

**UNIVERSIDADE DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA EM MEDICINA
REGENERATIVA E QUÍMICA MEDICINAL**

PRISCILA NISHIZAKI BORBA

**REAPROVEITAMENTO DE VEGETAIS PARA
EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE DNA**

Araraquara, SP
2020

PRISCILA NISHIZAKI BORBA

**REAPROVEITAMENTO DE VEGETAIS PARA
EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE DNA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal da Universidade de Araraquara – UNIARA – como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Biotecnologia, Área de Concentração: Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal.

Orientadora
Prof.^a Dra. Eliane Trovatti

Araraquara, SP
2020

B721r Borba, Priscila Nishizaki

Reaproveitamento de vegetais para extração e caracterização de DNA/
Priscila Nishizaki Borba. – Araraquara: Universidade de Araraquara,
2020.

49 f.

Dissertação (Mestrado)- Curso de Biotecnologia em Medicina
Regenerativa e Química Medicinal – Universidade de Araraquara

Orientador- Profa. Dra. Eliane Trovatti

1. Vegetais. 2. Extração. 3. DNA. 4. Caracterização. 5. Biomateriais.
6. Filmes. I. Título.

CDU 577.1:66

PRISCILA NISHIZAKI BORBA

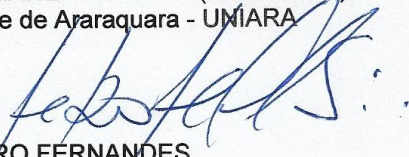
Dissertação apresentada a Universidade de Araraquara - UNIARA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal.

Araraquara, 23 de janeiro de 2020.

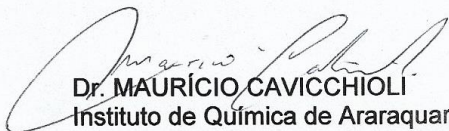
BANCA EXAMINADORA



Profª Drª ELIANE TROVATTI (Orientadora)
Universidade de Araraquara - UNIARA



Dr. LEANDRO FERNANDES
Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP



Dr. MAURÍCIO CAVICCHIOLI
Instituto de Química de Araraquara - UNESP.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por todos esses anos me guiando pelo caminho certo.

À minha família, meus pais Moacir e Neusa, meu irmão Maicon, pelo carinho, amor, incentivos, conselhos e apoio incondicional em todas as fases e decisões da minha vida, vocês são minha base.

Ao meu amado esposo Thiago e meus queridos filhos Murilo e Miguel, vocês são minha vida, amo vocês.

À minha sogra Vera e meus cunhados Wilson e Carina, à vocês o meu respeito e admiração eterna, obrigada por participarem desta conquista comigo.

À minha amiga Vanessa sua amizade é muito importante para mim, te adoro muito.

À minha orientadora Dra. Eliane Trovatti, por todo apoio, paciência e comprometimento que teve comigo, agradeço à tudo o que me ensinou.

Muito Obrigada.

“Escreva algo que valha a pena ler ou faça algo que valha a pena escrever.”

(Benjamin Franklin)

RESUMO

BORBA, Priscila Nishizaki. **Reaproveitamento de vegetais para extração e caracterização de DNA**. 2020. 49f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal) – Universidade de Araraquara, Araraquara, 2020.

As crescentes aplicações de biomateriais às diversas áreas da saúde estimulam a busca por novos polímeros bioativos, biodegradáveis, não tóxicos e de fácil manuseio com variadas aplicações. O ácido desoxirribonucleico (DNA) é um biomaterial cujas propriedades são ainda pouco exploradas para aplicações não relacionadas à sua função biológica nos seres vivos, representando uma potencial alternativa para aplicação em diversas áreas devido à sua estrutura química e morfologia. A ampla disponibilidade na natureza e, principalmente, sua presença em vegetais descartados, representam uma boa estratégia para diminuir as perdas que ocorrem desde a colheita até o consumo final ou processamento. A fim de desvendar as propriedades do DNA como um biomaterial para aplicação em escala não molecular, a proposta deste estudo foi realizar a extração do DNA de vegetais (laranja e banana), a confecção de filmes e sua caracterização através de ensaios específicos. Os filmes foram preparados a partir do DNA da banana e da laranja e caracterizados por meio de ensaios mecânicos de tração, Espectroscopia no Infra Vermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e análise termogravimétrica (TGA). Os resultados de FTIR revelaram semelhança entre as bandas características dos grupos funcionais constituintes das moléculas de DNA. As análises termogravimétricas (TGA) possibilitou o conhecimento sobre a temperatura de decomposição que os filmes derivados de DNA suportam e as etapas de decomposição dos mesmos. A caracterização por DSC apresentou resultados atribuídos a relaxações térmicas da cadeia polimérica. Os resultados mecânicos demonstraram que os filmes preparados a partir dos diferentes DNA apresentaram propriedades diferentes nos quesitos resistência e elasticidade. Este estudo demonstrou a viabilidade da utilização do DNA dos vegetais na obtenção de filmes destinados à aplicação como biomaterial para o uso na área da saúde.

Palavras-chave: Vegetais. Extração. DNA. Caracterização. Biomateriais. Filmes.

ABSTRACT

BORBA, Priscila Nishizaki. **Plant reuse for extraction and characterization of DNA**. 2020. 49f. Dissertation (Master's Degree in Biotechnology in Regenerative Medicine and Medical Chemistry) – Universidade de Araraquara, Araraquara, 2020.

The increasing applications of biomaterials to various health areas stimulate the search for new bioactive, biodegradable, non-toxic and easy-to-handle polymers with varied applications. Deoxyribonucleic acid (DNA) is a biomaterial whose properties are still little explored for applications not related to its biological function in living beings, representing a potential alternative for application in several areas due to its chemical structure and morphology. The wide availability in nature and, especially, its presence in discarded vegetables, represent a good strategy to reduce the losses that occur from harvest to final consumption or processing. In order to unravel the properties of DNA as a biomaterial for non-molecular scale application, the purpose of this study was to extract vegetable DNA (orange and banana), make films and their characterization through specific assays. The films were prepared from banana and orange DNA and characterized by mechanical tensile tests, Fourier Transform Infra-Red Spectroscopy (FTIR), Differential Exploratory Calorimetry (DSC) and thermogravimetric analysis (TGA). FTIR results revealed similarity between the characteristic bands of the functional groups constituting the DNA molecules. Thermogravimetric analysis (TGA) allowed the knowledge about the decomposition temperature that the DNA derived films support and their decomposition steps. The characterization by DSC presented results attributed to thermal relaxations of the polymeric chain. The mechanical results showed that the films prepared from the different DNA presented different properties in resistance and elasticity. This study demonstrated the feasibility of using plant DNA to obtain films intended for use as biomaterials for use in healthcare.

Keywords: Vegetables. Extraction. DNA. Description. Biomaterials. Movies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura das moléculas de bases nitrogenadas.....	16
Figura 2. Base estrutural da molécula de nucleotídeo	17
Figura 3. Estrutura da D-ribose (RNA) e D-Desoxirribose (DNA).....	17
Figura 4. Estrutura da dupla-hélice de uma molécula de DNA.....	18
Figura 5. Solução de Lise: (a) mistura dos reagentes e (b) solução pronta	26
Figura 6. Vegetais preparados para o processo de extração do DNA: (a) laranja com casca triturada na solução de lise; (b) polpa da banana na solução de lise.....	27
Figura 7. Filtração das Suspensões da Polpa dos Vegetais e da Solução de Lise: (a) laranja e (b) banana	27
Figura 8. Fluxograma do Preparo do Filme de DNA da Banana	28
Figura 9. Filamentos de DNA formado após a adição de Etanol Gelado	32
Figura 10. Processo de Lavagem dos Filamentos de DNA.....	32
Figura 11. Suportes de Moldagem dos Filmes de DNA: (a) banana e (b) laranja	33
Figura 12. Filmes de DNA vegetal: (a) laranja e (b) banana	34
Figura 13. Espectro de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR) do DNA dos Vegetais	35
Figura 14. Termogramas de DSC dos Filmes do DNA Vegetal.....	36
Figura 15. Curvas TGA (a) e derivada (b) para os DNA de banana e laranja	38
Figura 16. Resultados dos ensaios mecânicos aplicados aos Filmes.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Rendimentos dos DNAs vegetais.....	33
Tabela 2. Resultados dos ensaios de resistência à tração do Filme do DNA da Laranja	41
Tabela 3. Resultados dos ensaios de resistência à tração do Filme do DNA da Banana.....	42
Tabela 4. Resultados de ensaios mecânicos de Filmes Derivados de Biomateriais .	43

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Características entre células eucarióticas e procarióticas	20
--	----

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

A	Adenina
AC	Antes de Cristo
ADN	Ácido Desoxirribonucléico
AR	Alongamento na Ruptura
C	Citosina
DNA	Deoxyribonucleic Acid
DRX	Difração de Raios-X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
FTIR	Fourier Transform Infrared (spectroscopy)
G	Guanina
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
RNA	Ribonucleic acid (Ácido Ribonucleico)
RT	Resistência à Tração
ssDNA	single-stranded DNA
T	Timina
TNT	Tecido Não Tecido

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. ESTADO DA ARTE: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 ASPECTOS HISTÓRICOS DA DESCOBERTA DO DNA	15
2.2 CONCEITOS E ESTRUTURA DO DNA	16
2.3 AS PROPRIEDADES DO DNA	18
2.4 FUNÇÃO DO DNA NOS VEGETAIS	19
2.5 UTILIZAÇÃO DO DNA NA PRODUÇÃO DE BIOMATERIAIS	20
2.6 BIOMATERIAIS: CONCEITOS, APLICAÇÕES E MERCADO	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 MATERIAIS PARA EXTRAÇÃO DO DNA	25
3.2 MÉTODO PARA EXTRAÇÃO DO DNA	26
3.3 RENDIMENTO DO DNA	28
3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	29
3.4.1 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	29
3.4.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)	29
3.4.3 Análise Termogravimétrica (TGA)	29
3.4.4 Ensaios Mecânicos (Tração)	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	31
4.1 EXTRAÇÃO DO DNA	31
4.2 PREPARO DOS FILMES	32
4.3 RENDIMENTO DO DNA E CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS FILMES	33
4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	34
4.4.1 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	34
4.4.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)	35
4.4.3 Análise Termogravimétrica (TGA)	36
4.4.4 Ensaios Mecânicos (Tração)	39
5. CONCLUSÃO	44
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos as crescentes aplicações de biomateriais em áreas diversas estimulam a busca por novas matérias primas com propriedades como biodegradabilidade, baixa toxicidade e de fácil manuseio.

