

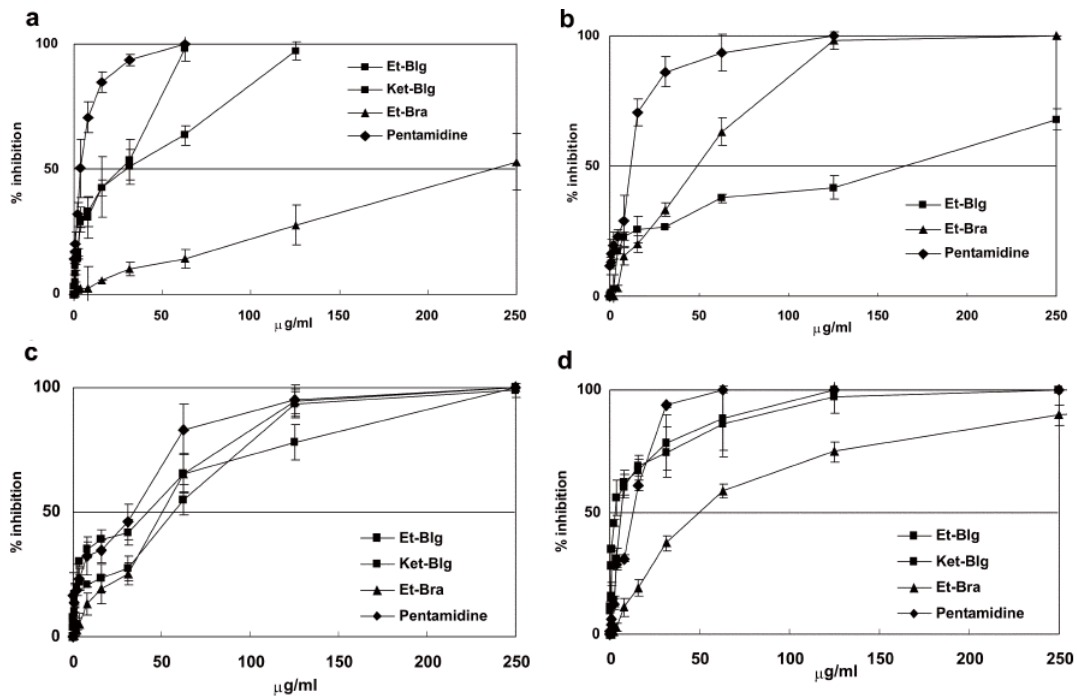
PROCESSO SELETIVO 2019 – MESTRADO

Prova de Conhecimento e Interpretação de Texto Científico

**LINHA DE PESQUISA “TECNOLOGIAS EM SAÚDE”**  
**ESPELHO DA PROVA**

**Questão 1**

No trabalho “Activity of Brazilian and Bulgarian propolis against different species of *Leishmania*” publicado pelo grupo da Dra Solange Lisboa de Castro (FioCruz, RJ), os pesquisadores avaliaram o efeito de amostras de própolis do Brasil (Et-Bra) e da Bulgária (Et-Blg) sobre diferentes espécies do gênero *Leishmania*, um protozoário intracelular que causa a doença leishmaniose. Os gráficos abaixo representam os principais resultados obtidos.



Effect of the propolis extracts Et-Blg, Ket-Blg, and Et-Bra on promastigote forms of *Leishmania* after 1 day at 26°C - a: *Leishmania amazonensis*; b: *L. braziliensis*; c: *L. chagasi*; d: *Leishmania major*. The percent of inhibition corresponds to the mean value  $\pm$  standard deviation of at least four experiments.

Fonte: Machado et al (2007)

Com base no artigo proposto e interpretação gráfica, identifique, em valores aproximados, quais IC<sub>50</sub> foram mais provavelmente estabelecidas para o extrato de própolis brasileira em relação a cada uma das espécies de *Leishmania* avaliadas.

As IC<sub>50</sub> para a Et-Bra seriam aproximadamente 230  $\pm$  20 ug/mL em relação a *L. amazonensis* e 50  $\pm$  20 ug/mL em relação às espécies *L. braziliensis*, *L. chagasi* e *L. major*.

