



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA - UNIPAMPA
CADASTRO DE PROJETO INSTITUCIONAL



Dados do Projeto

Número de Registro:	2022.PE.UR.416	Código:	416
Coordenador:	Daniela dos Santos Brum	Controle:	60974
Área:	Pesquisa	Unidade Origem:	CAMPUS URUGUAIANA
Modalidade:	Projeto de Pesquisa	Telefone:	55 996312122
Título:	Utilização de hidrolisado de clara de ovo na produção in vitro de embriões bovinos		
Execução:	De 02/05/2022 a 30/04/2026	Nº de Registro no SIPPEE:	20200526103051
Autoriza Publicação Resumo:	Sim	Área de Conhecimento:	Ciências Agrárias
Formação Continuada:	Não informado		
Grupo de Pesquisa:	Biotechnology da Reprodução - BIOTECH UNIPAMPA	Possui interação com o setor produtivo:	Não
Cooperação interinstitucional dentro do país:	Não	Cooperação interinstitucional fora do país:	Sim
Palavras-chave:	ovócito / embrião / clara de ovo / hidrolisado		

Os reagentes solicitados serão utilizados para o desenvolvimento do projeto de pesquisa que tem como objetivo avaliar o efeito do hidrolisado da clara do ovo na produção *in vitro* de embriões bovinos. A Albumina sérica bovina é um suplemento proteico necessária em todas as fases da produção *in vitro* de embriões (maturação, fecundação e cultivo). O Percoll será utilizado para a seleção dos espermatozoides antes da fecundação *in vitro* e o DMSO será empregado tanto como veículo para diluir alguns antioxidantes utilizados nos meios, como para a preparação dos meios de vitrificação de gametas e embriões.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA - UNIPAMPA
CADASTRO DE PROJETO INSTITUCIONAL



Dados do Projeto

Número de Registro:	2022.PE.UR.416	Código:	416
Coordenador:	Daniela dos Santos Brum	Controle:	60974
Área:	Pesquisa	Unidade Origem:	CAMPUS URUGUAIANA
Modalidade:	Projeto de Pesquisa	Telefone:	55 996312122
Título:	Utilização de hidrolisado de clara de ovo na produção in vitro de embriões bovinos		
Execução:	De 02/05/2022 a 30/04/2026	Nº de Registro no SIPPEE:	20200526103051
Autoriza Publicação Resumo:	Sim	Área de Conhecimento:	Ciências Agrárias
Formação Continuada:	Não informado		
Grupo de Pesquisa:	Biotechnology da Reprodução - BIOTECH UNIPAMPA	Possui interação com o setor produtivo:	Não
Cooperação interinstitucional dentro do país:	Não	Cooperação interinstitucional fora do país:	Sim
Palavras-chave:	ovócito / embrião / clara de ovo / hidrolisado		

Resumo do Projeto

A produção in vitro (PIV) de embriões é uma biotecnologia reprodutiva que impacta os sistemas pecuários, favorecendo o melhoramento genético. Embora a PIV de bovinos seja considerada um método já estabelecido, muitos dos seus aspectos ainda estão em desenvolvimento e necessitam de mais estudos. A fecundação in vitro (FIV) é um etapa da PIV na qual é necessário realizar a seleção espermática, a fim de recuperar espermatozoides de boa qualidade, além de remover componentes do diluidor, plasma seminal, debris celulares e agentes infectantes. Este procedimento pode causar danos irreversíveis aos espermatozoides e consequentemente, influenciar nas taxas de fecundação, principalmente quando o procedimento é realizado com sêmen previamente submetido à criopreservação. O presente estudo visa avaliar o potencial de Peptídeos bioativos derivados da hidrólise de proteínas de clara de ovo que têm demonstrado importantes atividades biológicas em sistemas in vivo e in vitro na capacidade de prevenir ou reparar possíveis danos oxidativos ocorridos durante a fase de seleção espermática, melhorando consequentemente os índices de fecundação e aplicabilidade da biotecnologia.

