposição à luz solar por 2 h, exposição à solução salina de cloreto de sódio (NaCl; Synth; São Paulo, Brasil) nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 e 1% e solução ácida de ácido cítrico (C₆H₈O₇; Synth; São Paulo, Brasil) sob faixa de concentração de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 e 1%.

O percentual de estabilidade (S%) foi calculado usando a seguinte equação: $S (\%) = [(A0-A1) \times 100] / 3$ onde A0 representa a absorbância do extrato antes dos tratamentos e A1 representa a absorbância do extrato após os tratamentos.

2.6 Atividade antibacteriana do extrato de pigmento

Neste estudo, foram utilizadas cepas de referência de *Enterococcus faecalis* 51299 e *Staphylococcus aureus* 29213 da American Type Culture Collection (ATCC - Rockville, MD, EUA). Para o teste de suscetibilidade, utilizou-se o método de microdiluição em caldo, de acordo com os padrões do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M7-A6 para bactérias, com algumas modificações para produtos naturais.

Para determinar a concentração inibitória mínima (CIM), o extrato foi diluído nas concentrações de 15; 7,5; 3,75; 1,8; 0,9; 0,4; 0,2; 0,1; 0,05 e 0,02 mg/mL em placas de 96 poços e em seguida foi adicionado o inóculo de cada bactéria preparado em caldo Müller-Hinton (MHB; Difco™, EUA) correspondente a 0,5 da escala de McFarland. As placas foram incubadas a 35 °C durante 24 h. Para determinar a concentração bactericida mínima (CBM), após o período de incubação, os poços foram homogeneizados e 10 µL de cada poço foram transferidos para placas de ágar Müller-Hinton (MHA; Difco™, EUA) e incubados novamente por 24 h. CIM foi considerada a menor concentração em que não houve crescimento evidente de bactérias, tendo como referência os controles positivos.

2.7 Ensaio de Citotoxicidade

Este ensaio foi utilizado para avaliar se o extrato obtido possui propriedades nocivas às células. Utilizaram-se linhas celulares HeLa e SiHa, oriundas de carcinoma cervical humano, mantidas no Laboratório Multiusuário de Cultura Celular e Tecidos da Universidade Estadual de Maringá. As células foram mantidas em meio RPMI 1640 (contendo L-Glutamina, tamponada com 2 g/L de bicarbonato de sódio - Gibco, NY,

EUA), suplementadas com 10% de soro fetal bovino (FBS; Life Technologies; Itapevi, Brasil), 0,5 % de anfotericina B (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) e 0,5% de penicilina / estreptomicina (Gibco; NY, EUA). Para realizar o ensaio, um inóculo de 2×10^5 células/mL foi preparado em meio RPMI 1640 e 200 μ L distribuídos em placas de 96 poços. A placa foi incubada a 5% de CO₂ durante 24 horas. Posteriormente, os poços foram lavados duas vezes com solução tampão de fosfato de sódio 0,1% (PBS, pH 7,4) e adicionado o extrato diluído em RPMI 1640 nas concentrações de 30; 15; 7,5; 3,75; 1,8; 0,9; 0,4; 0,2; 0,1 e 0,05 mg/mL.

Para avaliar a viabilidade celular foi utilizado o ensaio Cell Titer 96 (Promega, Madison, WI, EUA), que consiste na redução de MTS (3- [4,5- dimetiltiazol-2-il] -5-[3-carboximetoxifenil].] -2- [4-sulfofenil] -2H-tetrazólio). O MTS foi diluído 1:10 em DMEM isento de fenol (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA), do qual foram adicionados 100 μ L a cada poço. A placa foi incubada novamente na ausência de luz por três horas. Após, foi realizada a leitura da placa em leitor de microplacas ASYS (Biochrom, Holliston, MA, EUA) a 490 nm. Poços contendo apenas meio de cultura e meio de cultura com células, foram utilizados como controle negativo e positivo, respectivamente. A percentagem de viabilidade celular (CV%) foi calculada pela seguinte equação: $CV\% = [(A-B) \times 100] / C+$, onde (A), corresponde a amostra, e (B), o controle negativo.

2.8 Teste de mutagenicidade

O potencial mutagênico do extrato foi avaliado pelo método de microssuspensão, com adaptações, proposto por Kado et al (1983). Os ensaios foram realizados com cepas de *Salmonella* TA100 (hisG46 / rfa / Δ uvrB / pKM101 / ApR) na presença e ausência de ativação metabólica, a partir da fração S9 (Molotoxic Molecular Toxicology Inc., EUA).