De modo geral o mercado de biomateriais é expressivo, com uma grande movimentação financeira nos últimos anos e constatado crescimento (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015), em áreas diversas, incluindo desde a área da saúde até engenharias. Biomateriais de origem natural vêm ganhando destaque devido às suas propriedades como biocompatibilidade e baixa toxicidade, além de variadas propriedades físicas, químicas e físico-químicas, como porosidade, permeabilidade, densidade, resistência à esterilização, degradabilidade, tensão de ruptura, alongamento e flexibilidade, que podem ser adaptadas à cada aplicação.

Na procura de novas matérias-primas em abundância observou-se que nos países industrializados, as perdas totais de alimentos que ocorrem no comércio e nos domicílios em fração correspondem a cerca de 222 milhões de toneladas por ano (FAO, 2011 *apud* CHRISTO, 2016). O descarte de hortaliças e frutas acontece principalmente no consumo final. Nas regiões menos industrializadas, as perdas se dão principalmente no campo e nas etapas de distribuição e processamento (GUSTAVSSON, 2011 *apud* BARROS, 2016).

No Brasil registrou-se, no ano de 2013, uma produção de frutas frescas de aproximadamente 640 milhões de toneladas. O país tornou-se o terceiro maior produtor mundial, responsável por aproximadamente 40 milhões de toneladas. Estima-se, porém, que no mínimo 9 milhões de toneladas da produção brasileira ou 22,5% tenham sido descartadas (SANTOS, 2013 *apud* BARROS, 2016). Estes dados demonstram que o volume de descarte de vegetais é grande e que estes representam uma fonte de matéria-prima para o desenvolvimento de novos produtos, alternativos àqueles de origem não renováveis.

Exemplos de biomoléculas vastamente exploradas na área de desenvolvimento de matérias são o colágeno, ácido hialurônico, celulose, lignina, dentre outras. O interesse na aplicação destas biomoléculas deve-se à disponibilidade e propriedades. Uma molécula com propriedades interessante,

porém ainda pouco explorada para aplicação na área de novos materiais é o DNA. O DNA é a molécula responsável pelo armazenamento e transmissão da informação genética e por este motivo, é expressa em todo o ser vivo. Daí sua disponibilidade ampla na natureza. Sua estrutura química, em forma de dupla hélice, pode conferir propriedades como boa performance mecânica, sua origem confere-lhe biocompatibilidade, dentre muitas outras propriedades ainda não estudadas isoladamente. Desta forma, a proposta do presente trabalho é a utilização do DNA vegetal para estudo de suas propriedades físico-químico básico e essencial para o desenvolvimento de biomateriais como rendimento de extração a partir de vegetais, propriedades mecânicas, temperatura e degradação e morfologia.

2. ESTADO DA ARTE: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O DNA é um ácido nucleico que possui as informações genéticas responsáveis pela hereditariedade e determinação do fenótipo de todos os seres vivos (ARIAS, 2004). Sua descoberta proporcionou importantes avanços científicos fundamentais no entendimento dos processos biológicos e no melhoramento genético (ORTIZ, 2015).

Sendo uma molécula de extrema importância para a comunidade científica, é relevante que se apresente a forma como esse composto e sua estrutura foi descoberta, além de evidenciar todas suas propriedades e características.

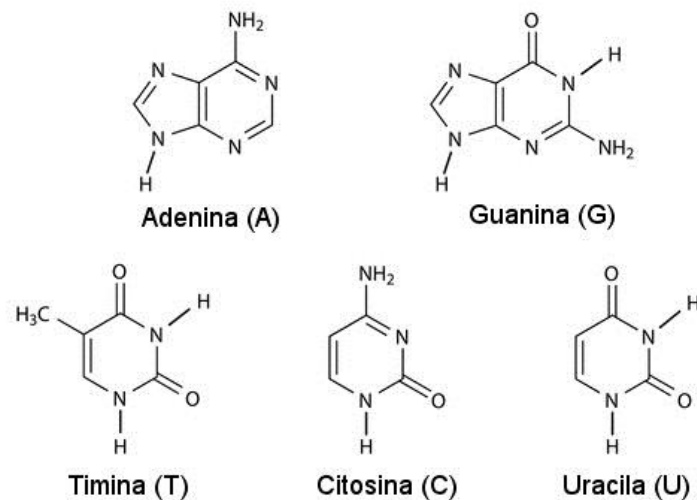
2.1 ASPECTOS HISTÓRICOS DA DESCOBERTA DO DNA

A descoberta do DNA é datada desde 1869, pelo cientista suíço Friedrich Miescher, que durante estudos envolvendo núcleos celulares identificou um composto desconhecido de caráter ácido, rico em fósforo e constituído de moléculas grandes, que denominou de nucleína (UZINIAN et al., 2016). No ano de 1889, Richard Altmann alterou o nome de nucleína para ácido nucléico (ARIAS, 2004).

Em 1910, o bioquímico Phoebus Aaron Levene identificou no ácido nucléico a presença de uma molécula de açúcar conhecida como pentose (ARIAS, 2004; ANDRADE et al., 2009). Posteriormente, em 1930 Levene constatou a existência de duas moléculas de ácidos nucleicos, o ribonucleico (RNA) e o desoxirribonucleico (DNA), cuja diferença estava presente na molécula de pentose (UZINIAN et al., 2016; ANDRADE et al., 2009).

O bioquímico Albrecht Kossel foi o responsável por descobrir a presença de bases nitrogenadas as purinas (adenina e guanina) e as pirimidinas (citosina, uracila e timina) na composição dos ácidos nucleicos (ARIAS, 2004). A Figura 1 apresenta a estrutura das moléculas de bases nitrogenadas.

Figura 1 - Estrutura das moléculas de bases nitrogenadas



Fonte: Disponível em < <https://www.infoescola.com/bioquimica/bases-nitrogenadas/>>. Acessado em 01 de fev. 2020

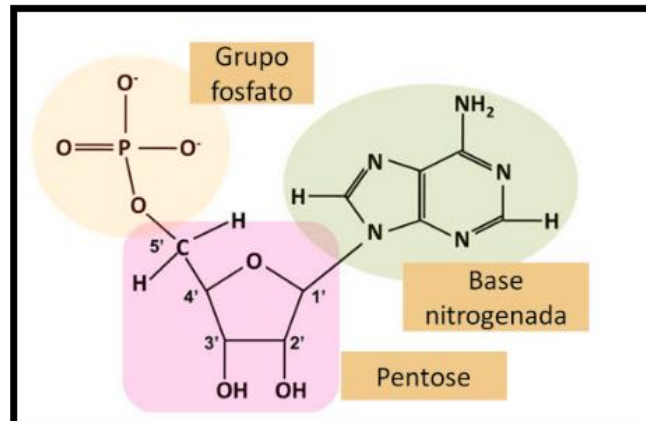
A caracterização do DNA ocorreu no ano de 1950, com a utilização da Cristalografia de Raios X, desenvolvida pela química inglesa Rosalind Franklin (SADAVA *et al.*, 2009).

2.2 CONCEITOS E ESTRUTURAS DO DNA

As estruturas e propriedades químicas do DNA descobertas por Crick e Watson proporcionaram o entendimento de funções biológicas, suas características principais continuam inalteradas, no entanto, pequenas correções têm sido feitas na estrutura publicada primeiramente (SADAVA *et al.*, 2009).

O ácido desoxirribonucleico (DNA) é assim chamado por possuir substâncias de caráter ácido (ARIAS, 2004). Sua estrutura é composta por um grupo de fosfato (PO_4^{2-}) unido a uma pentose (ribose) e ligada a uma base nitrogenada (UZUNIAN *et al.*, 2016; HEEP; NONOHAY, 2016). A Figura 2 apresenta a base estrutural da molécula de um nucleotídeo.

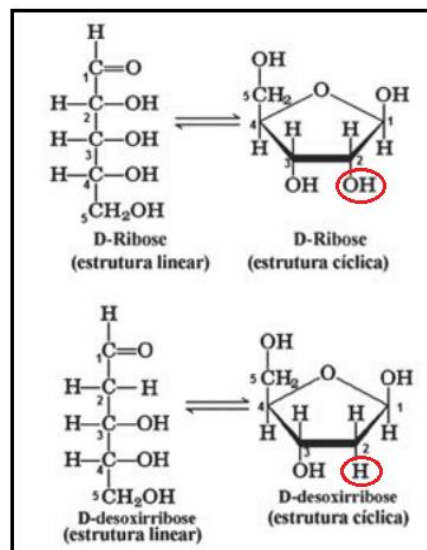
Figura 2 - Base estrutural da molécula de um nucleotídeo



Fonte: Disponível em < <https://www.todamateria.com.br/nucleotideos/> >. Acessado em 28 de jun. 2019.

A diferença entre as moléculas de RNA e DNA é caracterizada pelos compostos nitrogenados, onde o DNA possui duas purinas (adenina e guanina) e duas pirimidinas (citosina e timina) e a molécula de RNA, tem sua timina substituída pela uracila (ARIAS, 2004). Outra distinção apresentada está relacionada à ribose do DNA que apresenta o átomo de hidrogênio como substituto do grupo hidroxila (OH). A Figura 3 apresenta as estruturas das pentoses (ribose) dos ácidos nucleicos RNA e DNA.

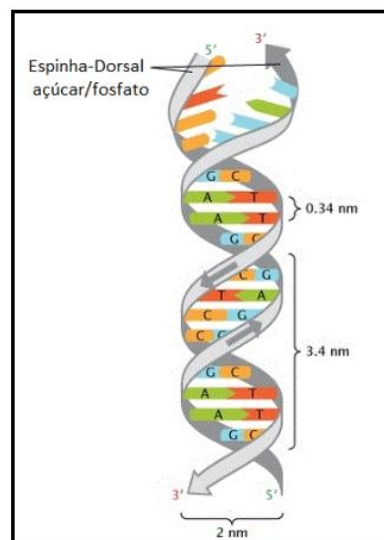
Figura 3 – Estrutura das D-ribose (RNA) e D-desoxirribose (DNA).



Fonte: NELSON e COX (2014).