Obs.: os valores para as IC<sub>50</sub> definidos pelo candidato não precisam, necessariamente, serem os mesmos definidos na resposta acima, mas próximos, considerando os pontos de intercessão.

Para qual espécie de *Leishmania* a própolis brasileira e a própolis búlgara seriam menos



ativas, respectivamente?

A própolis brasileira seria menos ativa para a espécie *L. amazonensis* e a própolis búlgara para a espécie *L. brasiliensis*.

Como os autores justificam as diferenças entre perfis de atividade das amostras de própolis, com relação às espécies de *Leishmania* e à origem do extrato?

Os autores justificam as diferenças entre as atividades das própolis brasileira e búlgara devido a diferença de composição química entre as mesmas. Enquanto flavonoides foram encontrados principalmente na própolis búlgara, as amirinas estão presentes exclusivamente na própolis brasileira. Estes compostos poderiam exercer efeitos específicos sobre as diferentes espécies de *Leishmania*.

### Questão 2:

No artigo “Comparative evaluation of the antioxidant capacities, organic acids, and volatiles of papaya juices fermented by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum*” os autores avaliaram o efeito das bactérias lácticas no valor nutricional de suco de mamão papaya. Com base no artigo proposto e analisando a figura e a tabela abaixo, responda:

Qual o comportamento do pH e dos açúcares redutores ao longo do tempo de fermentação e o que justifica esse comportamento?

O pH e os açúcares redutores reduziram ao longo da fermentação. A redução do pH é decorrente da produção de ácidos orgânicos, principalmente ácido lático, o principal produto dessa fermentação. A redução dos açúcares redutores refere-se a sua utilização como substrato para o crescimento dos micro-organismos.

Qual das duas bactérias ácido lácticas você indicaria para produção do suco fermentado e o que justifica sua resposta?

De acordo com os dados da Tabela, a bactéria *L. plantarum* é a indicada. Segundo a Tabela, o teor de flavonoides foi significativamente maior no suco contendo *L. plantarum* do que no suco contendo *L. acidophilus*. Assim, como esses compostos tem efeitos benéficos a saúde do consumidor, esse fato justifica a indicação.

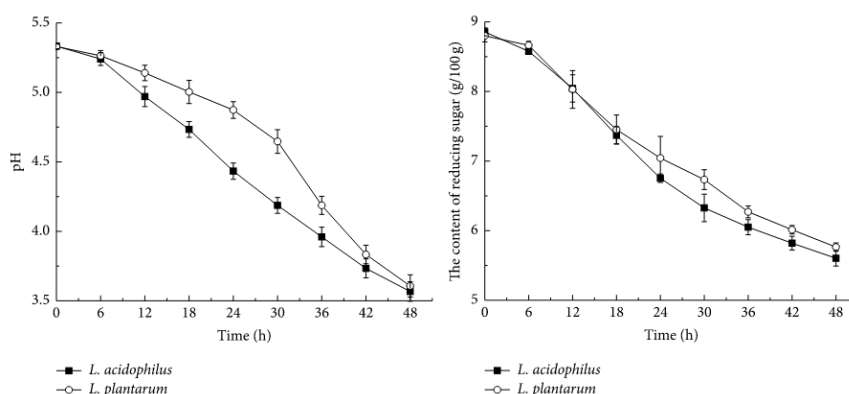


Table 2: Changes in others antioxidative components of the fermented papaya juices.

Antioxidative components	Papaya juice (mg/100 mL)	<i>L. acidophilus</i> 48 h (mg/100 mL)	<i>L. plantarum</i> 48 h (mg/100 mL)
Total flavonoids content	0.50 ± 0.06 <sup>c</sup>	1.11 ± 0.17 <sup>b</sup>	1.45 ± 0.13 <sup>a</sup>
Total carotenoid content	15.5 ± 1.3 <sup>a</sup>	11.5 ± 1.3 <sup>b</sup>	11.1 ± 1.0 <sup>b</sup>
Vitamin C content	21.1 ± 1.0 <sup>a</sup>	17.6 ± 1.0 <sup>b</sup>	18.22 ± 1.0 <sup>b</sup>

Values are expressed as the mean ± SD. Values with different letters (a ~ c) in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .



### Questão 3:

No artigo “*Phenolic compounds, antioxidant, and antibacterial properties of pomace extracts from four Virginia-grown grape varieties*” publicado por Xu et al. (2016) foram avaliados os compostos fenólicos e as propriedades antioxidante e antibacteriana de extratos do bagaço de quatro variedades de uvas, sendo duas variedades de uva branca e duas variedades de uva roxa.

**Considerando a Tabela 1, houve diferença significativa entre as variedades de uvas testadas em relação ao total de antocianinas? Se sim, indique como elas diferiram entre si.**

Sim. As variedades *Viognier* e *Vidal Blanc* não diferiram entre si e ambas diferiram das variedades *Cabernet Franc* e *Chambourin*! (outras interpretações corretas também serão consideradas). Já as variedades *Cabernet Franc* e *Chambourin* diferiram entre elas.

**Além disso, comparando as variedades de uva branca com as variedades de uva roxa, o resultado obtido para o total de antocianinas era esperado? Justifique sua resposta.**

Sim, uma vez que, as antocianinas são pigmentos com coloração variando entre o vermelho, roxo e azul, e estão presentes em maior quantidade na pele de uvas roxas

**Analisando a Tabela 6, o extrato do bagaço de quais variedades de uva tiveram maior ação inibitória e maior ação bactericida contra a *Listeria monocytogenes*? E contra o *Staphylococcus aureus*?**

O extrato das variedades *Viognier* e *Cabernet Franc* apresentaram maior ação inibitória e maior ação bactericida contra a *Listeria monocytogenes*. Contra o *Staphylococcus aureus*, a maior ação inibitória foi apresentada pelo extrato da variedade *Viognier*, enquanto a maior ação bactericida foi apresentada pelo extrato variedade *Chambourcin*.

**Ainda com base na Tabela, os resultados indicam que os extratos do bagaço de uva apresentaram maior atividade antibacteriana contra qual espécie de bactéria? Justifique sua resposta.**

Sim, pois de maneira geral os MIC e MBC dos extratos foram menores para *Listeria monocytogenes* do que para *Staphylococcus aureus*.

**Table 1.** Total yield, phenolic, flavonoids and anthocyanins contents in the extracts from four grape pomaces.

Varieties	Extraction yield (%)	Total phenolics (TPC) (mg GAE/g extract)	Total flavonoids (TFC) (mg CE/g extract)	Total anthocyanins (TAC) (mg Cyd-3-glu equivalent/g extract)
Viognier	24.9 ± 1.00 <sup>a</sup>	99.1 ± 0.29 <sup>b</sup>	75.0 ± 0.42 <sup>b</sup>	0.02 ± 0.01 <sup>c</sup>
Vidal Blanc	20.6 ± 2.57 <sup>b</sup>	55.5 ± 0.87 <sup>d</sup>	32.8 ± 0.41 <sup>d</sup>	0.06 ± 0.01 <sup>c</sup>
Cabernet Franc	12.4 ± 0.55 <sup>c</sup>	153.8 ± 1.83 <sup>a</sup>	91.7 ± 1.00 <sup>a</sup>	1.38 ± 0.03 <sup>b</sup>
Chambourcin	5.30 ± 0.61 <sup>d</sup>	92.0 ± 2.16 <sup>c</sup>	38.9 ± 0.74 <sup>c</sup>	10.7 ± 0.05 <sup>a</sup>

GAE, gallic acid equivalent; CE, catechin equivalent.

Data are expressed as mean ± standard deviation (n = 3).

Means followed by the same letter within a column indicate no significant (P > 0.05) difference among samples.



**Table 6.** Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of four grape extracts against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*.