Foi preparado um inóculo de $1-2 \times 10^9$ bactérias/mL em PBS 0,2 mM (pH 7,4). No ensaio de ativação não metabólica, foi adicionado 5 μ L de diferentes concentrações de extrato etanólico (22,5; 7,5; 0,8 e 0,2 mg / mL), 50 μ L da suspensão bacteriana e 50 μ L de PBS 0,2 mM em cada tubo de ensaio. Para o ensaio de ativação metabólica, foram adicionados 50 μ L da fração S9, substituindo o PBS. Subsequentemente, os tubos foram pré-incubados durante 90 minutos a 37 °C. Após a pré-incubação, 2 mL de top ágar foram adicionados à solução e os tubos foram homogeneizados e vertidos em placas com ágar mínimo glicado (MGA). O número de colônias revertentes por placa, his+, foi mensurado em número absoluto após 66 horas a 37 °C.

O controle positivo utilizado nos testes sem ativação metabólica foi a azida sódica 2,5 μ g/placa (Sigma-Aldrich, EUA). Nos ensaios de ativação metabólica foi utilizado o composto 2-aminoantraceno 0,625 μ g/placa (2-AA; Sigma-Aldrich, EUA). Controles negativos foram realizados com o solvente da amostra, Etanol (5 mL/placa). O índice de mutagenicidade (IM) também foi calculado de acordo com a seguinte fórmula, em que (N) corresponde ao Número de revertentes e (C-) Controle negativo: $IM = N/C-$

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação do meio de cultura, pH e temperatura

A expressão de pigmentos pelo fungo é influenciada diretamente por suas condições de desenvolvimento, fatores externos como temperatura, pH e disponibilidade de nutrientes, podem favorecer ou inibir a sua produção (AKILANDESWARI E PRADEEP 2016). Os processos de fermentação realizados neste estudo ocorreram sob a ausência de luz, considerando que a luz também é um fator que pode influenciar significativamente o crescimento e expressão de pigmentos intracelulares e extracelulares. Resultados satisfatórios com diferentes espécies de fungos incubados na escuridão total já foram relatados, enquanto a exposição a diferentes comprimentos de onda da luz prejudicou ou inibiu a produção de pigmentos (VELMURUGAN et al 2010b).

O crescimento do fungo foi avaliado em dois meios de cultura: submerso (sais-glicose) e PDA semissólido. Decorrido o período de incubação houve confirmação visual de pigmentos vermelhos no meio PDA semissólido. Enquanto, no meio submerso não houve produção de pigmentos. Resultados divergentes dos encontrados para *F. oxysporum*, no qual o meio artificial de sais-glicose foi eficiente para obtenção de pigmento (NAGIA & EL-MOHAMEDY, 2007). Em culturas submersas, fungos filamentosos podem apresentar características morfológicas distintas (BEVORIC et al., 1991; GMOSER et al., 2017) que podem influenciar na secreção de metabólitos e conseqüentemente na expressão de pigmentos no meio, uma vez que pode interferir na absorção de oxigênio e nutrientes (TORRES et al., 2016; CHOUDHARI et al., 2007; LV et al., 2017). Em nosso estudo, *F. graminearum* exibiu características morfológicas distintas nos dois meios, sendo que o meio PDA semissólido proporcionou maior esporulação o que está de acordo com a literatura (VINIEGRA-GONZALEZ, 1997; ANWER, 2017). Esse tipo de crescimento está associado com maior expressão de metabólitos secundários, confirmando ser a melhor das duas formulações (Machado et al., 2013).

A fermentação de *F. graminearum* foi avaliada no meio PDA semissólido incubado a 20 e 27°C (Figura 1A). A maior produção de pigmentos vermelhos foi observado a 27°C, sendo a temperatura escolhida como ideal para o processo de produção de pigmentos e avaliado em pH 2, 3, 4, 5, 6, e 7 (Figura 1B). A produção de pigmentos foi estimulada com o aumento do pH, desta forma, a menor absorbância foi observada em pH 2 e maior em pH 7, apesar disso, visualmente no pH 6 apresentou pigmentos vermelhos mais escuros, provavelmente porque a partir de preparações com pH 7 e acima, foi observada maior turbidez não relacionada a pigmento, sendo descartada deste estudo. A produção de biomassa, em alguns casos, foi igualmente estimulada conforme o aumento de pH.