A teoria do modelo de dupla-hélice do DNA foi proposta em 1953 por Watson e Crick e mais tarde comprovada por Wilkins, que conseguiu explicar as características biológicas e físicas da molécula (JIN & GROTE, 2012; HEEP; NONOHAY, 2016). O DNA é formado por duas cadeias de polinucleotídeos, sendo estes unidos uns aos outros através de ligações fosfodiéster (UZUNIAN *et al.*, 2016; ALBERTS *et al.*, 2010). Sua estrutura se apresenta no formato de uma escada em espiral, onde cada degrau equivale a um par de bases nitrogenadas (JIN & GROTE, 2012; ALBERTS *et al.*, 2010). As duas cadeias de polinucleotídeos são antiparalelas conectadas por ligações hidrogênio. A associação das cadeias ocorre em sentido contrário à sua formação, sendo esta característica responsável pela replicação e pela transcrição genética (CORDEIRO, 2003; SCHRANK *et al.*, 2001). Na Figura 4 ocorre a representação esquemática de um trecho de uma molécula de DNA “dupla-hélice” (UZUNIAN *et al.*, 2016).

Figura 4 – Estrutura da dupla-hélice de molécula de DNA.



Fonte: SADAVA, (2009).

2.3 AS PROPRIEDADES DO DNA

Dentre as características mais importantes destaca-se sua capacidade de replicação na qual as duas fitas constituintes de sua estrutura se separam servindo

de molde para uma nova fita, esse processo é conhecido como duplicação semiconservativa (COOPER & HAUSMAN, 2007; VIÉGAS, 2008).

Como propriedades físicas do DNA, destaca-se sua capacidade de absorver luz ultravioleta, em decorrência das ligações duplas das bases nitrogenadas. Essa característica favorece medições que utilizam métodos espectrofotométricos possibilitando a quantificação das moléculas de DNA de modo a obter informações sobre as características da fita (ALVES et al., 2013). A absorvância da molécula de DNA se torna maior quando a mesma encontra-se desnaturada expondo as bases que se encontram no interior da fita, permitindo assim a adsorção de maior quantidade de luz ultravioleta (UV) (ALVES et al., 2013).

Outra propriedade do DNA está relacionada ao aumento da densidade de reticulação de sua cadeia lateral simples, o que lhe proporciona uma característica mais rígida, elevando sua resistência à compressão (GHOSH & INGBER, 2007; INGBER, 2006; LIU et al., 2004 apud JIANG et al., 2011).

O DNA é uma molécula biocompatível e não apresenta toxicidade para as células, essas qualidades fazem com que a mesma seja uma candidata promissora para aplicação ou desenvolvimento de novos produtos derivados de biomateriais, com aplicações no setor da saúde.

2.4 FUNÇÃO DO DNA NOS VEGETAIS

As células são divididas em dois tipos as procarióticas (bactérias) que não apresentam envelope nuclear e as eucarióticas que têm núcleo no qual o material genético se encontra separado do citoplasma (COOPER & HAUSMAN, 2007; RIBEIRO, 2009). As células procarióticas além da ausência do núcleo, seus genomas são menos complexos e não apresentam organelas citoplasmáticas ou citoesqueleto (COOPER & HAUSMAN, 2007). As células eucarióticas estruturalmente são mais complexas, ricas em membranas que formam compartimentos, apresentam um núcleo, organelas citoplasmáticas e citoesqueleto (BARBOSA et al., 2010). O quadro 1 apresenta as características das células eucarióticas e procarióticas.

Quadro 1. Características das células eucarióticas e procarióticas

Características	Procarióticas	Eucarióticas
Núcleo	Ausente	Presente
Diâmetro de uma célula típica	≈ 1µm	10 – 110 µm
Citoesqueleto	Ausente	Presente
Organelas citoplasmáticas	Ausente	Presente
Conteúdo de DNA (pares de Bases)	1x10 ⁶ a 5x10 ⁶	1x10 ⁷ a 5x10 ⁹
Cromossomos	Uma única molécula de DNA circular	Múltiplas moléculas de DNA linear

Fonte: Adaptado de COOPER & HAUSMAN, (2007).

O núcleo é a maior organela na célula eucariótica, têm a função de armazenar as informações genéticas que nos eucariotos se apresenta como uma molécula de DNA linear. É também no núcleo que ocorre a replicação do DNA e a síntese de ácido ribonucleico (RNA) (COOPER & HAUSMAN, 2007).

2.5 UTILIZAÇÃO DO DNA NA PRODUÇÃO DE BIOMATERIAIS

Atualmente têm se dado uma atenção especial ao uso de biomateriais derivados de proteínas e moléculas funcionais, o que transforma a molécula de DNA em um atrativo para tal aplicabilidade em virtude de suas propriedades.

A replicação do DNA é uma grande promessa para a produção de biomateriais, podendo ser a mesma utilizada como bloco de construção celular (STEPHANOPULOS & FREEMAN, 2018). O DNA também possui a vantagem de poder ser aplicado a princípio como um polímero “*filler*” (“preenchimento”), o que permite uma versatilidade no design de biomateriais (STTEPHANOPULOS & FREEMAN, 2018).

O DNA possui todas as propriedades seguras e importantes requeridas para um biomaterial, além de ser um polímero de origem biológica e em constante abundância (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). Outra vantagem se reflete na questão econômica, já que sua aquisição dependendo de sua fonte de extração se apresenta com custo acessível.

No mercado atual, existem diversos materiais com aplicações biomédicas constituídas por polímeros biológicos tais como: colágeno, quitosana, pectina entre outros (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). A utilização de filmes de DNA vegetal como biomaterial é uma inovação neste mercado, tornando-se mais uma opção para a produção de novos produtos.

Outro atrativo deste biomaterial está relacionado à sua fonte de obtenção, não necessitando exclusivamente ser adquirido de vegetais saudáveis, podendo-se também obter de descartes provindos das indústrias o que contribui diretamente com o meio ambiente.

A matéria prima para a extração do DNA faz com que esse biomaterial seja um produto autossustentável, além de ser adquirido à custo baixo o que torna seu processo de aquisição economicamente viável.

A utilização de biomateriais constituídos por polímeros biológicos na medicina regenerativa abrange desde o tratamento de feridas até a liberação controlada de fármacos, estimulando o processo de cicatrização (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). A molécula de DNA possui grupos funcionais passíveis de modificações químicas, o que permite a obtenção de produtos com propriedades desejáveis, o que amplia ainda mais seu campo de aplicação.

2.6 BIOMATERIAIS: CONCEITOS, APLICAÇÕES E MERCADO

Em 1991 a 2ª Conferência de Consenso sobre Definições em Ciências dos Biomateriais, definiu o termo biomaterial como “materiais destinados a fazer contato com sistemas biológicos para avaliar, tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função do corpo” (SAMPAIO; CARVALHO; CARNEIRO, 2018).

A aplicação dos biomateriais na saúde humana remonta à antiguidade, há pelo menos 2000 anos, quando os mesmos eram utilizados no tratamento de tecidos ou outras partes do corpo humano danificado (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015; SOUZA; BRAGA; SOSNIK, 2015).

Existem registros sobre a utilização de suturas de linho e ouro no Antigo Egito (2.000 a.C.) e também referências ao uso de mel, graxa e fibra vegetal para a cicatrização de feridas de intestino de gatos, na Europa. A Idade Média foi marcada

pela utilização de conchas como dentes artificiais pelos maias (600 a.C.) e de ouro e madeira pelos romanos, chineses e astecas como substitutos ósseos (SAMPAIO; CARVALHO; CARNEIRO, 2018).

A evolução dos biomateriais é recente, a utilização de materiais de alto desempenho na medicina é datada desde 1961, quando ocorreu o desenvolvimento da primeira prótese de quadril, constituída de polietileno (SIMÕES, 2009). Desde então os biomateriais tornaram-se parte integrante da indústria médica.

O desenvolvimento de implantes ósseos na década de 60, a criação de dispositivos bioativos nos anos 70 e a engenharia de tecidos nos anos 80, demonstram a evolução deste novo campo da ciência (AMARAL, 2003 apud SIMÕES, 2009), e que atualmente encontra-se em ascensão.

Dentre as principais propriedades requeridas para biomateriais destacam-se: a biocompatibilidade, a estabilidade térmica adequada em meio biológico, propriedades mecânicas (dureza e elasticidade), químicas (degradabilidade, peso e densidade), óticas (transparência) (SOUZA; BRAGA; SOSNIK, 2015).

Os biomateriais devem ser isentos de produzir qualquer resposta biológica adversa, não podem ser tóxicos, nem possuir capacidade de mutação (SILVA, 2006). Em aplicações sanguíneas, eles não devem ocasionar coagulação do sangue (trombogênecidade) (LANDUCI, 2016).

Outros requisitos importantes esta relacionado à facilidade de seu processamento, a sua resposta positiva frente à esterilização, além da possibilidade de armazenamento durante longos períodos e os custos necessários para sua produção (SOUZA; BRAGA; SOSNIK, 2015).

Os biomateriais têm como objetivo melhorar a qualidade de vida dos pacientes (ONOFRE, 2014). Portanto, para seu desenvolvimento é necessário uma equipe multidisciplinar, envolvendo diversas áreas como engenharia, biologia e ciências clínicas (SILVA, 2006).

A escolha do material destinado à produção dos biomateriais requer algumas propriedades específicas dependendo da sua aplicação, tais como: resistência, módulo (elasticidade, torsão ou flexão), rugosidade, taxa de permeação, bioestabilidade, bioatividade, biocompatibilidade, esterilização entre outros (SILVA, 2006).

Durante o projeto e a seleção de um material destinado à produção de um dispositivo médico, a biocompatibilidade é de extrema importância, pois este aspecto

refere-se à capacidade do material de não despertar respostas biológicas indesejáveis (rejeição) (LANDUCI, 2016).

O mercado dos biomateriais é considerado expressivo tanto do ponto de vista do número de unidades comercializadas anualmente quanto da movimentação financeira observada (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

No ano de 2008 o mercado de biomateriais movimentou cerca de US\$ 25,6 bilhões. No Brasil, foram cerca de 690 milhões de dólares em 2010. Projeções preverão um crescimento de 15% até o ano de 2015, chegando a atingir a marca de US\$ 64,7 bilhões no mercado global (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). Em 2012, o mercado de biomateriais atingiu a cifra de US\$ 44 bilhões, as projeções preverão um crescimento de 22,1% até o ano de 2017, chegando a movimentar um total de 88,4 bilhões de dólares (LANDUCI, 2016). A perspectiva de crescimento do setor de biomateriais de 2019 até 2025 é de 14,7%, totalizando durante este período uma movimentação em cerca de US\$ 250 bilhões dólares (THEISEN, 2019).

