



ALTERNATIVA BIODEGRADÁVEL PARA MATERIAIS DE CONSUMO UTILIZADOS NA REPRODUÇÃO ANIMAL

Mariana Teran Silva¹; Amanda Soriano Araujo Barezani²; Ariane Flavia do Nascimento²; Herman Sander Mansur²; Nadia Sueli Vieira Capanema².

¹Mariana Teran Silva, Bolsista CNPq, Medicina Veterinária, IFMG-Campus Bambuí, Bambuí-MG; marianateran.vet@gmail.com.

²Amanda Soriano Araujo Barezani, Médica Veterinária, IFMG – Campus Bambuí, Bambuí – MG.

²Ariane Flavia do Nascimento, Médica Veterinária, IFMG – Campus Inconfidentes, Inconfidentes – MG.

²Herman Sander Mansur, Engenheiro Metalúrgica e Materiais, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG.

²Nadia Sueli Vieira Capanema, Odontologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG

Orientadora: Amanda Soriano Araujo Barezani; amanda.barezani@ifmg.edu.br

RESUMO

A biotecnologia tem contribuído imensamente para a melhoria dos índices reprodutivos na pecuária. Muitos são os materiais de consumo utilizados durante estes procedimentos como luvas de palpação, sendo todos eles descartados após único uso. O descarte desses materiais passa a constituir um problema ambiental não só pela possível veiculação de microrganismos patogênicos (classificados como grupo A de resíduos sólidos de saúde), mas, principalmente, pelo longo tempo de decomposição na natureza, já que todos os produtos nacionais disponíveis no mercado são confeccionados com polímeros plásticos não biodegradáveis. Torna-se então importante a proposta da produção destes materiais a partir de uma matéria prima sustentável, biodegradável. Assim, objetivou-se com este projeto, produzir um protótipo de luva de palpação que atenda ao mercado e seja biodegradável e, portanto, sustentável. A metodologia se constituiu em seleção e testes do biopolímero a ser utilizado, teste de espermiotoxicidade *in vitro* sobre o biopolímero, prototipagem de uma luva de palpação, testes de resistência mecânica e análise tátil do protótipo desenvolvido. O protótipo foi desenvolvido com sucesso, se apresentado atóxico aos espermatozoides e atendendo às exigências táteis e mecânicas necessárias. Além disso, a utilização do biomaterial representou um avanço sustentável significativo no setor da pecuária.

INTRODUÇÃO

O aumento da demanda por produtos de origem animal, impulsionado pelo crescimento populacional, exige maior eficiência reprodutiva na pecuária, e para isso, biotecnologias da reprodução são vitais. Para viabilizar essas biotecnologias, materiais de consumo descartáveis, como luvas de palpação retal, são vitais. As luvas de palpação disponíveis no mercado brasileiro são constituídas de polietileno ou etileno acetato de vinila (EVA) siliconado, ambos derivados do petróleo (Arantes, 2020) e portanto, não sustentáveis.

Após o uso, os materiais de consumo descartáveis são classificadas como Resíduos Sólidos de Saúde (RSS) devido a possível presença de agentes biológicos nas amostras coletadas (ANVISA,

2004). Os gêneros de bactérias mais presentes em amostras de sêmen são membros dos filos Actinobacteria (*Corynebacterium*), Bacteroidetes (*Prevotella*), Firmicutes (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Planococcaceae*, *Fingoldia*) e Proteobacteria (*Haemophilus*, *Burkholderia*) (BAUD et al., 2019).

Atualmente existem alternativas biodegradáveis aos polímeros de petróleo disponíveis no mercado, no entanto não são utilizados para a confecção dos materiais de consumo de uso na reprodução animal. Muitos dos polímeros biodegradáveis têm boa propriedade de formação de filme (VAN DE VELDE e KIENKS, 2002). Além disso, seu uso tem como base um desenvolvimento sustentável, preservação ambiental, conservação da biodiversidade, segurança aos seres humanos e ao abastecimento de alimentos (REDDY et al., 2014; SANTOS 2021). Considera-se então, a utilização de polímeros biodegradáveis, os biopolímeros, como matéria-prima para a produção de luvas de palpação e mucosas descartáveis.