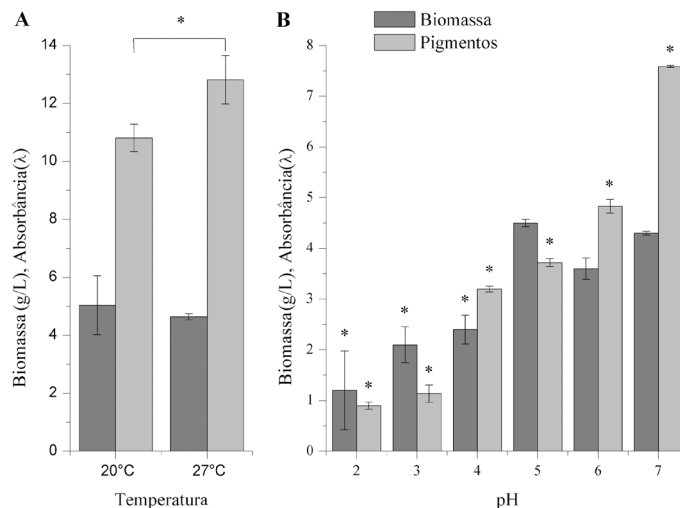


Figura 1. Produção de pigmentos por *Fusarium graminearum* em meio semissólido de batatas sob diferentes faixas de: **A.** Temperatura (20 e 27 °C), **B.** pH (2, 3, 4, 5, 6 e 7). * representa valores de biomassa e pigmento estatisticamente diferentes comparado com todas as demais faixas de temperatura ou pH testados de acordo com o Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Nossos resultados corroboram aos obtidos para produção de pigmentos vermelhos por *Isaria farinosa*, avaliada a 20, 27 e 35°C e pH 4, 5, 6, 7, 8 e 9, e conseguiu maior rendimento de pigmentos a 27°C, em pH 5-6 e ainda, produção de biomassa mais elevada nesses parâmetros (VELMURUGAN et al., 2010b). Apesar disso, a padronização de variáveis como temperatura e pH, em relação ao tipo de meio de cultura utilizado e a espécie de fungo em estudo, é de extrema importância, uma vez que os fatores ideais para produção de pigmentos para cada espécie de fungo poderá ser diferente nessas condições, assim como *Penicillium purpurogenum* GH2, também investigado pela produção de pigmentos vermelhos, em meio submerso foi observado maior produção em pH 5, a 24°C (MÉNDEZ et al., 2011). Ao contrário do observado em cultura sólida, no qual apresentou condições ótimas de cultura a pH 10 e 24 °C (ESPINOZA-HERNANDEZ et al., 2013).

Méndez e colaboradores (2011) ressaltaram a importância do controle de pH e temperatura durante os processos industriais, já que estes são fatores capazes de influenciar significativamente a biossíntese de metabólitos primários e secundários, o crescimento celular e formação do micélio. Assim, em nosso estudo, as melhores condições para expressão de pigmentos por *F. graminearum* foram padronizadas em: incubação em meio PDA semissólido, em pH 6 a 27°C.

3.2 Teste de Estabilidade do extrato de pigmentos

Nas últimas décadas observa-se uma busca a alternativas aos corantes sintéticos, como os ecológicos, para serem incluídos na produção de produtos que podem afetar diretamente a saúde da população, como a coloração de alimentos e tingimento de roupas, principalmente infantis (SIVAKUMAR et al., 2009). No entanto, uma das desvantagens na aplicação de corantes naturais é que estes são

susceptíveis à degradação durante os processos de fabricação, e armazenamento do produto produzido, interferindo assim, na cor final desejada do produto (SANTOS; FÁVARO-TRINDADE; GROSSO, 2005). Deste modo, é de fundamental importância a determinação da estabilidade de um corante natural.

Os resultados obtidos pela exposição de alíquotas do extrato submetido a condições extremas podem ser observadas na Tabela 1. A cor inicial do pigmento era vermelha escura e um tom diferente de cor resultou após exposição do extrato a luz solar e ao vapor quente, onde adquiriu uma cor amarronzada. Nos demais parâmetros testados como a temperatura, pH, solução ácida ($C_6H_8O_7$) e básica (NaCl), o extrato se manteve mais estável.

Parâmetros	Propriedades	
Solubilidade	Solúvel em água com adição de solventes orgânicos	
Absorção (nm)	500	
Coloração	Vermelho escuro	
Parâmetros	Estável em	Estabilidade (%)
pH	2 - 14	98,8% ± 0,55
Temperatura	40 - 90°C	97,6% ± 2,45
Vapor quente	-	94,2% ± 0,04
Luz solar	-	66,3% ± 2,24
Cloreto de sódio	0,1 - 1%	97,7% ± 1,61
Ácido cítrico	0,1 - 1%	96,4% ± 1,05

Tabela 1. Propriedades do pigmento obtido de *Fusarium graminearum* e sua estabilidade a diferentes tratamentos.

Conforme os dados encontrados, o pigmento produzido por *F. graminearum* pode ser considerado estável, diferentemente do pigmento vermelho de *Isaria farinosa* que sofreu desnaturação em várias faixas de pH e temperatura, apesar de estabilidade ao vapor e à luz solar (VELMURUGAN et al., 2010b). Ainda, há pigmentos produzidos por fungos que se mantêm estáveis em faixas restritas e específicas de pH, como o pigmento produzido por *Thermomyces*, estável apenas em pH 5 - 8 (POORNIAMMAL & GUNASEKARAN, 2015) e *Penicillium aculeatum*, estável a pH neutro (MAPARI et al., 2009). Por outro lado, pigmentos produzidos por *Monascus*, um dos fungos mais estudados para a produção de pigmentos alimentícios, se mostrou estável numa ampla faixa de pH de 2-10 e estabilidade ao calor de autoclavagem (MAPARI, THRANE & MEYER, 2010).