Esse crescimento na indústria dos biomateriais é um reflexo do envelhecimento da população, que eleva a quantidade de indivíduos que necessitam de cuidados médicos (SOUZA; BRAGA; SOSNIK, 2015). Estima-se que no ano de 2050 mais de 20% da população global terá idade acima de 60 anos, o que permite observar um aumento significativo de usuários desses dispositivos (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

A cada ano que passa o mercado global dos biomateriais cresce afinal esse setor conquistou seu espaço na medicina moderna abrangendo um amplo campo de aplicações, representando uma oportunidade para o desenvolvimento de produtos e processos inovadores inéditos e eficazes a preços bem competitivos (SOUZA; BRAGA; SOSNIK, 2015).

Diante deste cenário econômico e toda a expansão crescente destinada ao ramo de biomateriais, toda pesquisa necessária para desenvolver um novo material se torna promissora, ampliando cada vez mais a diversidade dos produtos.

Filmes à base de DNA já são citados por alguns autores que descrevem em suas publicações o fato de serem aplicáveis em diversas áreas da medicina regenerativa, pois têm excelente biocompatibilidade, não são tóxicos e podem ser utilizados na cicatrização de feridas, além da regeneração de órgãos (JIN; GROTE, 2012). Após a extração do DNA do salmão para formação de filmes, empregando a técnica de análise por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

(FTIR), confirmou-se o crescimento de células na superfície dos filmes de DNA (JIN; GROTE, 2012).

Os filmes derivados de DNA vegetal se apresentam para o mercado atual como uma inovação importante com base na perspectiva de serem utilizados na medicina regenerativa. O processo destinado à obtenção dos filmes de DNA vegetal é normalmente o “*solvente casting*”, que consiste na colocação de uma solução disposta sobre um suporte de área conhecida e deixada em repouso até que haja evaporação do solvente e, a formação do filme (MOURA, 2018).

A caracterização dos filmes baseados em biomateriais é feita em geral quanto à espessura (e); resistência à tração (RT); alongamento na ruptura (AR); cor; análise de superfície com a aplicação da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV); grupos funcionais através de investigação por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR); cristalinidade avaliada através de Difração de Raios-X (DRX) e propriedades térmicas (MOURA, 2018).

A criação de filmes compostos por DNA de vegetais é uma alternativa no mundo dos biomateriais, não sendo o produto final convencional aos demais existentes no mercado. O estudo deste biomaterial representa um incentivo à busca por novas propriedades funcionais e novas fontes de matérias-primas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Segundo Costa & Moura (2001) apud Rodrigues (2008), existem diversos protocolos que demonstram a metodologia aplicada para a extração de DNA, sendo os métodos variáveis em função da espécie e do tecido a ser utilizado para estudo. Porém, na maioria dos protocolos para a visualização dos aglomerados de DNA se faz necessário a realização dos processos de trituração, peneiramento, utilização da solução de lise, resfriamento do filtrado e diminuição da diluição do DNA com álcool (RODRIGUES et al., 2008).

O método de extração do DNA de vegetais é considerado simples e de baixo custo, pois são utilizados vegetais que muitas vezes são descartados por mercados, casas de frutas e indústrias alimentícias. Dentre os diversos vegetais existentes para extração, optou-se por realizar a pesquisa com as frutas banana e laranja devido à abundância existente e pela quantidade de resíduos presentes nos mesmos.

A parte experimental foi desenvolvida em duas etapas Extração do DNA e Preparo dos Filmes, sendo ambas realizadas no laboratório da Etec Cel. Raphael Brandão, localizada na cidade de Barretos – SP e a Caracterização dos Filmes que foi realizado no laboratório da USP, localizada na cidade de São Carlos – SP.

3.1 MATERIAIS PARA A EXTRAÇÃO DO DNA

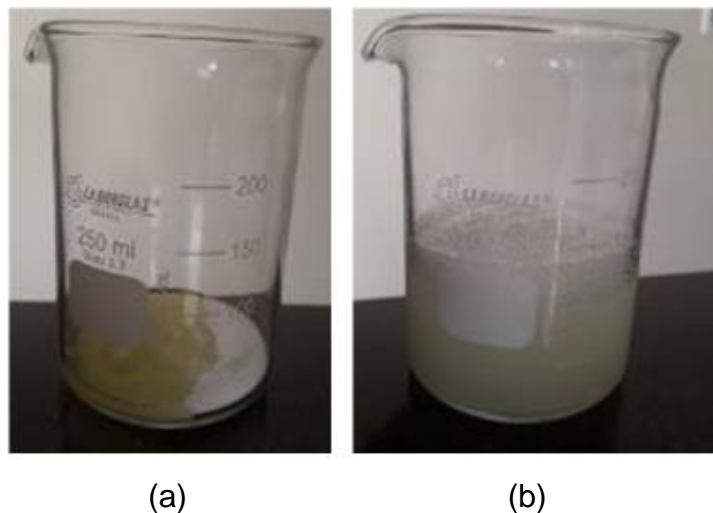
O processo de extração do DNA foi composto pelas etapas de preparo da solução de lise, higienização e secagem dos vegetais, trituração, homogeneização dos vegetais triturados com a solução de lise, filtração e lavagem do material filtrado.

Como materiais para a realização do processo foram utilizados colher de medida, bastão de vidro, Cloreto de Sódio (NaCl), Lauril sulfato de sódio PA (Synth), Béquer, Pipeta de Pasteur, Frasco com Graduação Volumétrica, Funil, Tecido Não Tecido (TNT), Peneira, Faca, Água Mineral, Etanol (PA), Liquidificador e Balança de Precisão e 5 kg de ambos os vegetais (laranja e banana).

3.2 MÉTODO PARA A EXTRAÇÃO DE DNA

Inicialmente ocorreu a higienização dos 5 kg de ambos os vegetais, com a utilização de sabão, esponja e água corrente para retirada de possíveis resíduos que compromettesse o processo de extração, posteriormente, aguardou a secagem pelo tempo de 3 horas em temperatura ambiente 25°C. Durante o período de secagem dos vegetais, realizou-se o preparo da solução de lise com a adição de 90 mL de água destilada, 5 mL de Lauril sulfato de sódio PA 90% e 1,5 g de NaCl, obtendo-se aproximadamente cerca de 100 mL de solução, conforme Figura 5.

Figura 5 – Preparo da Solução de Lise: (a) mistura dos reagentes e (b) solução pronta.



Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

Após a secagem dos vegetais, removeu-se a casca da banana de modo a utilizar apenas sua polpa e a laranja foi picada integralmente. Ambos os 5 Kg de cada vegetal passou pelo processo de trituração individual com o auxílio de um liquidificador por cerca de 3 minutos à temperatura ambiente 25°C (esta etapa foi realizada por 3 vezes devido a quantidade dos vegetais), obtendo-se então uma pasta. Logo após, homogeneizou-se ambas as pastas individualmente com a

solução de lise por cerca de 3 minutos (Figura 6), obtendo então uma solução liquefeita da polpa.

Figura 6 – Vegetais preparados para o processo de extração do DNA: (a) laranja triturada com casca na solução de lise; (b) polpa da banana na solução de lise.



(a)

(b)

Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

Após a etapa de homogeneização, ocorreu o processo de filtração da solução liquefeita da polpa, com o auxílio de uma peneira (laranja) e do TNT (banana) (Figura 7). Ao material filtrado foi adicionado lentamente cerca de 100 mL de etanol gelado para promover a precipitação do DNA, posteriormente realizou-se uma nova filtragem de forma a separar o precipitado. O precipitado formado foi lavado com etanol gelado e submetido a uma nova etapa de filtração, sendo então direcionado para os suportes destinados à sua secagem.

Figura 7 – Filtração das Suspensões Polpa dos Vegetais e Solução de Lise: (a) laranja e (b) banana.

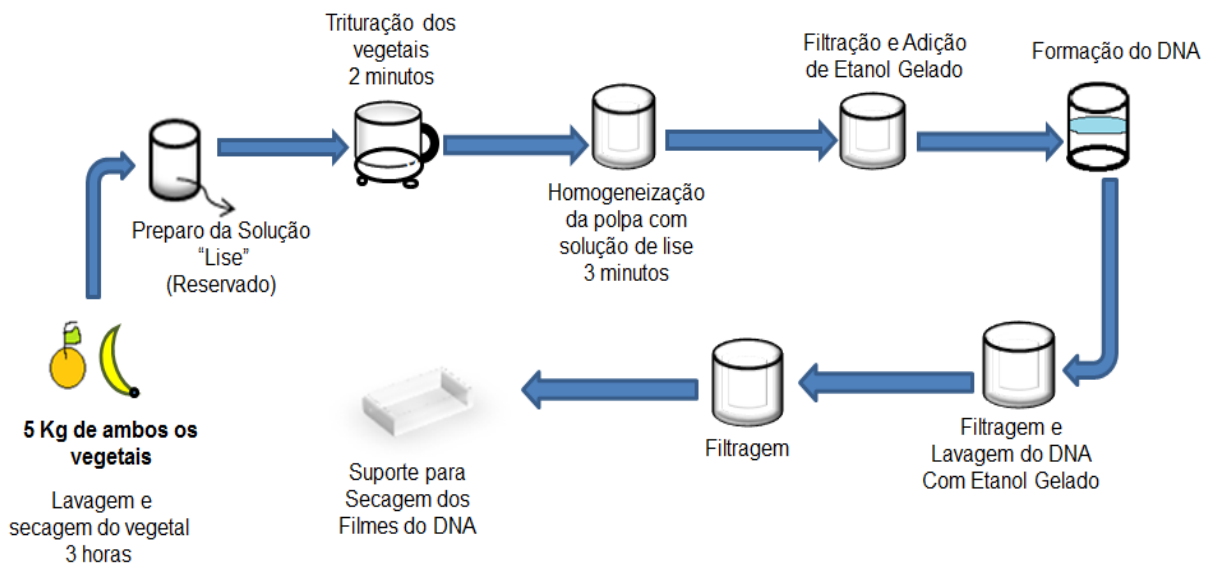


(a)

(b)

Fonte: Arquivo Pessoal (2019)

Figura 8 - Fluxograma do Processo de Extração do DNA Vegetal.



Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

3.3 RENDIMENTO DO DNA

O DNA extraído foi pesado utilizando uma Balança Analítica (Electronic Kitchen Sacle), registrando-se então o peso inicial de ambas as extrações, para posteriormente verificar seus rendimentos. Os rendimentos finais da extração do DNA dos vegetais foram calculados pela diferença do peso inicial e final (secagem) de cada processo, a partir da equação 1.

$$\eta = (M_F \times 100) / M_i \quad (1)$$

Onde:

η = rendimento

M_F = Massa Final (g)

M_i = Massa Inicial (g)

3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

3.4.1 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

O DNA foi caracterizado por Espectroscopia na região do Infra Vermelho com Transformada de Fourier (FTIR), em um equipamento Spectrum 100 da Perkin-Elmer, equipado com um detector de refletância atenuada (ATR) com cristal de seleneto de zinco. Os espectros serão obtidos no intervalo de 600 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} com 16 varreduras por espectro, onde as saídas espectrais foram registradas no modo de transmitância em função do número de onda. A espessura das amostras submetidas ao ensaio foi na faixa de 0,10 e 0,50 mm.

3.4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A caracterização térmica foi realizada em DSC de compensação de potência modelo DSC8000 da Perkin-Elmer. A massa do DNA da banana e do DNA da laranja foram 9,9 e 9,4 mg, respectivamente. Os experimentos ocorreram em atmosfera de nitrogênio a um fluxo de 20 mL/min. O programa de temperatura adotado foi o seguinte: aquecimento de -50 a 200°C a uma taxa de 10°C/min; resfriamento de 200 a -50°C a uma taxa de 10°C/min; aquecimento de -50 a 200° a uma taxa de 20°C/min; resfriamento de 200 a -50°C a uma taxa de 20°C/min.

3.4.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises foram realizadas utilizando um equipamento modelo Pyris-1 TGA da Perkin-Elmer, sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 40 mL/min. O

intervalo de temperatura aplicado foi de 25 a 600°C com taxa de aquecimento de 20°C.min⁻¹, utilizando-se como porta amostra um cadinho de platina.

3.4.4 Ensaio Mecânico (Tração)

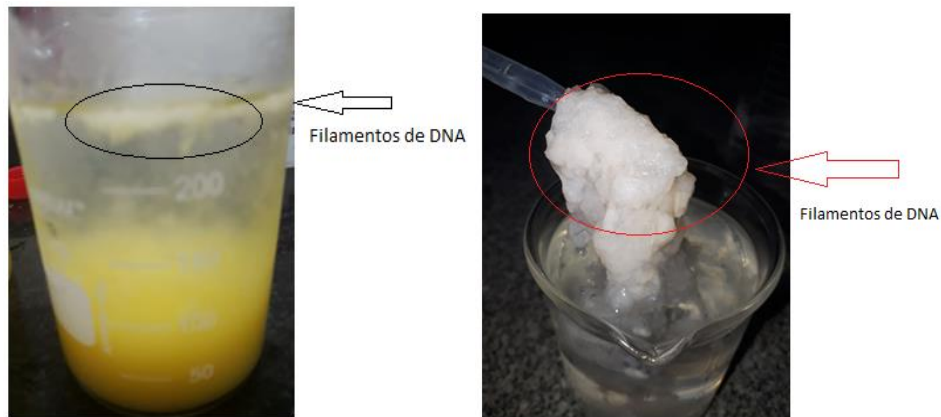
Os ensaios mecânicos foram realizados em uma máquina Universal de Ensaio da Marca Instron, modelo 5969, com aplicação de carga equivalente a 5kN e a velocidade de 1mm/min, para esse ensaio essa força foi aplicada na vertical até a ruptura do material, seguindo a norma especificada pela ASTM D638-14. Os resultados obtidos foram utilizados para a determinação dos valores dos seguintes ensaios: Módulo Elástico (E), Deformação na Ruptura (ϵ_r) e Tensão na Ruptura (σ_r). Para a realização destes ensaios utilizou-se 7 corpos de prova da banana e 6 corpos de prova da laranja, de modo a conseguir realizar uma análise estatística.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EXTRAÇÃO DO DNA

A extração do DNA conta com etapas importantes para sua obtenção, destacando-se o processo de trituração, que tem como função proporcionar a quebra das células vegetais aumentando a superfície de contato com a solução de “lise”, portanto, quanto mais triturado o material estiver melhor será o rendimento. Em decorrência de sua composição a solução de “lise” ocasiona o rompimento das membranas celulares, liberando assim as moléculas de DNA que estão localizadas no núcleo. Dentre os componentes da solução o reagente lauril sulfato de sódio tem a finalidade de promover a desestruturação dos lipídeos, que são os principais componentes da membrana, provocando sua ruptura. O NaCl contribui com a neutralização das cargas negativas dos grupos fosfatos presentes no DNA, transformando o DNA em uma molécula insolúvel em etanol, favorecendo sua aglomeração (RODRIGUES et al., 2012). A Figura 9 indica a formação dos filamentos de DNA obtidos com a adição de etanol gelado, a adição da substância alcoólica gelada em velocidade lenta auxilia na eficiência da precipitação do DNA (RODRIGUES et al., 2012). O DNA apresenta densidade e solubilidade baixa em etanol, outro fator importante é a desidratação que as moléculas apresentam, em decorrência do NaCl presente na solução de “lise” o que permitem com que as mesmas permaneçam intactas. Esses fatores possibilitam que o DNA seja visualizado como um sobrenadante na solução alcoólica gelada, se apresentando com um aspecto de nuvem (RODRIGUES et al., 2012).

Figura 9 – Filamentos de DNA formado após adição de Etanol Gelado.

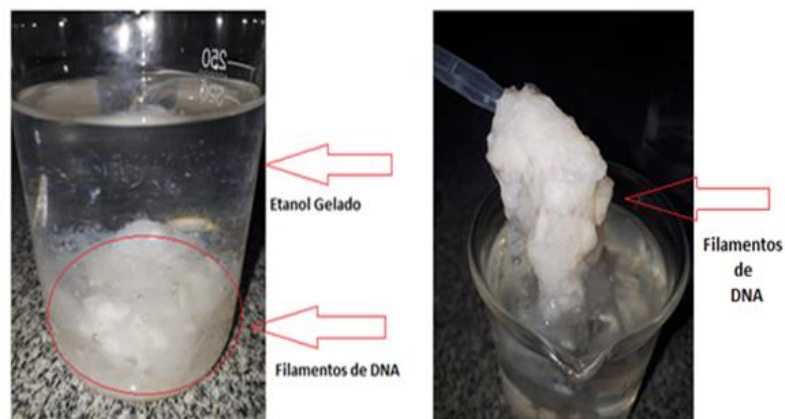


Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

4.2 PREPARO DOS FILMES

Após o processo de extração, adquiriu-se cerca de 260g (laranja) e 500g (banana) de DNA, ambos os materiais foram submetidos à um processo de lavagem empregando cerca de 150 mL de etanol gelado (Figura 10). Em seguida realizou-se novamente uma nova etapa de filtração. O material adquirido foi acondicionado em suportes (Figura 11) e deixado em processo de secagem à temperatura ambiente 25°C durante 5 dias, para posterior caracterização.

Figura 10 – Processo de Lavagem dos Filamentos de DNA.



Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

Figura 11 – Suportes de moldagem dos Filmes de DNA: (a) banana e (b) laranja



(a)

(b)

Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

4.3 RENDIMENTO DO DNA E CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS FILMES

Os rendimentos finais da extração do DNA dos vegetais foram calculados empregando os valores obtidos do processo de extração (peso inicial) e posteriormente o resultado obtido após a etapa de pré-secagem do DNA antes do preparo dos filmes (peso final), onde se obteve os seguintes resultados (Tabela 1):

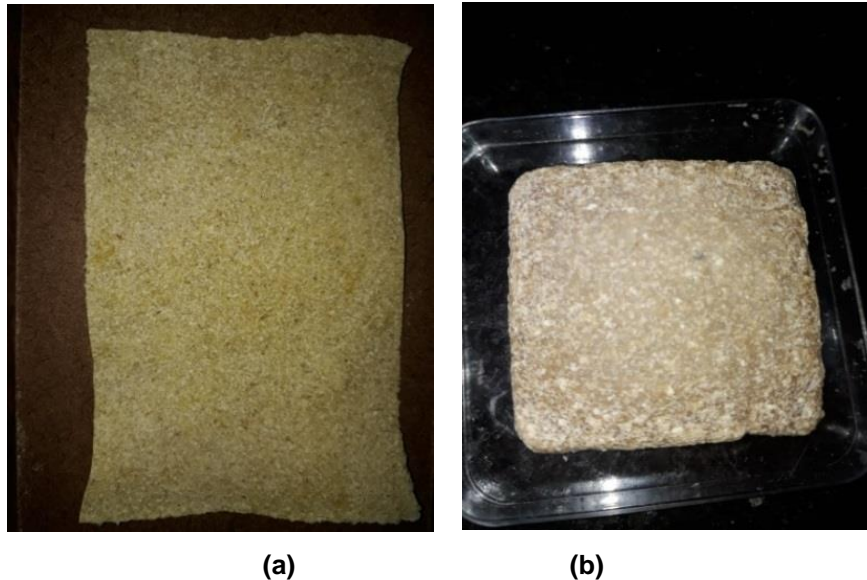
Tabela 1 – Rendimentos dos DNAs vegetais

DNA da Laranja	DNA da Banana
$\eta = M_F / M_i$ $\eta = 62,4g / 5000g$ $\eta = 0,01248\%$	$\eta = M_F / M_i$ $\eta = 150g / 5000g$ $\eta = 0,03\%$

Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

Os filmes derivado do DNA dos vegetais após secagem apresentaram-se com colorações semelhantes, com aspecto visual opaco, com cerca de 0,5mm de espessura (Figura 12).

