



## PLANO DE TRABALHO

### PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOUTORADO – EDITAL 6

Nome do(a) Bolsista: **Dalton Giovanni Nogueira da Silva**

Código do Projeto vinculado: **2020.06.IPEN.13**

#### DESCRIÇÃO DO PROJETO

Título do Projeto

“Caracterização físico-química e biológica de insumos oriundos da abelha nativa *Scaptotrigona aff. Postica*”

**Prazo Execução (meses): 36**

#### Objetivo Geral

Gerar conhecimento integrado e interdisciplinar sobre a espécie *Scaptotrigona aff. postica* por meio de pesquisa multidisciplinar, fornecendo dados que possibilitem a sustentação qualificada de aplicações no âmbito terapêutico e nutricional, além de contribuir para o aumento da produtividade dos insumos gerados, bem como obtenção de conhecimento da biodiversidade local.

#### Objetivos Específicos

- Caracterizar os insumos apícolas da espécie “tubi” para a utilização nutricional
- Contribuir para a segurança alimentar
- Gerar conhecimento da biodiversidade local
- Viabilizar a expansão da meliponicultura como prática economicamente sustentável para da população local e a outras regiões com biodiversidade local apropriada.

#### Palavras-chave

1 - insumos apícolas

2 - AAN

3 - FRX

4 -radioatividade natural

5 - neuroblastoma

#### Metas Físicas

1 - Análises elementares AAN e FRX

2 - Implantação das análises pelo software XRS-V2

3 - Caracterização Físico-Química

4 -Caraterização ambiental

5 - Ensaio Biológicos



## PLANO DE TRABALHO

### PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOUTORADO – EDITAL 6

#### **Justificativa Resumida:**

Nos últimos anos, a espécie *Scaptotrigona aff. Postica* tem sido investigada no LEER em parceria com IBu e os resultados são promissores para sua continuidade [12-18]. Neste projeto propomos gerar conhecimento integrado e interdisciplinar sobre a espécie *Scaptotrigona aff. Postica*. O foco é preencher as lacunas sobre a caracterização multielementar e físico-química produzidos por esta abelha. A abrangência do projeto estende-se ao conhecimento da biodiversidade local (análise de solo), podendo intensificar o uso de práticas economicamente sustentáveis para da população local, bem como expandir seu potencial econômico a outras regiões. Será realizada investigação de caráter multielementar da própolis e pólen gerando conhecimento original do mecanismo da interdependência entre elementos essenciais e não essenciais além de agregar segurança no âmbito nutricional desses insumos. Paralelamente será investigado o solo local. Para estas análises quali-quantitativas serão empregadas as técnicas analíticas de análises por ativação neutrônica (AAN) e fluorescência de raios X (FRX), disponíveis no Laboratório de Espectroscopia e Espectrometria das Radiações (LEER) do CERPQ e a análise por espectrometria gama de alta resolução, disponível no Laboratório de Radiometria Ambiental (LRA) do SEGRA, ambos do IPEN.

A identificação, descrição e caracterização físico-química de proteínas e outras moléculas presentes na própolis serão investigadas através de técnicas cromatográficas, eletroforéticas e de espectrometria de massas disponíveis no Instituto Butantan (IBu).

Visando a identificação do potencial terapêutico da própolis serão realizados ensaios biológicos de câncer do tipo neuroblastoma, quanto ao seu potencial citotóxico e indutor da morte celular, utilizando as técnicas de cultivo celular e de citometria de fluxo. Esses ensaios serão realizados na Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC-PR). O conjunto de resultados obtidos ampliará a possibilidade de explorar novos medicamentos, o que pode resultar em geração de patente.