Os pigmentos fúngicos têm sido relatados como sendo mais estáveis do que outros pigmentos naturais extraídos de fontes vegetais (AGUILAR et al., 2018). No entanto, ainda existem poucas cepas de fungos filamentosos no mercado como *Monascus*, e que precisam buscar soluções para a melhoria da capacidade tintorial para estarem aptos a competir com as demais fontes de pigmentos (GMOSER et al., 2017). Assim, os resultados obtidos neste estudo se demonstram satisfatórios, uma vez que o extrato produzido por *F. graminearum* apresentou grande estabilidade, uma característica

almejável, quando exposto a condições com diferentes faixas de temperatura, pH, solução ácida e básica, sem perda significativa de suas características.

3.3 Atividade antimicrobiana do pigmento

Novas abordagens para o controle da contaminação microbiana têm sido exploradas devido a riscos de transmissão de doenças por alimentos contaminados (HERNÁNDEZ-ORTEGA et al., 2012). Os pigmentos de origem microbiana, além de fornecer uma fonte alternativa aos corantes sintéticos, apresentam vantagens sobre eles, uma vez que podem apresentar propriedades biológicas de interesse que podem aumentar seu valor agregado como, atividade anticancerígena, antioxidante e antimicrobiana (RAO et al., 2017). Desta forma, em nosso estudo foi realizado o ensaio de susceptibilidade *in vitro* no intuito de determinar se os pigmentos em questão, possuem potencial antibacteriano. A CIM foi considerada a menor concentração a qual não houve nenhum crescimento evidente de microrganismos, sendo observado uma CIM e CBM de 3,75 mg/mL e 7,5 mg/mL de extrato para *E. faecalis* 51299 e *S. aureus* 29213, respectivamente.

A partir dos resultados obtidos é possível considerar que o extrato de pigmentos possui atividade antibacteriana satisfatória, uma vez que para *Rhodotorula glutinis*, foi necessário uma concentração mais elevada do extrato de pigmentos para alcançar a mesma eficiência sobre *E. faecalis* e *S. aureus*, ambos com CIM a 16 mg/mL (ROSTAMI et al., 2016). Por outro lado, o extrato acetato de etila de fungos endofíticos isolados de *Piper crocatum*, demonstrou atividade antibacteriana contra cepas de *B. subtilis*, *E. coli* e *S. aureus* a 31,25; 125 e 250 µg/mL do extrato (ASTUTI et al., 2014).

O extrato de fungos e sua atividade como agente antimicrobiano já foi explorado por alguns autores (AVANISH et al., 2015; PHARAMAT et al., 2013). Assim, em nosso estudo, ficou comprovado que o extrato de *F. graminearum* possui potencial atividade microbicida, para ambos os isolados avaliados, mas em concentrações diferentes.

3.4 Ensaio de Citotoxicidade e mutagenicidade

Diversos casos de reações alérgicas associadas aos corantes sintéticos vêm sendo relatados. Corantes como amaranço, tartrazina e eritrocina, demonstraram em estudos *in vitro*, a capacidade de se ligar diretamente ao DNA, além disso já é bem conhecido o potencialmente carcinogênico, teratogênico e mutagênico de outros corantes (BABHITA, SOCCOL & PANDEY, 2007). Um número crescente de pigmentos fúngicos têm sido relatados na literatura, apesar disso, esses pigmentos devem cumprir com alguns critérios como toxicidade (MALIK, TOKKAS & GOYAL, 2012). Portanto, a avaliação desses pigmentos quanto aos seus possíveis efeitos é de extrema importância, e explorado neste estudo, através de métodos para avaliar a citotoxicidade e mutagenicidade, determinando se o extrato em estudo pode ser considerado uma alternativa confiável.

Os resultados do ensaio de viabilidade celular foram obtidos através do método colorimétrico utilizando o MTS. Ambas as células responderam de modo semelhante ao extrato, apresentando IC_{50%} na concentração de 3,7 mg/mL do extrato etanólico.

Pode-se considerar que o extrato apresentou baixa toxicidade para linhagens celulares uma vez que precisou de concentração equivalente, necessária para matar todas as bactérias e atingir 50% de células HeLa e SiHa. Além disso, outros estudos têm observado doses baixíssimas para IC₅₀, como Wu, et al (2014), que demonstrou o efeito inibitório do extrato de *Fomitopsis pinicola* em células cancerosas de fígado, pulmão, colorretal e mama, com IC₅₀ = 7,4 µg/mL. Em nosso estudo foi possível observar que o extrato inibe o crescimento da linhagem celular de forma dependente da dose, assim como observado para o extrato de fungos endofíticos contra linhagens celulares T47D e WiDr com IC_{50%} de 37,43 µg/mL e 120,38 µg/mL, respectivamente (ASTUTI et al., 2014). Liu et al (2009) observaram que o extrato etanólico de dois fungos, *G. lucidum* e *G. sinense* apresentavam efeito de proliferação antitumoral através da via de apoptose e do efeito de parada do ciclo celular em linhagens de células tumorais.