Figura 12 – Filmes de DNA vegetal: (a) laranja e (b) banana



Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

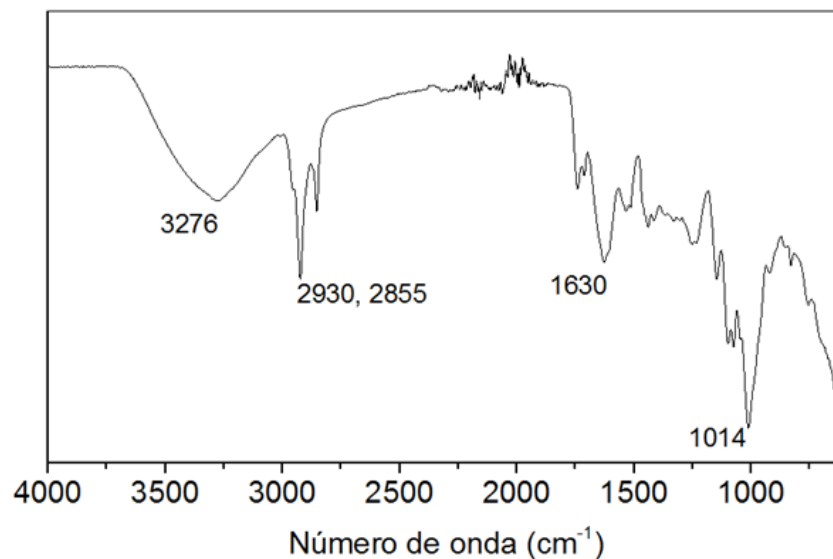
4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

4.4.1 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

O FTIR é uma técnica extremamente sensível, onde todos os constituintes bioquímicos de uma determinada amostra analisada são determinados. Os espectros de infravermelho obtido em ambos os experimentos apresentaram picos bem definidos e característicos dos grupos funcionais presentes no DNA. A presença de bandas intensas na região próxima à 1000 cm^{-1} corresponde à vibrações dos anéis furânicos presentes na desoxirribose, nas regiões próximas ao comprimento de onda 1600 cm^{-1} corresponde às vibrações da dupla ligação entre C=C das bases nitrogenadas, os picos presentes entre os comprimentos de onda na

faixa de 2800 e 2900 cm^{-1} correspondem aos CH_2 alifáticos presentes na desoxirribose e em 3276 cm^{-1} corresponde aos NH_2 livres das bases nitrogenadas. A Figura 13 apresenta o espectro FTIR do DNA.

Figura 13 – Espectro de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR) do DNA dos Vegetais.

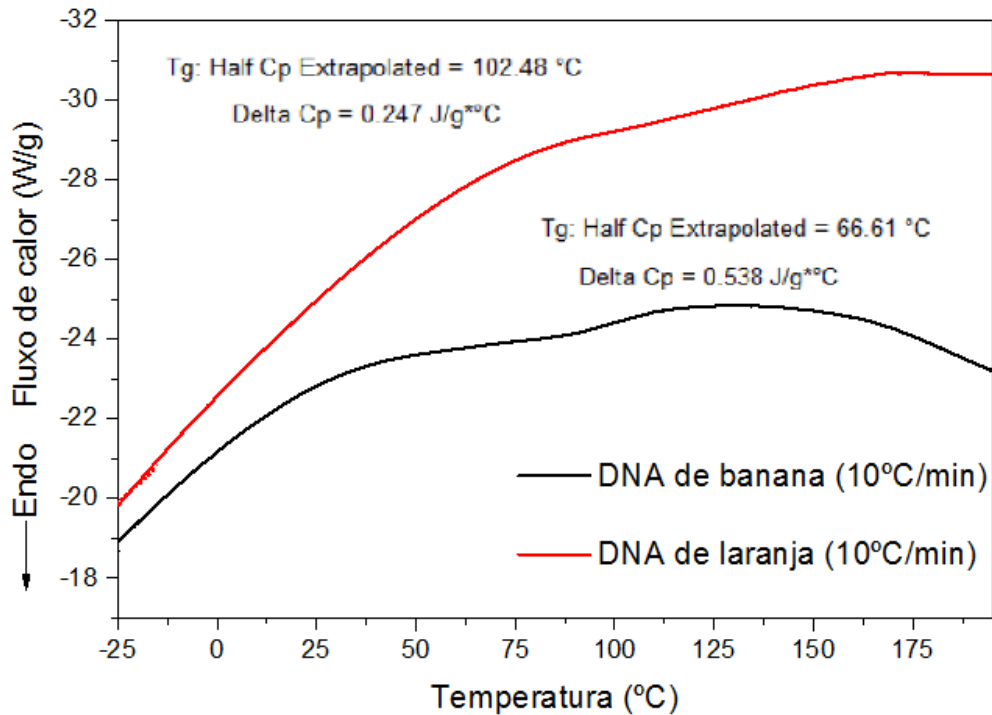


Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

4.4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC) consiste em medir a diferença de energia entre uma amostra e um material de referência, através de um programa de aquecimento ou resfriamento sob atmosfera controlada. A Figura 14 apresenta o resultado obtido dos termogramas de DSC dos Filmes do DNA vegetal.

Figura 14 – Termogramas de DSC dos Filmes do DNA Vegetal



Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

Na bibliografia disponível encontram-se termogramas de DSC de DNA que apresenta singularidades compreendidas em aproximadamente 80°C, os termogramas obtidos são típicos de DNA, pois apresentaram resultados próximos aos encontrados na bibliografia. O filme do DNA da banana apresentou resultado de DSC em aproximadamente 66,61°C e 102,48°C para o filme do DNA da laranja. No filme derivado do DNA da laranja o resulta obtido se caracteriza um pouco acima devido à interferência ocasionada pela pectina. As singularidades encontradas nos termogramas do DSC são atribuídas à desnaturação do DNA.

4.4.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

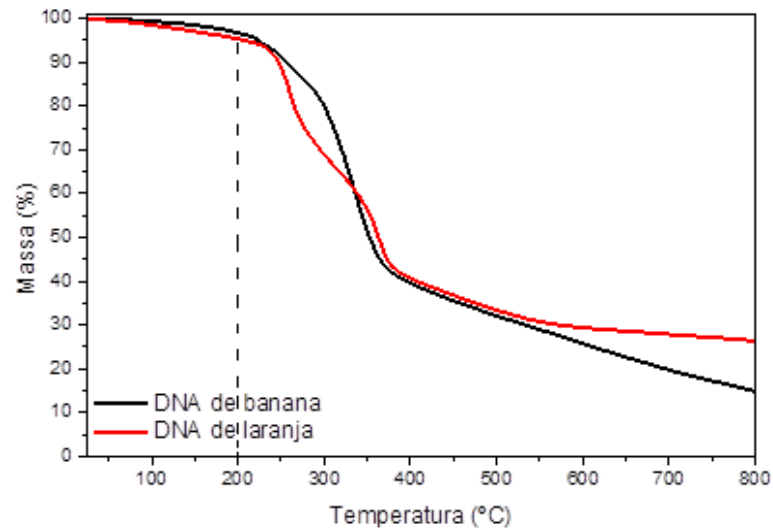
A análise termogravimétrica (TGA) consiste em uma técnica de análise térmica na qual ocorre a variação da massa da amostra seja ela perda ou ganho, é

determinada em função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação de temperatura controlada.

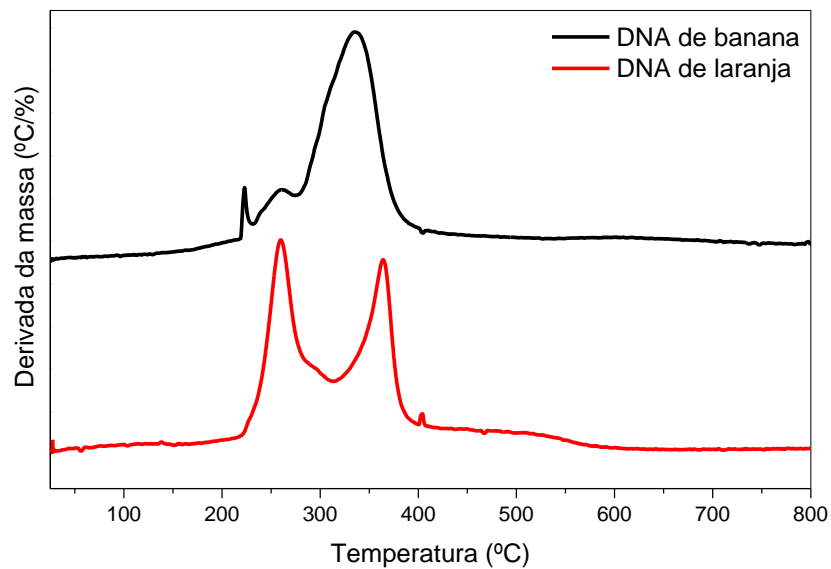
A TGA permite conhecer as possíveis alterações que o processo de aquecimento pode provocar na massa de substâncias, permitindo estabelecer a faixa de temperatura em que as amostras adquirem composição química fixa, definida ou constante. É uma técnica que também permite conhecer a temperatura de decomposição da substância, o que permite o acompanhamento de reações de desidratação, oxidação entre outros (CANEVALORO, 2004).

O conhecimento das propriedades térmicas de uma substância ou material contribui para promover melhorias nas aplicações nos quais serão destinados, inclusive nos processos que darão origem à um novo material como a moldagem, o transporte e a conservação (DENARI et al., 2012). A investigação das propriedades térmicas do material estudado é importante para avaliar a sua aplicabilidade na preparação de novos materiais. Os perfis de degradação térmica das amostras foram avaliados por termogravimetria. A Figura 15 apresenta as curvas de TGA e suas derivadas dos Filmes.

Figura 15 - Curvas TGA (a) e derivada (b) para os DNA de banana e laranja.



(a)



(b)

Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

Como pode ser observada na Figura 15, a curva TGA (a) exibe a degradação térmica apresentada pelo DNA dos vegetais. A degradação da maior parte do material ocorreu em torno de 200°C, sendo esta atribuída ao DNA, que contribui majoritariamente à composição da amostra, em ambos os casos. Nas

curvas derivadas resultantes dos DNA (b) é possível visualizar a ocorrência de reações menores próximos à reação principal no DNA da banana caracterizando-se em uma degradação que ocorre em três etapas, já na curva designada ao DNA da laranja é possível verificar a presença de dois picos, o que caracteriza a presença de um contaminante. A justificativa atribuída à presença deste segundo pico é a presença de pectina na amostra de DNA, durante o processo de extração utilizou-se toda a estrutura da laranja. A pectina é uma macromolécula natural presente nas paredes celulares do tecido vegetal, as fontes mais ricas dessa substância são os frutos cítricos (PAIVA et al., 2009).

Devido à presença característica da pectina nos vegetais cítricos, outro fator que caracteriza sua presença na amostra de DNA esta relacionada à sua solubilidade. A pectina é facilmente precipitada mediante a presença de solventes orgânicos. Os álcoois usualmente empregados no processo de precipitação das substâncias pécticas são o etanol e o metanol devido à insolubilidade das mesmas nestes solventes (PAIVA et al., 2009). Durante o processo de extração foi utilizado o etanol para precipitação e lavagem do DNA o que reforça o fato da amostra apresentar contaminação por pectina.