Introdução e Justificativa

A produção in vitro (PIV) de embriões é uma biotecnologia reprodutiva que impacta os sistemas pecuários, favorecendo o melhoramento genético (Díaz et al. 2013). A PIV está consolidada como a técnica de eleição para a produção de embriões bovinos, respondendo pelo maior percentual dos embriões produzidos não apenas em raças zebuínas de corte, mas também nas taurinas e de leite. (Viana & Gonçalves, 2019). O Brasil segue como referência no uso da PIV, respondendo por 34,8% da produção global (Viana, 2018). A fecundação in vitro (FIV) é um etapa da PIV na qual é necessário realizar a seleção espermática, a fim de recuperar espermatozoides de boa qualidade, além de remover componentes do diluidor, plasmaseminal, debris celulares e agentes infectantes (Henkel & Schill, 2003). Na separação espermática com o percoll, o sêmen é centrifugado através da passagem por diferentes gradientes, permitindo a separação dos espermatozoides vivos dos demais constituintes do sêmen, baseado na diferença de densidade. (Gonçalves et al., 2002). Em laboratórios comerciais de PIV de bovinos, o gradiente descontínuo de percoll ainda é o método mais utilizado para a seleção espermática (Cesari et al., 2016). No entanto, este procedimento pode causar danos irreversíveis aos espermatozoides e consequentemente, influenciar nas taxas de fecundação, principalmente quando o procedimento é realizado com sêmen previamente submetido à criopreservação (Sharma et al., 1996). Peptídeos bioativos derivados da hidrólise de proteínas de clara de ovo têm demonstrado importantes atividades biológicas, tais como antioxidante in vivo e in vitro e atividade anti-inflamatória. (Garcés-Rimón et al., 2016; Moreno-Fernández et al., 2018). Fujita et al. (1995), obtiveram e isolaram o primeiro peptídeo bioativo derivado da clara de ovo, procedente da ovoalbumina, que apresentava atividade vasodilatadora e atividade anti-hipertensiva. Pesquisas indicam que as atividades vasodilatadora e antioxidante do hidrolisado podem ser úteis para reverter as alterações produzidas em casos de intoxicação por mercúrio (Rizzetti et al. 2017). Apesar de algumas pesquisas já terem comprovado a ação antioxidante e protetora da clara de ovo em determinadas células e tecidos, hidrolisados desta substância ainda não foram testados em células espermáticas bovinas. Portanto, o objetivo deste estudo será avaliar a capacidade do hidrolisado de clara de ovo em exercer atividade antioxidante e protetora, após sua incubação com o sêmen e no protocolo de seleção espermática. Embora a produção in vitro (PIV) de embriões bovinos seja considerada um método já estabelecido, muitos dos seus aspectos ainda estão em desenvolvimento e necessitam de mais estudos. Diversos fatores comprometem os resultados deste processo, entre eles, a preparação espermática para a etapa de fecundação (Pavin, 2016). O estresse oxidativo (EO) seminal se desenvolve como resultado de um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas ao oxigênio e as defesas antioxidantes (Sharma & Agarwal, 1996). As células espermáticas são extremamente sensíveis ao dano oxidativo, devido ao elevado teor de ácidos graxos poliinsaturados presentes na sua membrana plasmática (Alvarez & Storey, 1993). Diversos fatores desencadeiam o EO, entre eles destacam-se os fatores iatrogênicos, ocasionados, por exemplo, pela centrifugação realizada durante a separação espermática (Oflaherty et al., 1999). Considera-se a hipótese de que a clara de ovo hidrolisada, o seu efeito antioxidante e protetor em cultivo celular de macrófagos (Garcés-Rimón et al., 2016), é capaz de aumentar a viabilidade do sêmen após um período de incubação com o hidrolisado e/ou diminuir os danos aos espermatozoides durante a seleção espermática para PIV. O projeto é compatível com as linhas de pesquisa desenvolvidas pela equipe de pesquisadores e discentes do Laboratório Biotech - Unipampa, pois envolve estudos sobre o metabolismo espermático e a PIV em bovinos.

Objetivos

Geral: - Investigar se o hidrolisado de clara de ovo é capaz de influenciar os resultados da produção in vitro de embriões bovinos. Específicos: - Desenvolver uma técnica de seleção espermática que melhore os resultados da PIV contribuindo para a biotecnologia da reprodução animal.

- Avaliar a capacidade da clara de ovo, após período de incubação com os espermatozoides, de aumentar sua viabilidade durante a seleção espermática. - Verificar se a adição de hidrolisado de clara de ovo, durante a etapa de seleção espermática, é capaz de melhorar a recuperação espermática.