A avaliação da atividade mutagênica foi realizada seguindo a metodologia de AMES, o teste consiste em avaliar a mutação reversa de *Salmonella* sorovar Typhimurium para detectar mutações induzidas por agentes físicos e químicos genotóxicos. A amostra é considerada com potencial mutagênico quando o índice de mutagenicidade (IM) for igual ou maior que dois em pelo menos uma das concentrações testadas e quando houver uma relação de dose-resposta entre as concentrações testadas e o número de revertentes induzidos (MORTELMANS; ZEIGER, 2000).

Após a contagem das colônias revertentes por placa foi observado que o composto não apresentou potencial mutagênico para a linhagem TA100 de *Salmonella typhimurium* na presença e ausência de ativação metabólica, uma vez que o índice de mutagenicidade foi inferior a 2 e os resultados não sugeriram uma relação de dose resposta.

Tratamento (µg/placa)	TA100	
	S9-	S9+
0,0 ^a	197,8 ± 13	207,2 ± 19
275	172 ± 27 (0,86)	219,33 ± 11 (1,05)
850	159,67 ± 11 (0,80)	215 ± 25 (1,03)
2500	146 ± 19 (0,73)	212 ± 19 (1,02)
7500	151,33 ± 4 (0,76)	187 ± 26 (0,90)
22500	153,33 ± 17 (0,77)	150 ± 13 (0,72)
C+	865 ± 10	888 ± 12

Tabela 2. Atividade mutagênica expressa pela média de revertentes/placa, desvio padrão e índice de mutagenicidade (MI) do extrato de *F. graminearum* em cepas TA100 de *S. Typhimurium* na presença (+ S9) e ausência (S9) de ativação metabólica.

^aControle negativo: DMSO; Controle Positivo (C +): ^bazida sódica (2,5 µg/plate); ^c2-aminoantraceno (1,5 µg/plate).

Nossos resultados estão de acordo com o observado por outros autores, como Lopes (2015), que avaliaram a genotoxicidade e mutagenicidade de extratos brutos produzidos pelos fungos *P. stromaticum* e *Neofusicoccum* sp., e observaram que estes não ocasionaram danos genotóxicos, e não induziram mutagenicidade para células.

Outros estudos já relataram a capacidade de compostos antimicrobianos serem tóxicos para cânceres humanos (CUI, GUO & XIAO, 2011; SANTIAGO et al., 2012; ROSTAMI et al., 2016). Apesar disso, muitos pigmentos microbianos ainda são proibidos em muitos países. O melhor exemplo é o pigmento *Monascus* que tem sido usado na Ásia durante séculos como corante alimentar, mas proibido na Europa e nos Estados Unidos devido à presença de micotoxinas (DUFOSSE et al., 2005). Nesse contexto, o fato do extrato em estudo apresentar baixa toxicidade, e não possuir potencial mutagênico, é animador uma vez que testes toxicológicos apontam a confiabilidade dos pigmentos orgânicos extraídos, como uma fonte alternativa mais viável em substituição aos corantes sintéticos, já que uma das maiores preocupações em relação aos corantes sintéticos está ligada a toxicidade de alguns de seus compostos (NAGIA & EL-MOHAMEDY, 2007).

4 | CONCLUSÃO

A partir dos resultados apresentados é possível concluir que a forma mais adequada para máxima obtenção de pigmentos por *F. graminearum* consiste na fermentação utilizando meio PDA semissólido, com pH 6, incubado a 27°C sob condições estacionárias e ausência de luz. O extrato obtido apresentou estabilidade aos parâmetros de produção avaliados: temperatura, pH, vapor e condições de tingimento. Não apresentou atividade mutagênica ou citotóxica significativas e demonstrou atividade antimicrobiana. Assim esses resultados são animadores uma vez que atestam a confiabilidade do extrato para uso industrial.

REFERÊNCIAS

AGUILAR D; MORALES-OYERVIDES L; CONTRERAS-ESQUIVEL J.C; MÉNDEZ-ZAVALA A; RASO J. MONTAÑEZ J. Effect of ozone processing conditions on stability of fungal pigments. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 45, p. 255-263, fev., 2018.

AKILANDESWARI P; PRADEEP B. V. Exploration of industrially important pigments from soil fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 1631–1643, 2016.

ANWER A. Status of biopesticides and biocontrol agents in agriculture: an overview. In; ANWER, A. (Eds.) **Biopesticides and Bioagents: Novel Tools for Pest Management**. Apple academic press, v. 1, p. 418, 2017.