METODOLOGIA

1. Seleção e testes do biopolímero a ser utilizado no protótipo.

Realizada análise, desenvolvimento e seleção do biopolímero a ser utilizado como material para confecção da luva. Filmes com o biopolímero selecionado foram submetidos a teste de grau de intumescimento e fração gel. Os dados foram analisados em um histograma utilizando o software Origin C.

2. Análise de espermiotoxicidade *in vitro*

Avaliados motilidade espermática e integridade da membrana de espermatozoides bovinos seguindo as diretrizes do Atlas de Morfologia Espermática Bovina da EMBRAPA. Espermatozoides criopreservados de 12 touros foram divididos em dois grupos (*Pool A e Pool B*). Para a seleção dos animais que iriam compor os “Pools”, foi realizada uma avaliação de motilidade do espermatozoide de cada touro incluído no *Pool*. Palhetas (0,25 mL) previamente armazenadas em nitrogênio líquido foram descongeladas em banho-maria a 37°C por 30 segundos. O conteúdo das palhetas foi depositado em um tubo graduado, 10 µL de sêmen foi depositado sobre a lâmina de vidro, colocada uma lamínula e avaliada a porcentagem de espermatozoides móveis sob microscópio óptico em lente de 40x. Os touros que apresentavam motilidade maior ou igual a 60% foram selecionados.

Para iniciar análise de espermiotoxicidade, foi feito um parâmetro controle, em que três poços de uma placa de Petri foram revestidos com um fragmento de luva comercial, e em cada um desses poços, foi depositado 1 ml do “*Pool A*”. Da mesma forma, para o grupo teste, com a mucosa experimental. O mesmo procedimento foi repetido para o “*Pool B*”. As placas foram então cobertas com papel alumínio e incubadas a 22-24°C em um agitador orbital.

2.1 Motilidade espermática dos *Pools*

Pipetou-se 10µl de sêmen de cada poço em uma lâmina. A porcentagem da motilidade foi dada pelo número de células móveis em relação ao número total de células vistas. A avaliação da motilidade foi repetida após 60 minutos, 120 minutos e 160 minutos. De cada poço, de cada placa.

2.2 Análise de integridade de membrana

20 µL de sêmen foi depositado sobre lâmina para 20 µL do corante de eosina-nigrosina (37°C). Após homogeneização, realizou-se o esfregaço e 200 espermatozoides por lâmina foram contados em microscópio de luz, em aumento de 1000x. A quantidade de células com membranas íntegras e não íntegras foram anotadas em porcentagem. A avaliação da integridade de membrana foi repetida após 60 minutos, 120 minutos e 160 minutos. De cada poço, de cada placa.

2.3 Preparação do protótipo

Realizou-se um estudo comparativo das dimensões de dois modelos de luvas comerciais. Com os dados, foi desenvolvido um molde tridimensional em papelão que serviu como base para o corte das peças de biofilme. Foram cortando dois filmes em tamanhos correspondentes e posicionando um sobre o outro. As peças foram posicionadas na seladora de bancada com as bordas alinhadas e submetidas a uma temperatura de 180°C por 15 segundos.

2.4 Teste de resistência mecânica e sensibilidade da luva em manequim

Analisou-se o comportamento mecânico do polímero com ensaio de tensão-deformação (ASTM D638). Um manequim de treinamento para inseminadores foi posicionado simulando a posição para o exame em animais vivos. Posteriormente, o protótipo foi cuidadosamente colocado, avaliando-se o ajuste e o conforto e o manequim foi palpado 15 vezes, simulando a identificação cervical de uma vaca.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

1. Seleção e teste do biopolímero

Biopolímero Carboximetilcelulose (CMC), com boas propriedades de grau de intumescimento e fração gel.

2. Teste de espermiotoxicidade *in vitro*

Os espermatozoides do “*Pool A*” apresentaram uma motilidade inicial de 70%, e do “*Pool B*” de 80%. Quanto ao *Pool A*, a motilidade do controle reduziu 5% a 15% do tempo inicial até o tempo 3, enquanto no grupo teste a redução foi entre 5% a 20%. Em relação ao *Pool B*, a motilidade do controle diminuiu entre 10% a 40% do tempo inicial até o tempo 3, e no grupo teste a queda foi entre 5% a 35%.