Materiais e Métodos

Serão realizados dois experimentos em triplicata. No experimento A, serão descongeladas e mescladas amostras de sêmen de três touros *Bos taurus*, o volume deste "pool" será dividido em três frações que receberão quantidades distintas de hidrolisado de clara de ovo, formando as concentrações H1= 50 µg/ml, H2= 100 µg/ml e H3= 150 µg/ml. Cada uma destas frações será incubada durante três períodos de tempo, sendo, i1= 1 hora, i3= 3 horas e i5= 5 horas. Cada fração de sêmen diluída em diferentes concentrações de hidrolisado, terá seu grupo controle (H), que não sofrerá incubação. Todas as frações, ao final de seus respectivos tempos de incubação e antes de seguirem para o protocolo de seleção espermática, serão analisadas em relação à cinética e morfologia espermática, integridade de membrana, formação de espécies reativas ao oxigênio (EROs) e atividade antioxidante. Em seguida, serão submetidas à seleção espermática. Após este processo, metade do volume das amostras será submetida às mesmas avaliações espermáticas já mencionadas e a outra metade será utilizada para fecundação de *in vitro*, sendo que ao final da PIV serão analisadas as taxas de penetração e fecundação, o desenvolvimento e a qualidade embrionária. O experimento B consistirá em testar o efeito do hidrolisado de clara de ovo durante o processo de seleção espermática em um "pool" seminal de três touros *Bos taurus*. Após o descongelamento, o sêmen será submetido ao protocolo de seleção com a adição de hidrolisado de clara de ovo na base dos tubos em três concentrações distintas, C50= 50 µg/ml, C100= 100 µg/ml e C150= 150 µg/ml para a primeira centrifugação. O grupo controle (C) não terá a adição do hidrolisado. Após a segunda centrifugação, metade do volume dos "pellets" formados em cada tubo serão analisados em relação à cinética, morfologia, integridade de membrana, formação de EROs e atividade antioxidante, consistindo na primeira etapa do experimento B. Em sua segunda etapa, serão analisados os resultados obtidos após finalizadas as etapas da técnica de PIV, ou seja, a taxa de fecundação e o desenvolvimento embrionário.