ASTUTI P; WAHYONO; NABABAN O. A. Antimicrobial and cytotoxic activities of endophytic fungi isolated from *Piper crocatum* Ruiz & Pav. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 2, p. 592–596, 2014.

AVINASH K. S; ASHWINI S; RAMESH B. N; KRISHNAMURTHY Y. L. Antimicrobial Potential of Crude Extract of *Curvularia lunata*, an Endophytic Fungi Isolated from *Cymbopogon caesius*. **Journal of Mycology**, p. 4, nov., 2015.

BABHITA S; SOCCOL C. R; PANDEY A.: Solid-state fermentation for the production of *Monascus* pigments from jackfruit seed. **Bioresource technology**, v. 98, p. 1554-1560, 2007.

BERNSTEIN L; KALDOR J; MCCANN J; PIKE M. C. An empirical approach to the statistical analysis of mutagenesis data from the Salmonella test. **Mutation Research**, v. 97, n. 4, p. 267-281, 1982.

BEROVIC M; CIMERMAN A; STEINER W; KOLOINI T. Fermentation with submerged citric acid: rheological properties of the *Aspergillus niger* broth in a stirred tank reactor **Appl. Microbiol. Biotechnol**, v. 34, p. 579 - 581, 1991.

BLUMENTHAL C. Z. Production of toxic metabolites in *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. **Regul Toxicol Pharmacol**, v. 39, p. 214–228, 2004.

CHOUDHARI S. M; ANANTHANARAYAN L; SINGHAL R. S. Use of metabolic stimulators and inhibitors for enhanced production of β -carotene and lycopene by *Blakeslea trispora* NRRL 2895 and 2896. **Bioresour Technol**, v. 99, p. 3166-3173, 2008.

CUI J; GUO S; XIAO P. Antitumor e atividades antimicrobianas de fungos endofíticos de partes medicinais de *Aquilaria sinensis*. **Journal of Zhejiang Science University B**, v. 12, n. 5, p. 385-392, 2011.

DUFOSSE L; GALAUP P; YARON A; ARAD S. M; BLANC P; MURTHY K. N. C; et al. Microorganisms and microalgae as source of pigments for use: a scientific oddity or an industrial reality?. **Trends. Food Sci. Technol**, v. 16, p. 389–406, 2005.

DUVAL J; PECHER V; POUJOL M; LESELLIER E. Research advances for the extration, analysis and uses of anthraquinones: a review. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 812–833, 2016.

ESPINOZA-HERNÁNDEZ T. C; RODRÍGUEZ-HERRERA R; GONZÁLEZ C. N. A; LARA-VICTORIANO F; REYES-VALDÉS M. H; CASTILLO-REYES F. Characterization of three novel pigment-producing *Penicillium* strains isolated from the Mexican semidesert. **African journal of biotechnology**, v. 12, n. 22, p. 3405-3413, Mai., 2013.

FERREIRA J A; MAHBOUBI A; LENNARTSSON P. R; TAHERZADEH M. J. Waste biorefineries using filamentous ascomycetes fungi: present status and future prospects. **Bioresour Technol**, v. 215, p. 334–345, 2016.

GMOSER R; FERREIRA J. A; LENNARTSSON P. R; TAHERZADEH M. J. Filamentous ascomycetes fungi as a source of natural pigments. **Fungal Biol Biotechnol**. v. 4, n. 4, 2017;

GUNASEKARAN S; POORNIAMMAL R. Optimization of fermentation conditions for red pigment production from *Penicillium* sp. Under submerged cultivation. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 12 p. 1894-1898,Jun., 2008.

HERNÁNDEZ-ORTEGA M; ORTIZ-MORENO A; HERNÁNDEZ-NAVARRO M. D; CHAMORRO-CEVALLOS G; DORANTES-ALVAREZ L; NECOECHEA-MONDRAGÓN H. Antioxidant, Antinociceptive, and Anti-Inflammatory Effects of Carotenoids Extracted from Dried Pepper (*Capsicum annuum* L.). **J Biomed Biotechnol**, 2012.

KADO N. Y; LANGLEY D; EISENSTADT E. A simple modification of the Salmonella liquid-incubation assay. Increased sensitivity for detecting mutagens in human urine. **Mutat. Res.** v. 121, p. 25-32, 1983.

KUMAR A; DOBROVOLSKY V. N; DHAWAN A; SHANKER R. Mutagenicity: Assays and Applications, pp. 133-160, in: MANDAL P; RAI A; MISHRA S; TRIPATHI, A; DAS M. (Ed), **Mutagens in food**, v. 1. Academic Press, 2017.

LIU Y. W; GAO J. L; GUAN J; QIAN Z. M; FENG K; LI S. P. Evaluation of Antiproliferative Activities and Action Mechanisms of Extracts from Two Species of *Ganoderma* on Tumor Cell Lines. **J. Agric. Food Chem**, v. 57, n. 8 p. 3087–3093, 2009.