Silveira et al. (2010) avaliaram 5.903 touros da raça Nelore, com média de 21 meses de idade, encontrando uma motilidade espermática média de 69,5%. Domingues et al. (2018) determinaram a motilidade espermática média de 50 touros da raça Nelore, obtendo um valor médio de $78 \pm 7,55\%$. Segui et al. (2011) estudaram a motilidade espermática em 20 touros da raça Nelore, e encontraram valores variando de $65 \pm 10\%$ a $71 \pm 4\%$. Lopes et al. (2009) realizaram uma avaliação andrológica em 14 touros da raça Nelore e encontraram uma motilidade espermática média de $74,28 \pm 12,38\%$. Além dos valores encontrados serem semelhantes aos do presente estudo, mesmo após o contato com o filme teste, a motilidade espermática permaneceu significativamente acima do mínimo exigido para um reprodutor, que é de 30% segundo o CBRA (1998).

Quanto a integridade de membrana, os espermatozoides do “*Pool A*” apresentaram integridade de membrana total inicial de 66%, e do “*Pool B*” de 74%. Quanto ao *Pool A*, a integridade de membrana do controle reduziu entre 5% e 25% do tempo inicial até o tempo 3, enquanto no grupo teste a redução foi entre 4% e 22%. Em relação ao *Pool B*, a motilidade do controle diminuiu entre 7% e 41% do tempo inicial até o tempo 3, e no grupo teste a queda foi entre 9% e 38%.

Zúccari et al. (2009) conduziram um estudo sobre a correlação entre diferentes métodos de avaliação da integridade da membrana plasmática de espermatozoides bovinos criopreservados. O estudo foi realizado utilizando sêmen congelado comercial de cinco touros da raça Nelore, com três repetições para cada animal. Os percentuais médios de espermatozoides com membrana plasmática íntegra foram de $51,6 \pm 15,9$, conforme o teste de eosina/nigrosina, a metodologia utilizada neste estudo. Marinho et al. (2016) investigaram as características seminais e a integridade da membrana espermática em touros suplementados com tocoferol. Para isso, utilizaram 16 touros com idade média de 24 meses. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa no parâmetro de morfologia espermática. A integridade da membrana do

grupo controle foi de $77,13 \pm 2,03$, enquanto o grupo suplementado com tocoferol apresentou uma integridade de $77,70 \pm 2,89$.

Uma análise de variância (ANAVA) foi realizada utilizando o software SISVAR versão 5.6 para comparar o desempenho do polímero controle e do biopolímero para avaliar o efeito dos dois tipos de polímero (controle e biopolímero) nos três níveis de tempo sobre a toxicidade espermática. Os resultados (tabela 1) indicaram que não houve diferença estatística significativa entre os dois tipos de polímero, sugerindo que o biopolímero não exerce efeito tóxico sobre os espermatozoides.

Tabela 01 - Média e Desvio padrão análises comparativas entre mucosa controle e mucosa biodegradável.

Sêmen	Mucosa	Tempo 0 (%)	Tempo 1 (%)	Tempo 2 (%)	Tempo 3 (%)
<i>Pool A</i>	Controle	$66,0 \pm 0$	$58,67 \pm 2,52$	$52,33 \pm 3,21$	$45,33 \pm 4,04$
<i>Pool A</i>	Bio	$70,67 \pm 8,08$	$59,33 \pm 3,79$	$50,67 \pm 4,51$	$47,33 \pm 3,06$
<i>Pool B</i>	Controle	74 ± 0	$56,33 \pm 9,45$	$45,33 \pm 12,34$	$39,67 \pm 7,02$
<i>Pool B</i>	Bio	74 ± 0	$61,00 \pm 4,58$	$52,33 \pm 7,64$	$39,67 \pm 4,04$

3. Protótipo da luva

O protótipo da luva foi feito com sucesso. Se apresentou eficiente quanto à análise tátil, considerando que com ela foi possível identificar a estrutura do manequim que simula a cérvix de uma fêmea bovina. Quanto à resistência mecânica, analisando tensão-deformação, houve força aplicada a luva, ao ser introduzida no manequim 15 vezes, e o material não se fraturou enquanto se deformava elasticamente.