## PLANO DE TRABALHO

### PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOCTORADO – EDITAL 6

#### CRONOGRAMA FÍSICO

##### META FÍSICA 1 - Análises elementares AAN e FRX

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Calibração do espectrometro de Raios Gama	Relatório	1	2
Calibração do espectrometro de Raio-X com alvo de Prata	Relatório	1	7
Calibração do espectrometro de Raio-X com Alvo de Ouro	Relatório	9	11
Calibração do espectrometro de Raio-X com Alvo de Ródio	Relatório	15	16
Obtenção das Retas de Calibração	Relatório	8	24

##### META FÍSICA: 2 - Implantação das análises pelo software XRS-FP

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Aquisição do Software pelo projeto XRS-FP para análise dos dados FRX	Recebimento do Software	7	7
Medidas de Fluorescência de Raios X Por Dispersão de Energia (FRXDE)	Relatório	9	32
Parametros de qualidade das medidas	Relatório	9	32
Obteção dos Espectros de FRX	Relatório	9	32
Análise Espectral de Raio X	Relatório	9	32

##### META FÍSICA: 3 - Caracterização Físico-Química

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Preparo das amostras	Relatório	13	24
Eletroforese	Relatório	13	24
Processos Cromatográficos	Relatório	13	24
Dosagem proteica	Relatório	13	24
Análise por Espectrometria de Massas	Relatório	13	24

##### META FÍSICA: 4 -

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim



## PLANO DE TRABALHO

### PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOCTORADO – EDITAL 6

Medidas de Radioatividade natural	Relatório	10	33
Calibração dos Espectrometros	Relatório	10	33
Teste de Qualidade	Relatório	10	33
Obtenção dos dados	Relatório	10	33
Análise	Relatório	10	33

#### META FÍSICA: 5 – Ensaio Biológicos

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Viabilidade e Toxicidade Celular	Relatório	13	20
Ensaio Biológico em Neuroblastoma com propolis bruto	Relatório	20	26
Ensaio Biológico em Neuroblastoma Frações purificadas	Relatório	30	34
Estudo comparativo das análises Elementares	Relatório	30	36
elaboração de Material de Divulgação Científica	Vídeos e Seminários	25	36

#### Resultados Esperados

1 - Conhecer a composição Elementar do própolis, pólen e solo.
2 - Níveis metais pesados em própolis e do pólen, esperasse não encontrar mas se houver definir a concentração de metais pesados
3 - Conhecer a composição proteica e identificar possíveis moléculas com atividade terapêutica
4 - Avaliar a atividade biológica do propolis frente ao neuroblastoma
5 - registro de Patente para metodologia de rastreabilidade de produto apícola
6 - Registro de Patente para aplicação biológica no Neuroblastoma
7 - Dados sobre os radionuclídeos naturais no solo da região
8 -
9 -
10 -

#### Grau de Inovação (se houver):

- ✓ Elaboração de novos protocolos no âmbito nutricional da própolis e pólen
  - ✓ A possibilidade de patente em função das respostas das análises físico-química de proteínas e moléculas presentes nos insumos e aplicados em tratamentos terapêuticos (ensaio biológicos)
  - ✓ Elaboração de material didático e de divulgação: seminários de divulgação na área de Saúde Pública e no âmbito empresarial voltado a Meliponicultura, elaboração de vídeos educativos, palestras e atividades práticas (oficinas) direcionadas a população local com foco na criação e manejo de abelhas "tubi".
- Agregar melhorias no mercado local e estimular sua expansão, pois o conhecimento adquirido trará melhorias que permitirão ampliar a capacidade de produção local desses insumos apícolas.
- Servir de modelo para a expansão da Meliponicultura em regiões com solo apropriado.