LOPES, P. S. **Avaliação dos efeitos antitumorais de extratos brutos produzidos por fungos endofíticos isolados de *Eugenia jambolana* em células de hepatocarcinoma murino (Hepa-1c1c7)**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita filho. Araraquara, SP, 2015.

LV J; ZHANG B. B; LIU X. D; ZHANG C; CHEN L; XU G. R; CHEUNG P. C. K. Enhanced production of natural yellow pigments from *Monascus purpureus* by liquid culture: The relationship between fermentation conditions and mycelial morphology. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 124, n. 4, p. 452-458, 2017.

MACHADO I; TEIXEIRA J. A; RODRÍGUEZ-COUTO S. Semi-solid-state fermentation: A promising alternative for neomycin production by the actinomycete *Streptomyces fradiae*. **journal of biotechnology**, v. 165, p. 195–200, 2013.

MALIK K; TOKKAS J; GOYAL S. Microbial pigments: A Review. **International Journal of Microb. Res. Technol.** p. 1361–365, 2012.

MAPARI S. A. S; NIELSEN K. F; LARSSSEN T. O; FRISVAD J. C; MEYER A. S; THRANE U. Exploring fungal biodiversity for the production of water-soluble pigments as potential natural food colorants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 16, p. 231-238, 2005.

MAPARI S. A. S., THRANE U., MEYER A. S. Fungal polyketide azaphilone pigments as future natural food colorants?. **Trends Biotechnol**, v. 28, p. 300–307, 2010.

MÉNDEZ A; PÉREZ C; MONTAÑEZ J. C; MARTÍNEZ G; AGUILAR C. N. Red pigment production by *Penicillium purpurogenum* GH2 is influenced by pH and temperature. **Journal of Zhejiang Science University B**, v. 12, n. 12, p. 961–968, Dez., 2011.

MIRJALILI M; NAZARPOOR K; KARIMI L. Eco-friendly dyeing of wool using natural dye from weld as co-partner with synthetic dye. **Journal of Cleaner Production**, v. 19, p. 1045-1051, 2011.

MORTELMANS, K.; ZEIGER, E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 455, n. 1-2, p. 29–60, 2000.

NAGIA F. A; EL-MOHAMEDY R. S. R; Dyeing of wool with natural anthraquinone dyes from *Fusarium oxysporum*, **Dyes and Pigments**, v. 75, p. 550-555, 2007.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Document M7-A6. NCCLS, Wayne, Pa., 2003.

PAGANO M. C; DHAR P. P. Fungal pigments: an overview. In: GUPTA V. K; MACH R. L; SREENIVASAPRASAD S. editors. **Fungal bio-molecules: sources, applications and recent developments**, London: Wiley, v. 1, p. 173–181, 2015.

Perumal K; Stalin V. K; Chandrasekarethiran S; Sumathi E; Saravanakumar A. Extraction and characterization of pigment from *Sclerotinia* sp. and its use in dyeing cotton. **Textile Research**

Journal, v. 79, p. 1178-1187, 2009.

PHARAMAT T; PALAGA T; PIAPUKIEW J; WHALLEY A. J. S; SIHANONTH P. Antimicrobial and anticancer activities of endophytic fungi from *Mitrajyna javanica* Koord and Val, **African Journal of Microbiology Research**, v. 7, n. 49, p. 5565–5572, 2013.

POORNIAMMAL R., GUNASEKARAN S. Physical and chemical stability analysis of Thermomyces Yellow Pigment for Food Application. **Intl. J. Food . Ferment. Technol.**, v. 5, n. 1, p. 47-52, Jun., 2015.

RANI B; VIVEK K; SINGH J; BISHT S; TEOTIA P; SHARMA S. AND KELA, R.: Bioremediation of dyes by fungi isolated from contaminated dye effluent sites for bio-usability. **Brazilian journal of microbiology**, v.45, p. 1055 - 1063, 2014.

RAO M. P. N; XIAO M; LI W. J. Fungal and Bacterial Pigments: Secondary Metabolites with Wide Applications. **Front Microbiol.** v. 8, p. 1113, 2017.

ROSTAMI H; HAMED H; YOLMEH M. Some biological activities of pigments extracted from *Micrococcus roseus* (PTCC 1411) and *Rhodotorula glutinis* (PTCC 5257). **Int J Immunopathol Pharmacol**, v. 29, n. 4, p. 684–695, dez., 2016.

SANCHEZ S, RUTZ B, RODRÍGUEZ-SANOJA R. Produção microbiana de carotenóides. Em: BRIAN M, DAVID A, IOANNIS G, LINDA H, editores. **Produção microbiana de ingredientes alimentares, enzimas e nutracêuticos**. Burlington: Elsevier Science, p. 194-223, 2013.

SANTIAGO C; FITCHETT C; MUNRO M. H. G; JALIL J; SANTHANAM J. Cytotoxic and Antifungal Activities of 5-Hydroxyramulosin, a Compound Produced by an Endophytic Fungus Isolated from *Cinnamomum mollisimum*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, V. 2012, p. 6, 2012.