A avaliação do sêmen será conduzida através das seguintes análises: Concentração A concentração espermática será realizada em câmara hematimétrica (Neubauer) após diluição 1:20 (sêmen/formol citrato tamponado). As duas áreas da câmara serão preenchidas com sêmen diluído e após cinco minutos, cinco quadrados de cada uma das duas áreas serão avaliados. A média do número de espermatozoides contabilizados nos 10 quadrados será multiplicada por $\times 10^6$ para se obter a concentração espermática por mL. Essa avaliação será realizada em microscópio óptico, em aumento de 400x (CBRA, 2013). Morfologia As alterações morfológicas dos espermatozoides serão quantificadas por meio de preparação úmida em microscópio de contraste de fase, com aumento de 1000 x, em que 200 células de cada tratamento serão contadas e seus defeitos classificados quanto a patologias de cabeça, peça intermediária e cauda (BLOM, 1973). Cinética espermática Uma amostra de 5 µl será preparada entre lâmina e lamínula (37°C) e submetida à avaliação de cinética espermática pelo equipamento semi-automatizado Sperm Class Analyzer (SCA), onde serão obtidos os valores de Velocidade curvilínea (VCL- µm/s), velocidade linear progressiva (VSL- µm/s), velocidade média da trajetória (VAP- µm/s), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH - µm), frequência de batimento flagelar cruzado (BCF- Hz), retilinearidade (STR - %) e linearidade (LIN - %). Funcionalidade de membrana plasmática Seguindo o protocolo adaptado para sêmen equino (LAGARES et al., 2000) e a classificação das células de conforme descrito por Neild et al. (1999) será utilizado o teste hiposmótico. Para tal, uma solução contendo 200 µl de água destilada e 100 µl de sêmen será incubada em banho-maria a 37°C por 8 min para posterior observação em microscópio óptico de contraste (400x). Serão contados espermatozoides que apresentarem cauda enrolada em um total de 200 células. Integridade de membrana plasmática, acrossomal e potencial de membrana mitocondrial A integridade das membranas plasmática, acrossomal e potencial de membrana mitocondrial serão avaliadas simultaneamente de acordo com o protocolo descrito por Nascimento et. al (2008) e Celeghini et al. (2010), pela associação das sondas iodeto de propídio (PI), aglutinina de *Pisum sativum* conjugada com isotiocionato de fluoresceína (FITC - PSA) e Tetraetilbenzimidazolil carbocianina (JC-1). Reação acrossomal e capacitação espermática Para avaliação da capacitação espermática será utilizada a técnica de coloração com hidróclorido de clortetraciclina (CTC) modificada (CORMIER et al., 1997). Uma amostra de sêmen (10 µL) será diluída em uma solução decorante de CTC (15 µL). Uma alíquota de 10 µL de solução de corante com sêmen será colocada entre lâmina e lamínula. A amostra será mantida em caixa contendo água para manter a umidade, protegida da luz à temperatura de 4°C por aproximadamente 4 a 5 horas. Serão examinadas 200 células em microscópio de epifluorescência (filtro de 494/517 excitação/emissão). Serão considerados capacitados os espermatozoides que apresentarem ausência ou baixa fluorescência na região pós acrossomal e fluorescência brilhante na região acrossomal. Fragmentação de DNA O preparo das lâminas com as amostras será efetuado conforme descrito por Cortés-Gutiérrez (2009) e a recomendação do fabricante do kit Halomax Equus caballus® (Halotech, Madri, Espanha). As amostras serão analisadas em microscópio invertido digital com fluorescência em aumento de 1000x, sob óleo de imersão. Um banco de 20 imagens será gerado para cada amostra para posterior mensuração das áreas de fragmentação da cromatina espermática no software ImageJ-1.46. Teste de longevidade Após o descongelamento, alíquotas de 50 µL de cada grupo serão mantidas em banho-maria a 38°C. As avaliações de cinética espermática serão registradas a cada 30 minutos durante um período de 2 horas, ou até que a motilidade progressiva seja inferior a 5% (SIEME, 2009). Produção de espécies reativas de oxigênio Os níveis de espécies reativas serão determinados por um método espectrofluorimétrico, usando 2,2',7,7'-diclorofluoresceína diacetato (DCF-D) (LOETCHUTINAT et al., 2005). As amostras serão incubadas no escuro com 5 µL de DCF-C (1mM). Será monitorada a oxidação da DCF-D para diclorofluoresceína (DCF) fluorescente pelas espécies reativas. A emissão da intensidade de fluorescência será realizada em 520 nm (com excitação de 488 nm) 60 minutos após a adição da DCF-D, em Espectrofluorímetro Shimadzu modelo RF-5301PC. Os resultados serão expressos em UF (unidades de fluorescência). Peroxidação lipídica A peroxidação lipídica será determinada pela formação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) como descrito por Ohkawa e colaboradores (1979), na qual o malondialdeído (MDA) reage com o ácido tiobarbitúrico (TBA) para formar um complexo colorido, determinado espectrofotometricamente a 532nm. Potencial antioxidante total O potencial antioxidante plasmático e tecidual é determinado através do potencial antioxidante redutor férrico (FRAP). Neste ensaio, os antioxidantes presentes na amostra são avaliados como redutores do Fe^{+3} a Fe^{+2} , o qual é quelado pela 2,4,6-Tri (2-piridil)-s-triazina (TPTZ) para formar o complexo Fe^{+2} -TPTZ com absorção máxima em 593 nm (BENZIE; STRAIN, 1996). Capacidade de fertilização *in vitro* (fertilização heteróloga) Ovários bovinos serão coletados em frigoríficos e transportados ao laboratório em solução salina tamponada a 23-26°C. A maturação e fertilização será realizada conforme protocolo adaptado de Sessions-Bresnahan et al., (2014) e Li et al., (2003). Análise estatística Os dados serão avaliados por análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste Tukey ($P<0,05$).

Resultados Esperados

Melhorar a viabilidade do sêmen após a incubação e a seleção espermática junto a um hidrolisado de clara de ovo e promovendo assim o incremento nos resultados da produção *in vitro* de embriões bovinos. Com isso espera-se desenvolver uma técnica de seleção espermática que melhores os resultados da PIV contribuindo para a biotecnologia da reprodução animal. Além disso, este projeto pretende cooperar com a formação de recursos humanos através da iniciação científica e estimular a integração de acadêmicos e profissionais de diferentes áreas do conhecimento. Os resultados serão publicados em anais de congressos e revistas científicas, contribuindo com a difusão de conhecimento no meio científico e com a difusão de conhecimento para técnicos da área de biotecnologia da reprodução bovina, contribuindo assim com a extensão universitária.