4.4.4 Ensaios Mecânicos (Tração)

É importante conhecer as características mecânicas dos filmes, podendo promover melhorias durante o seu processo, de modo a adicionar possíveis substâncias em sua formulação alterando seu comportamento mecânico dependendo de onde será aplicado. Na literatura não encontra testes mecânicos aplicados à filmes derivados de DNA vegetal, porém, conhecer como esse biomaterial se comporta frente aos testes, possibilita direcioná-lo à uma melhor aplicação e até mesmo modificá-lo para atingir parâmetros mecânicos, adequados ao tipo de emprego que o material será submetido.

A deformação tensional de um filme oferece informações consideráveis sobre possíveis pontos críticos, força de quebra, alongamento de quebra e módulo de elasticidade. As principais propriedades mecânicas de caracterização são a

ruptura e a elasticidade, ambos os parâmetros são fundamentais quando se investiga a influência de possíveis variáveis na preparação dos filmes (CARVALHO, 1996 apud REDESCHI, 2006).

Dentre as propriedades mecânicas adequadas aos filmes destacam-se: a ruptura e abrasão, como forma de proteção ao produto ou material no qual é aplicado, e flexíveis capazes de se adaptar sobre possíveis deformações sem se romper (GUILBERT et al., 1996 apud ANDRADE, 2014). As propriedades mecânicas dos filmes dependem das interações moleculares entre seus componentes, ou seja, da formação de fortes ligações e da quantidade das mesmas entre as cadeias (DAVANÇO; TANADA-PALMU; GROSSO, 2007).

O Módulo de Young (Y) ou Módulo de Elasticidade é um parâmetro mecânico que proporciona uma medida de rigidez de materiais sólidos, logo, quanto maior o valor do módulo de Young, maior a rigidez do material. Essa propriedade intrínseca dos materiais, esta relacionada à composição química, a microestrutura e defeitos (poros e trincas), que pode ser obtida pela razão entre a tensão exercida e deformação sofrida pelo material (PEREIRA, 2015). A Tensão corresponde à força ou carga, por unidade de área, aplicada sobre o corpo de prova, e a deformação e a mudança das dimensões do material, por unidade da dimensão original, logo, o Módulo de Elasticidade é dado a partir da equação:

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (1)$$

Onde:

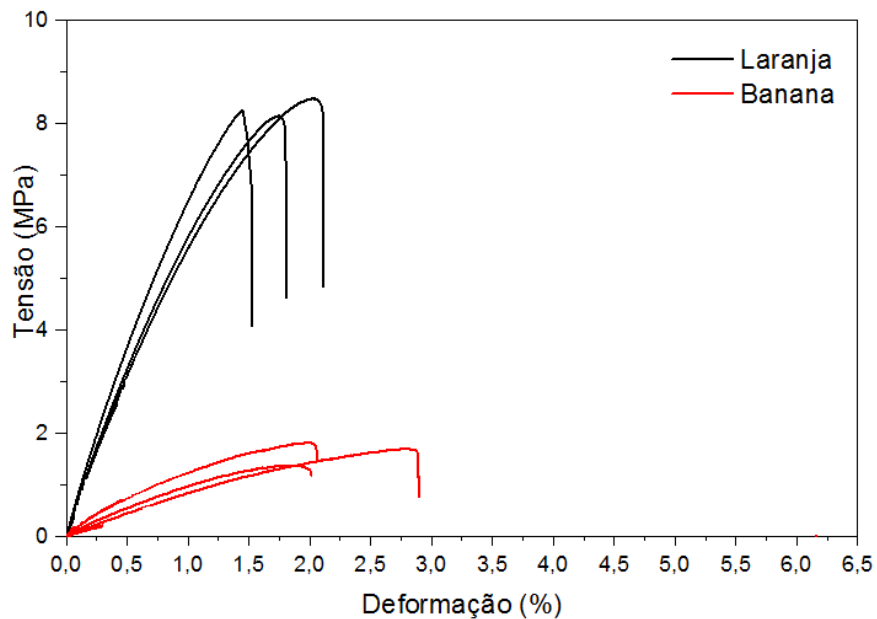
E = Módulo de Elasticidade [MPa]

ε = Deformação elástica longitudinal [adimensional]

σ = Tensão aplicada [MPa]

Os valores dos filmes obtidos a partir do DNA da Laranja e da Banana apresentaram diferença significativa entre si. A Figura 16 apresenta os resultados dos ensaios mecânicos, tração, incluindo o módulo de Young (E), a resistência à tração e alongamento na ruptura, determinados a partir das curvas de tensão-deformação dos filmes.

Figura 16 – Resultados dos ensaios mecânicos aplicados aos Filmes.



Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

Fica evidente também através do gráfico (Figura 16) que para os ensaios, deformação na ruptura (ϵ_r), Tensão na Ruptura (σ_r) e o Módulo de Elasticidade (Young) o Filme derivado do DNA da Laranja obteve resultados diferentes em relação ao filme de DNA derivado da banana. Os dados dos ensaios de resistência à tração (Tabela 2 e 3) foram obtidos a partir de gráficos de tensão x deformação.

Tabela 2 - Resultados dos ensaios de resistência à tração do Filme do DNA da Laranja.

	Tensão de Ruptura (MPa)	Deformação na Ruptura (%)	Módulo de Young (Tensão de Estress 0.05% - 0.25%) (MPa)
T1	8,1	1,7	728,4
T2	8,2	1,4	820,5
T3	8,5	2,0	710,5
Máximo	8,5	2,0	820,5
Mínimo	8,1	1,4	710,5
Média	8,3	1,7	753,1
Desvio Padrão	0,1	0,3	59,0

Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

Tabela 3 - Resultados dos ensaios de resistência à tração do Filme do DNA da Banana.

	Tensão de Ruptura (MPa)	Deformação na Ruptura (%)	Módulo de Young (Tensão de Estress 0.05% - 0.25%) (MPa)
T1	1,7	2,8	105,8
T2	1,8	1,9	199,3
T3	1,4	1,8	135,9
Máximo	1,8	2,9	199,3
Mínimo	1,4	1,8	105,8
Média	1,6	2,2	147,0
Desvio Padrão	0,2	0,5	47,7

Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

De acordo com os resultados obtidos nos ensaios mecânicos, o filme derivado do DNA da laranja se apresenta como um material mais rígido em relação ao filme derivado do DNA da banana, esse resultado é verificado através da média obtida correspondente ao módulo de Young que apresentou o resultado de 753,1 MPa para o filme do DNA da laranja contra 147,0 MPa para o filme do DNA da banana.

A tensão na ruptura indica a tensão máxima que o filme pode suportar, antes de se romper (PEREDA, AMICA, MARCOVICH, 2012 apud ANDRADE, 2014). Em relação à tensão de ruptura, ambos os filmes testados apresentaram-se diferentes entre si. O filme de DNA da laranja apresentou maior tensão de ruptura com uma média de 8,3 MPa em relação ao filme de DNA da banana 1,6 MPa. A baixa tensão na ruptura encontrada no filme do DNA da banana pode estar associada à interação dos compostos químicos presentes no vegetal, que podem interferir na integração da matriz polimérica (DNA). Por outro lado, um fator relevante em relação ao melhor resultado apresentado pelo filme do DNA da laranja (módulo Young correspondente à 753,1 MPa) assim como no resultado Tensão de Ruptura 8,3 MPa, está relacionado à presença da pectina, que pode formar ligações intermoleculares conferindo firmeza e resistência mecânica ao material (MARTELLI et al., 2014). A Tabela 4 apresenta os Resultados de ensaios mecânicos de Filmes Derivados de Biomateriais.

Tabela 4 – Resultados de ensaios mecânicos de Filmes Derivados de Biomateriais.

Biomaterial	Tensão de Ruptura (MPa)	Deformação na Ruptura (%)
Filme de DNA da Laranja	8,3 ± 0,1	1,7 ± 0,3
Filme de DNA da Banana	1,6 ± 0,2	2,2 ± 0,5
Filme de Agarose *	40,4 ± 7,5	33,7 ± 11,4
Filme a Base de Kefirana **	1,3 ± 0,02	63,06 ± 0,26

Os resultados estão expressos por média ± desvio padrão; *ONOFRE, 2014; ** SILVA, 2015;

Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

Na Tabela 4 podemos verificar a variabilidade de resultados nos ensaios mecânicos Tensão de Ruptura e Deformação na Ruptura entre Filmes destinados as aplicações como biomateriais, sendo os mesmos derivados de polímeros naturais, além de terem sido obtidos por método “*casting*”, essa discrepância obtida nos testes mecânicos esta relacionada ao tipo de polímero (estrutura química, tipo de ligações entre outros), assim como seu modo de obtenção (processo de extração) que pode interferir nas suas propriedades mecânicas. No filme de DNA da Laranja durante o processo de extração não foi possível retirar apenas o material de interesse (DNA) sendo o mesmo marcado com a presença do contaminante pectina o que influenciou em um filme com característica mais resistente do que o originado pelo DNA da banana. O filme de DNA da banana ele se caracteriza por apresentar-se como um material mais flexível (elástico). Materiais destinados a interagir com tecidos (substitutos de peles, enxertos entre outros) necessitam apresentar em alguns casos maior flexibilidade devido à aderência necessária para tal aplicação, nesse caso o filme de DNA da banana se torna mais atrativo do que o filme de DNA da laranja.

A ampla utilização de polímeros de origem natural como biomateriais como no caso dos Filmes de DNA vegetal vem crescendo ao longo dos anos devido à flexibilidade que essa classe de materiais apresenta. Uma abordagem alternativa é a utilização de tecnologias de mistura de materiais, ou de materiais compósitos, no âmbito de se conseguir obter propriedades mecânicas que satisfaçam os requisitos desejados da aplicação.

5. CONCLUSÃO

O principal objetivo do trabalho, utilização de vegetais para extração e caracterização de DNA foi atingindo. O processo de extração demonstrou ser eficiente e vantajoso do ponto de vista de custo viável. A obtenção do DNA de vegetais se apresenta como um meio de reaproveitamento de resíduos em grande parte descartados pelas indústrias, na transformação de um material não tóxico e biodegradável aplicado como biomaterial.

Muitas moléculas funcionais são utilizadas na obtenção de biomateriais, porém, o uso de filmes derivados de DNA vegetal consiste em um material inovador e exclusivo. O desenvolvimento deste biomaterial contribui também para o campo de pesquisas, já que na literatura atual não se encontra ensaios mecânicos aplicados em filmes de DNA originados de vegetais, sendo este fato uma exclusividade no trabalho em questão.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Biologia Molecular da Célula*, 5ª edição, Porto Alegre: Artmed, 2010.