SANTOS A. B; FÁVARO-TRINDADE C. S; GROSSO C. R. F. Preparo e caracterização de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 322-326., 2005.

SHARID M; UL-ISLAM S; MOHAMMAD F. Recent advancements in natural dye applications: a review. **Journal of cleaner production**, v. 53, p. 310-331, 2013.

SIVAKUMAR V; LAKSHMI A. J; VIJAYEESWAREE J; SWAMINATHAN, G. Ultrasound assisted enhancement in natural dye extraction from beetroot for industrial applications and natural dyeing of leather. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 16, p. 782–789, 2009.

SUN R; GAO Y. X; SHE, K. Z; XU Y. B; WANG C. R; LIU H. Y; DONG J. Y.: Antimicrobial metabolites from the aquatic fungus *Delitschia corticola*. **Phytochemistry letters**, v. 4, p. 101-105, 2011.

SURYAVATHI V; SHARMA S; SHARMA S; SAXENA P; PANDEY S; GROVER R; KUMAR S; SHARMA K. P. Acute toxicity of textile dye wastewaters (untreated and treated) of Sanganer on male reproductive systems of albino rats and mice. **Reproductive Technol**, v. 19, p. 547-556, 2005.

TEIXEIRA T. P. F; AQUINO S. F; PEREIRA S. I; DIAS A. Use of Calcined Layered Double Hydroxides for the Removal of Color and Organic Matter from Textile Effluents. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 31, p. 19 - 26, 2014.

TORRES F. A. E; ZACCARIM B. R; NOVAES L. C. L; JOZALA A. F; DOS SANTOS C. A; TEIXEIRA M. F. S; SANTOS-EBINUMA V. C. Natural colorants from filamentous fungi. **Appl Microbiol Biotechnol.**, v. 100, p. 2511–2521, 2016.

VELMURUGAN P; KAMALA-KANNAN S; BALACHANDAR V; LAKSHMANAPERUMALSAMY P; CHAE J.-C; OH, B-T. Natural pigment extraction from five filamentous fungi for industrial applications

and dyeing of leather. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 262-268, 2010a.

VELMURUGAN P; LEE Y. H; NANTHEKUMAR K; KAMALA-KANNAN S; DUFOSSÉ L; MAPARI S. A. S; OH, B-T. Water-soluble red pigments from *Isaria farinosa* and structural characterization of the main colored component. **Journal of Basic Microbiology**, v. 50, p. 581–590, 2010b.

VINIEGRA-GONZALES, G. solid state fermentation: definition, characteristics, limitation and monitoring, p 5-22. Em: ROUSSOUS, S. et al. (Eds.) **Advances in solidstate fermentation**. Dordecht: Kluwer academic publishers, 1997.

WU H. T; LU F. H; SU Y. C; OU H. Y; HUNG H. C; WU J. S; YANG Y. C; CHANG C. J. *In Vivo* and *In Vitro* Anti-Tumor Effects of Fungal Extracts. **Molecules**, v. 19, n. 2, p. 2546-2556, 2014.

ZAGATTO, P.: Ecotoxicologia, p. 1-13, Em. ZAGATTO, P.; BERTOLETTI, E. (Ed. 2) **Ecotoxicologia Aquática, Princípios e Aplicações**. São Carlos, RiMa, 2008.

SOBRE A ORGANIZADORA

CHRISTIANE TREVISAN SLIVINSKI Possui Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (2000), Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (2007) e Doutorado em Ciências - Bioquímica pela Universidade Federal do Paraná (2012). Tem experiência na área de Bioquímica, com ênfase em Biotecnologia, atuando principalmente nos seguintes temas: inibição enzimática; fermentação em estado sólido; produção, caracterização bioquímica e purificação de proteínas (enzimas); e uso de resíduo agroindustrial para produção de biomoléculas (biossurfactantes). É professora na Universidade Estadual de Ponta Grossa nas disciplinas de Bioquímica e Química Geral desde 2006, lecionando para os cursos de Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas, Farmácia, Educação Física, Enfermagem, Odontologia, Química, Zootecnia, Agronomia, Engenharia de Alimentos. Também leciona no Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais – CESCAGE desde 2012 para os cursos de Fisioterapia, Odontologia, Farmácia, Nutrição, Enfermagem e Agronomia, nas disciplinas de Bioquímica, Fisiologia, Biomorfologia, Genética, Metodologia Científica, Microbiologia de Alimentos, Nutrição Normal, Trabalho de Conclusão de Curso e Tecnologia de Produtos Agropecuários. Leciona nas Faculdades UNOPAR desde 2015 para o curso de Enfermagem nas disciplinas de Ciências Celulares e Moleculares, Microbiologia e Imunologia.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-037-7



9 788572 470377