CONCLUSÕES

A comparação entre a luva teste e a luva padrão existente no mercado, revelou que ambas apresentaram desempenho semelhantes. Demonstrando que, a mucosa teste é atóxica aos espermatozoides e atende às exigências táteis e mecânicas necessárias. Além disso, a utilização do biomaterial representa um avanço sustentável significativo no setor da pecuária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). RDC nº 306, de 7 de dezembro de 2004. **Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde**. Brasília, DF, 2004.

ARANTES, Mariana Matos. Desenvolvimento e caracterização de compósitos poliméricos à base de EVA e LDPE reciclados com fibras de coco de babaçu - uma contribuição para a sustentabilidade. 2020. **Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear - Materiais)** - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics** (ASTM D638). West Conshohocken, PA, 2018.

BAUD, D. et al. Sperm Microbiota and Its Impact on Semen Parameters. **Frontiers in Microbiology**., 2019.

CBRA. **Manual para Exame Andrológico e Avaliação de sêmen animal**. Belo Horizonte; CBRA, 1998. 2º ed., 49 p.

DOMINGUES, L. H. C.; QUAQUIO, R.; SOFFA, A. F.; CERQUEIRA, L. M.; OLIVEIRA, C. H. A.; ANDRADE, E. R. Avaliação andrológica e classificação por pontos de touros Nelore puro de origem em propriedades de Rondônia. **Ars Veterinária**, v. 34, n. 4, supl., p. 178-179, 2018.

FERREIRA, Daniel Furtado. **SISVAR, versão 5.6**

LOPES, F. G.; GUIMARÃES, J. D.; COSTA, E. P.; CARVALHO, G. R.; NETO, T. M. Avaliação andrológica por pontos e comportamento sexual em touros da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 6, p. 1018-1025, 2009.

MARINHO, W. A. dos S.; HATAMOTO-ZERVOUDAKIS, L. K.; ZERVOUDAKIS, J. T.; ARGUELLO, F. A. P. de B.; TSUNEDA, B. H.; DUARTE JUNIOR, M. F.; TSUNEDA, P. P.; BARBOSA, E. A. Características seminais e de membrana espermática em touros suplementados com tocoferol. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 17, n. 2, p. 322-330, abr./jun. 2016.

Origin(Pro), *Version 2019*. **OriginLab Corporation**, Northampton, MA, USA.

REDDY, M.S. et al. Effect of plastic pollution on environment. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. Kadapa, 2014. SANTOS, J. D. A. Biopolímeros aplicados a sustentabilidade: uma revisão de literatura. *Revista multidisciplinar de educação e meio ambiente*, 2021.

SEGUI, M. S.; TURRA, T. A.; FALEIROS, E.; WEISS, R. R.; KOZICKI, L. E.; SANTOS, I. W. Correlação entre a biometria testicular, a idade e as características reprodutivas de touros da raça Nelore. **Archives of Veterinary Science**, v. 16, n. 1, p. 1-6, 2011. ISSN 1517-784X.

SANTOS, J. D. A. Biopolímeros aplicados a sustentabilidade: uma revisão de literatura. *Revista multidisciplinar de educação e meio ambiente*, 2021.

SILVA, A. E. D.F; et al. **Atlas de morfologia espermática bovina**. Brasília, DF: Embrapa, 2016.

SILVEIRA, T. S.; SIQUEIRA, J. B.; GUIMARÃES, S. E. F.; PAULA, T. A. R.; MIRANDA NETO, T.; GUIMARÃES, J. D. Maturação sexual e parâmetros reprodutivos em touros da raça Nelore criados em sistema extensivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 3, p. 503-511, 2010.

VAN DE VELDE, K.; KIENKS, P. Biopolymers: overview of several properties and consequences on their applications. **Polymer testing**. v. 21, issue 4, 2002.

ZÚCCARI, C. E. S. N.; LEITE, P. A.; PASSOS, T. S.; CARRIJO, P. R.; KIEFER, C. Correlação entre métodos de avaliação da integridade da membrana plasmática do espermatozoide bovino criopreservado. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 3, p. 678-684, jul./set. 2009.