**Bibliografia:**

- [1] MONITOR MERCANTIL. Pandemia eleva venda de mel do Brasil, 2021. <https://monitormercantil.com.br/pandemia-eleva-venda-de-mel-do-brasil/>, (acesso em 05/02/2022).
- [2] Portal do Agronegócio. Exportação de mel natural cresce mais de 50% em 2020. <https://www.portaldoagronegocio.com.br/pecuaria/apicultura/noticias/exportacao-de-mel-natural-cresce-mais-de-50-em-2020>. (acesso em 05/02/2022).
- [3] PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO-NETO, F. R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. *Química Nova*, v. 25, p. 321-326, 2002.
- [4] Catálogo de abelhas moure, <http://moure.cria.org.br/index> (acesso em 22 de Set, 2020).
- [5] HAUSEN BM, WOLLENWEBER E, SENFF H, POST B. Propolis allergy. (II). The sensitizing properties of 1,1-dimethylallyl caffeic acid ester. *Contact Dermatitis*, 17:171-177, 1987.
- [6] BANKOVA, V., DE CASTRO, S.L., MARCUCCI, M.C., 2000. Própolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31, 3–15.
- [7] MC MARCUCCI. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, Springer Verlag, 1995, 26 (2), pp.83-99.
- [8] BOGDANOV, S. Propolis: Composition, Health, Medicine: A Review. Disponível em: <<http://www.beehexagon.net/files/fileE/Health/PropolisBookReview.pdf>> acesso em 11 de fev. 2016.
- [9] DEBUYSER, E. La própolis. Tese de doutorado em Farmácia. Université de Nantes, França. 1983.
- [10] INOUE, H. T.; SOUSA, E. A.; ORSIL, R. O.; FUNARI, S. R. C.; BARRETO, L. M. R. C.; DIB, A. P. S. Produção de própolis por diferentes métodos de coleta. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, v. 15, n. 2, p. 65-69, 2007.
- [11] MARCUCCI, M. C.; FERRERES, F., GARCIA-VIGUERA, C., BANKOVA, V. S.; DE CASTRO, S. L.; DANTAS, A. P.; VALENTE, P. H. M.; PAULINO, N. Phenolic compounds from Brazilian própolis with pharmacological activities. *Journ of Ethnopharmacol*, v. 74, p. 105-112, 2001.
- [12] MAIA FILHO, E. M.; MAIA, C. D. C. R.; BASTOS, A. C. S. C.; NOVAIS, T. M. G. Efeito antimicrobiano in vitro de diferentes medicações endodôntica e própolis sobre *Enterococcus faecalis*. *Rev Gaúcha Odonto*, v. 56, n.1, p. 21-25, 2009.
- [13] LIBÉRIO, S. A.; PEREIRA, A. L. A., ARAÚJO, M. J. A. M., DUTRA, R. P., NASCIMENTO, F. R. F., MONTEIRO-NETO, V., RIBEIRO, M. N. S., GONÇALVES, A. G., GUERRA, R. N. M. The potential use of propolis as a cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci. *Journal of Ethnopharmacology*. 125 (1) 1-9, 2009
- [14] CAVALCANTE, D. R. R. Efeito químico preventivo de variedades de própolis brasileira sobre a carcinogênese oral experimentalmente induzida. Disponível de em: <[http://ww3.unit.br/mestrados/saude\\_ambiente/wpcontent/uploads/2012/04](http://ww3.unit.br/mestrados/saude_ambiente/wpcontent/uploads/2012/04)>. Acesso em 11 de fev, 2016
- [15] POSSAMAI, M. M.; HONORIO-FRANÇA, A. C.; REINAQUE, A. P. B.; FRANÇA, E. L.; SOUTO, P. C. D. S. Brazilian Propolis: A Natural Product That Improved the Fungicidal Activity by Blood Phagocytes. *BioMed Res Int.*, v. 2013, p. 1-9, 2013.
- [16] GUILHERME RABELO COELHO. Caracterização química e avaliação da atividade antiviral da fase aquosa do extrato da própolis de *Scaptotrigona postica*. Dissertação, Instituto Butantan, 2014
- [17] COELHO GR, MENDONÇA RZ, VILLAR K de S, FIGUEIREDO CA, BADARI JC, TANIWAKI N, NAMİYAMA G, de Oliveira MI, Curti SP, Evelyn Silva P, Negri G. Antiviral Action of Hydromethanolic Extract of Geopropolis from *Scaptotrigona postica* against Antih herpes Simplex Virus (HSV-1). *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015;2015:296086.