AMARAL, I. F. et al. Biomateriais. In: Lima, N.; Mota, M. (Org) *Biotecnologia: Fundamentos e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas; 2003. p. 377-397.

ALVES, E. A.; SOUZA, D. S. *Biologia molecular*. In: MOLINARO, Etelcia Moraes; CAPUTO, Luzia Fátima Gonçalves; AMENDOEIRA, Maria Regina Reis (Org.). *Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde*. v.3. Rio de Janeiro: EPSJV, 2013. p. 134-185.

ANDRADE, M. A. B. S.; ANDRADE CALDEIRA, A. M. O modelo de DNA e a Biologia Molecular: inserção histórica para o Ensino de Biologia. *Filosofia e História da Biologia*, v. 4, n. 1, p.139-165, 2009.

ANDRADE, R. M. S. Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis à base de resíduos de frutas e hortaliças. *Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição)*. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

ARIAS, G. Em 1953 foi descoberta a estrutura do DNA. Etapas de um grande avanço científico. EMBRAPA. ISSN 1518-6512. 2004.

BARBOSA, H. S.; CORTE-REAL, S. *Biologia celular e ultraestrutura*. In: MOLINARO, E. M. *Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde*. Vol. 2. Organização MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G. e AMENDOEIRA, M. R. R. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2010.

BARROS, T. T. de.; *Produção e Caracterização de Filmes de Polpa de Mamão com adições de nanoestruturas, processados em modo batelada*. *Dissertação (Mestrado Programa de Pós Graduação em Biotecnologia)*. Universidade Federal de São Carlos. São Paulo. 2016.

CANEVALORO, S. “Técnicas de Caracterização de Polímeros”, Artliber Editora, 2004.

CARDOSO, M. Bases Nitrogenadas. 2012. Disponível em <<https://www.infoescola.com/bioquimica/bases-nitrogenadas/>>. Acesso em: 01 de fev. de 2020.

CARVALHO, J.S. *Caracterização de filmes de caseína e caseína acilada*. 1996. *Mestrado em Ciências Farmacêuticas*. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo.

CHRISTO, G. L. Biomassa de Resíduos de Hortifruticultura em Colombo – PR e Prospecção Preliminar para Geração de Biogás. Dissertação (Mestrado Programa de Pós Graduação Interinstitucional em Bioenergia). Universidade Federal do Paraná. Curitiba – PR. 2016.

COOPER, G. M.; HAUSMAN, R. E.; A Célula – Uma Abordagem Molecular. 3ª Edição. Editora: Jones & Bartlett. 2007.

CORDEIRO, M. C. R. Engenharia Genética: conceitos básicos, ferramentas e aplicações. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111. 2003.

COSTA, M.R.; MOURA, E.F. Manual de extração de DNA. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2001. 24p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 89).

DAVANÇO, T.; TANADA-PALMU, P. GROSSO, C. Filmes compostos de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou capróico: efeito do pH e da adição de surfactantes sobre a funcionalidade dos filmes. Ciência e Tecnologia dos Alimentos, v. 27, n.2. 2007.

DENARI, G.B.; CAVALHEIRO, E. T. G. Princípios e aplicações de análise térmica. Universidade de São Paulo Instituto de Química de São Carlos. São Carlos. 2012.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Global food losses and food waste – Extent, causes and prevention. Rome, Italy, 2011.

GHOSH, K.; INGBER, D. E. Micromechanical control of cell and tissue development: implications for tissue engineering. Advanced Drug Delivery Reviews 59: 1306-18. 2007.

GUILBERT, S.; GONTARD, N.; GORRIS, L. G. M. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. LWT-Food Science and Technology, v. 29, p.10-17, 1996.

GUSTAVSSON, J; CEDERBERG, C.; SONESSON, U.; Global food losses and food waste. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rom, 2011.

HEPP, D.; NONOHAY, J. S. de. A importância das técnicas e análises de DNA. Scientia Tec: Revista de Educação, Ciência e Tecnologia do IFRS – Campus Porto Alegre, V.3, n.2, p:114-124, jun/dez 2016.

INGBER, D. E. Cellular mechanotransduction: putting all the pieces together again. The FASEB Journal 20:811. 2006.

JIANG, F. X.; BERNARD, Y.; VERMA, D.; PREVITERA, M.; SCHLOSS, R.; LANGRANA, N. A. Development of DNA Based Active Macro-Materials for Biology and Medicine: A Review. Biomaterials Science and Engineering. Edited By Rosario Pignatello. 2011.

JIN, J.; GROTE, J. Materials Science of DNA. Editora CRC Press; 1ª Edição. 2012.

LANDUCI, M. C. Caracterização das propriedades mecânicas de biomateriais metálicos. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia. Bauru. 2016.

LIU, D.; WANG, M.; DENG, Z.; WALULU, R.; MAO, C. Tensegrity: construction of rigid DNA triangles with flexible four-arm DNA junctions. *J. Am. Chem. Soc* 126: 2324-5. 2004.

MAGALHAES, L. Nucleotídeos. *TodaMatéria*. 2017. Disponível em < <https://www.todamateria.com.br/nucleotideos/> >. Acesso em: 28 de jun. de 2019.

MARTELLI, M.R. et al. Filmes de polpa de banana produzidos por batelada: Propriedades mecânicas e coloração. *Polímeros*, vol. 24, n. 1, p. 137-142, 2014.

MOURA, J. M. de. Desenvolvimento de filmes e blendas produzidas a partir de biomateriais para aplicação em embalagens ativas. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2018.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. Porto Alegre: Artmed, 2011. 6. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

ONOFRE, N. A. Desenvolvimento e Caracterização de Filmes Poliméricos a Partir de Ágar, Agarose e Kefirana com Incorporação de nanopartículas de Prata. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica). Universidade Federal de Pernambuco. 2014.

ORTIZ, E. História da Ciência no Ensino de Biologia: Virtudes e Dificuldades da Contextualização Histórica do Episódio da Dupla Hélice do DNA. Dissertação (Mestrado - Ensino de Ciências e Educação Matemática). Universidade Estadual de Londrina. Paraná. 2015.

PAIVA, E. P.; LIMA, M. S.; PAIXÃO, J. A. Pectina: Propriedades Químicas e Importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. *Revista Iberoam. Polim.*, Vol. 10. 2009.

PEREDA, M.; AMICA, G.; MARCOVICH, N. E. Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. *Carbohydrate Polymers*, v. 87, n. 2, p. 1318-1325, 2012.

PEREIRA, P. H. N. Estudo do Comportamento Mecânico do Policloreto de Vinila (PVC) através de Ensaio de Tração. Projeto de Graduação II. Universidade Federal Fluminense. 2015.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, A. Biomateriais: Tipos, Aplicações e Mercado. *Química Nova*. Vol. 38, n° 7, 957-971, 2015.

REDESCHI, M. C. M. Preparação e Caracterização de Filmes a Base de Xiloglucana Extraída de Sementes de *Hymenaea Courbaril* (Jatobá). Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento

de Farmacos e Medicamentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP. Araraquara. São Paulo. 2006.

RIBEIRO, M. C.M. Genética molecular. Florianópolis: BIOLOGIA / EAD / UFSC, 2009.

RODRIGUES, C. D. N.; ALMEIDA, A. C.; FURLAN, C. M.; TANIGUSHI, D. G.; SANTOS, D.Y. A. C.; CHOW, F. & MOTTA. DNA Vegetal na Sala de Aula. Departamento de Botânica – IBUSP. ISBN: 978-85-85658-22-9. 2008.

RODRIGUES, B. C.; GALEMBECK, E. Biologia: aulas práticas. Editora Eduardo Galembek. Campinas – SP. 2012.

SADAVA, D.; HELLER, H. G.; ORIAN, G. H.; PURVES, W. K.; HILLIS, D. M. A Ciência da Biologia. Volume 3. Editora Artmed. Porto Alegre. Rio Grande do Sul. 2009.

SCHRANK, I. S.; SILVA, S. C. Replicação do DNA. In:ZAHA. A. Biologia molecular básica. Porto Alegre: Mercado aberto, 2001. Cap.5, pag. 93-115.

SAMPAIO, W. C.; CARVALHO, L. A. N.; CARNEIRO, M. L. B. Avanços no desenvolvimento de biomateriais visando tratamento de feridas crônicas. Hegemonia- Revista Eletrônica do Programa de Mestrado em Direitos Humanos, Cidadania e Violência. Ciência Política do Centro Universitário Unieuro. Brasília-DF. Número 25. 2018.

SANTOS, C. E. d., Anuário brasileiro da fruticultura 2013. 2013: p. 136.

SILVA, C. A. S. dos. Preparação e Caracterização de filmes poliméricos a base de kefirana para aplicação como suporte para cultivo celular. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Tecnologia e Geociências. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica. Recife – PE. 2015.

SILVA, M. H. P da. Apostila de biomateriais. 2006. Disponível em <<http://ftp.demec.ufpr.br/disciplinas/EME715/Artigos%20para%20Semin%C3%A1rio/Aquivos%20implantes/ApostilaBiomateriais.pdf>>. Acesso em 20 de agosto de 2019.

SIMÕES, R. D. Fabricação e Caracterização Estrutural de Filmes de Materiais Poliméricos Visando a Aplicação como Biomateriais. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista – UNESP. Programa Institucional em Ciência e Tecnologia de Materiais POSMAT. Presidente Prudente. 2009.

SOUSA, H. C.; BRAGA, M. E. M.; SOSNIK, A. Biomateriais aplicados ao desenvolvimento de sistemas terapêuticos avançados. Coimbra: [s.n.]. 770p. 2015.

STEPHANOPOULOS, N.; FREEMAN, R. Self-assembling Biomaterials: Molecular Design, Characterization and Application in Biology and Medicine. Woodhead Publishing Series em Biomateriais. 2018, páginas 157-175.

THIESEN, M. Biomateriais. 2019. Universidade Federal do Paraná. Disponível em <<http://www.quimica.ufpr.br/paginas/graduacao/wp-content/uploads/sites/16/2019/09/seminario-09-maira-thiesen-biomateriais.pdf>>. Acesso em 29 de jan. 2020.

UZUNIAN, A.; BIRNER, E. Biologia Para um Planeta Sustentável – Volume 3. São Paulo, Ed. Harbra, 2016.

VIÉGAS, J. Biologia Molecular: Parte II – Replicação do DNA (texto). Textos Didáticos, Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia. Universidade Federal de Pelotas, 2008.