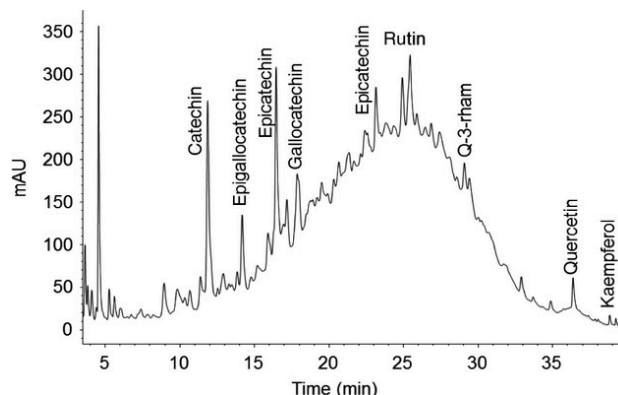
Varieties	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	
	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
Viognier	5.07 <sup>a</sup>	10.2 <sup>a</sup>	40.6 <sup>a</sup>	162.5 <sup>b</sup>
Vidal Blanc	15.6 <sup>b</sup>	31.3 <sup>b</sup>	250 <sup>c</sup>	>250
Cabernet Franc	4.69 <sup>a</sup>	9.38 <sup>a</sup>	75 <sup>b</sup>	150 <sup>b</sup>
Chambourcin	18.8 <sup>b</sup>	37.5 <sup>b</sup>	75 <sup>b</sup>	75 <sup>a</sup>

Data shown for MICs and MBCs are a result of four replicates of which three values were identical for every organism and every tested sample. Means followed by the same letter within a column indicate no significant ( $P > 0.05$ ) difference among the samples.

Fonte: Xu et al (2016)

#### Questão 4:

O cromatograma a seguir foi obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para um extrato de bagaço de uva rico em compostos fenólicos. As condições cromatográficas foram coluna de fase reversa (octadecilsilano) (250 x 2.4 mm); eluentes acetonitrila (A) e água + ácido acético 3% (B); eluição em gradiente com 5% A/95% B de 0 a 30 min; 25% A/75% B de 30 a 35 min; 75% A/25% B de 35 a 40 min; fluxo 1,0 mL/min; com detecção UV a 280 nm.



Fonte: Xu et al (2016)

Considerando essas informações, explique porque a técnica proposta pelos autores (cromatografia líquida de alta eficiência) e as fases estacionária e móvel citadas para identificação dos compostos fenólicos foram as mais adequadas para a análise do extrato em questão.

A CLAE é adequada para uma variedade de compostos orgânicos que apresentam polaridade mais alta e volatilidade mais baixa ou ainda elevada instabilidade térmica, como é o caso das substâncias analisadas no artigo em questão. A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência no modo reverso constitui a modalidade cromatográfica na qual a fase móvel é mais polar do que a fase estacionária. O princípio da retenção no modo reverso é a hidrofobia. A separação no modo reverso se deve principalmente a interações entre a parte não-polar do soluto e a fase estacionária, isto é, à repulsão desta parte do soluto pela fase móvel aquosa. A amostra submetida a Análise cromatográfica possui caráter polar, desta forma, os componentes da amostra que aparecem no cromatograma nos primeiros minutos são mais polares que os últimos componentes. A fase estacionária reversa retém mais fortemente os componentes menos polares. Assim, o gradiente da fase móvel teve sua polaridade diminuída, no final da corrida, para permitir a eluição dos componentes menos polares.



**Questão 5:**

Considerando a excelente atividade anti-leishmania da fração acetato de etila do extrato de própolis búlgara, cujos resultados foram apresentados pela primeira vez no artigo "*Activity of Brazilian and Bulgarian propolis against different species of Leishmania*", publicado em 2007 na revista "Memórias do Instituto Oswaldo Cruz", os autores resolveram, em 2009, solicitar a patente de uso da referida fração junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial. **Baseado na Lei Nº 9.279/1996, que trata da proteção dos direitos relativos à propriedade industrial, discuta se o pedido patente é passível de aprovação. Apresente argumentos de acordo com a Lei.**

A substância em si é patenteável, pois os autores almejavam patentear o uso (modelo de utilidade) e não o produto natural em si, visto que este não pode ser patenteável. Contudo, segundo a lei, somente é patenteável a invenção que atenda aos requisitos de novidade, atividade inventiva e aplicação industrial. A invenção e o modelo de utilidade são considerados novos quando não compreendidos no estado da técnica. O artigo § 1º define que estado da técnica é constituído por tudo aquilo tornado acessível ao público antes da data de depósito do pedido de patente. No caso em questão os autores publicaram tornaram os dados público em 2007 e somente solicitaram o pedido de depósito em 2009. Logo, o pedido não seria passível de patente.