- [18] LEAL, L. G. M.; ZAMBONI, C.B.; NASCIMENTO RM; R. Z. MENDONÇA; SIMONS, M.S. Characterization of the Scaptotrigona aff. Postica bee from Brazil using analytical techniques. In: Proceedings of INAC, 2019
- [19] HELDER ROCHA DE SOUZA, ANGELA MARIA DA SILVA CORRÊA , MARIA AMÉLIA VITORINO DA CRUZ-BARROS , PATRÍCIA MAIA CORREIA DE ALBUQUERQUE. Espectro polínico da própolis de Scaptotrigona aff. postica (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) em Barra do Corda, MA, Brasil, Acta Amaz. vol.45 no.3 Manaus jul./set. 2015
- [20] EVANS, R.D. The Atomic Nucleus. McGraw Hill, New York, 1972.
- [21] ZAMBONI, CB. Fundamentos da Física de Nêutrons. 1ª. ed. São Paulo: Livraria da Física, 2007.
- [22] POTTS PJ, ELLIS AT, KREGSAMER P, et al. Atomic spectrometry update: X-ray fluorescence spectrometry. J. of Analytical Atomic Spectrometry, v.19, n.10, p.1397, 2004.
- [23] KNOLL, G. P. Radiation Detection and Measurement, 3rd ed., John Wiley, New York, 2000
- [24] CAVALCANTE, F.; PECEQUILO, B. R. S. Natural and anthropogenic radionuclides in Brazilian commercial dog food: preliminary results. In: International Conference on Radioecology & Environmental Radioactivity, 2014, Barcelona. Abstracts of the International Conference on Radioecology & Environmental Radioactivity, 2014
- [25] INTERWINNER TM 6.0 MCA, 2004. Emulation, Data Acquisition and Analysis software for Gamma and Alpha Spectroscopy IW-B32. ORTEC. Oak Ridge, TN, USA.
- [26] BARROS, L.F e PECEQUILO, B.R.S. Self-Attenuation factors in gamma-ray spectrometry of select sand samples from Camburi Beach- Vitória, Espírito Santo, Brazil, Radiation Physics and Chemistry. v. 45, p. 339–341, 2013
- [27] PNI Programa Nacional de Intercomparação de Resultados de Análises de Radionuclídeos em Amostras Ambientais. IRD, Rio de Janeiro.. Rodadas de abril/2008 a agosto/2017. Relatório interno LRA. Disponível em <[https://www.ipen.br/portal\\_por/conteudo/geral/7171\\_316\\_XtRa\\_Portal-LRA.pdf](https://www.ipen.br/portal_por/conteudo/geral/7171_316_XtRa_Portal-LRA.pdf)> Acesso em 15/10/2020
- [28] LAEMMLI, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227, 680-685.
- [29] MORRISSEY, J. H. 1981. Silver stain for proteins in polyacrylamide gels: a modified procedure with enhanced uniform sensitivity. Analytical biochemistry, 117(2), 307-310.
- [30], 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, 248-254.
- [31] MANN M. WILM M. Electrospray mass spectrometry for protein characterization. Trends Biochem. Sci. 1995, 20:219-224.
- [32] MANN M. HENDRICKSON RC. PANDEY A. Analysis of protein and proteomes by spectrometry. Annu. Rev. Biochem. 2001, 70:437-473.
- [33] JONSSON AP. Mass spectrometry for protein and peptide characterization. Reviw. Cell.Mol. Life Sci. 2001,58: 868-884.
- [34] LIN D. TABB DL. III JRY. Large scale protein identification using mass spectrometry. Bioche. Biophys. Acta. 2003, 1646: 1-10.
- [35] WESTERMEIER, R; NAVEN, T. Proteomics in Practice. Weinheim, Wiley-VCH, 2002.
- [36] ABRALÉ – Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia. <https://www.abrale.org.br/> (acesso em 21 de Set, 2020).
- [37] INCA – Estatísticas de câncer. <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>. (acesso em 21 de Set, 2020).
- [38] CARNEIRO-GOETTEN JOL, RODRIGUES BS, NOGOCEKE RA, et al. Neutrophils activated by BJcuL, a C-type lectin isolated from Bothrops jararacussu venom, decrease the invasion potential of neuroblastoma SK-N-SH cells in vitro. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 2020;26:e20190073.