Relação Ensino, Pesquisa, Extensão

As atividades desenvolvidas neste projeto estão diretamente relacionadas com atividades de ensino, pesquisa e extensão. Os resultados obtidos poderão ser utilizados por médicos veterinários que atuam em laboratórios de produção *in vitro* de embriões bovinos tanto públicos como privados, caracterizando assim, a relação deste projeto com a atividade de extensão. O aluno poderá ter contato direto com as técnicas utilizadas para a produção de embriões em laboratório, bem como, com a realidade que o mesmo

encontrará depois de formado. No que se refere à pesquisa e ensino, as atividades desenvolvidas serão acompanhadas por alunos de graduação (iniciação científica), alunos de mestrado e de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal que são orientados por professores do nosso grupo de pesquisa, o que vincula o projeto a atividades de ensino de graduação e pós-graduação. Esta interação entre alunos de graduação e pós-graduação é fundamental para despertar o interesse pela pesquisa e prepará-los para um futuro curso de pós-graduação, caso seja de interesse, bem como proporcionar uma melhor formação aos alunos de graduação em Medicina Veterinária e gerar materiais para aulas práticas, além de publicações e participações em eventos científicos. Por outro lado, proporciona aos alunos de mestrado e doutorado a possibilidade de orientar o aluno bolsista, o que é de fundamental importância para sua futura carreira acadêmica.

Aderência às áreas de Tecnologias Prioritárias do MCTI

Este projeto possui aderência às áreas prioritárias do MCTI uma vez que busca aumento da produtividade e maior eficiência dos sistemas produtivos da cadeia de produção de carne. Nesse sentido se enquadra como uma área de Tecnologias de Produção contempla a área de Agronegócio.

Geração de Resíduos

Os resíduos gerados serão os materiais biológicos (ovários) que serão descartados em locais específicos para coleta e descarte (Campus Uruguiana).

Referências

ALVAREZ, J. G.; STOREY, B. T. Evidence that membrane stress contributes more than lipid peroxidation to sublethal cryodamage in cryopreserved human sperm: glycerol and other polyols as sole cryoprotectant. *J Androl*, v. 14, n. 3, p. 199-209, 1993. CBRA. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3ª ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013. CESARI, A., KAISER, G.G., MUCCI, N., MUTTO, A., VINCENTI, A., FORNÉS, M.W., ALBERIO, R.H. Integrated morphophysiological assessment of two methods for sperm selection in bovine embryo production in vitro. *Theriogenology*, v. 66, p. 1185-1193, 2006. DIAZA, A. M. G.; Bustos, J. E. A.; Ulloa, S. M. B.; Jaramillo, L. C. Generalidades de la producción de embriones bovinos in vitro. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, v.4, pp.65-80, 2013. FUJITA H., USUI H., KURAHASHI K. y YOSHIKAWA M. Isolation and characterization of ovokinin, a bradykinin B1 agonist peptide derived from ovalbumin. *Peptides* 16:785-790, 1995. GARCÉS-RIMÓN, M., LÓPEZ-EXPÓSITO, I., LÓPEZ-FANDIÑO, R. et al. Egg white hydrolysates with in vitro biological multiactivities to control complications associated with the metabolic syndrome. *Eur Food Res Technol*, 242: 61, 2016. HENKEL, R. R., SCHILL, W. B. Sperm preparation for ART. *Reprod Biol Endocrinol*, v. 1, p. 108, 2003. GIOTTO, A. B. et al. Oxygen tension and oocyte density during in vitro maturation affect the in vitro fertilization of bovine oocytes. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 36, n. 6, p. 12, 2015. GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal. Varela Editora e Livraria, São Paulo, 2002. LOETCHUTINAT, C. et al. Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 2',7'-dichlorofluorescein diac-etate assay. *Radiation Physics Chemistry*, v. 72, p. 323-331, 2005. MISSIO D., FOLCHINI, N. P., LEIVAS F. G., PAVIN, C. I. M., PINTO, H. F., CIBIN, F. W. S., BRUM, D. S. Reduction in Percoll volume increases recovery rate of sex-sorted semen of bulls without affecting sperm quality and early embryonic development. *Animal Reproduction Science*, v. 192, 146- 153, 2018. MORENO-FERNÁNDEZ S., GARCÉS-RIMÓN M., GONZÁLEZ C., URANGA J. A., LÓPEZ MIRANDA V., VERA G. Y MIGUEL M. Pepsin egg White hydrolysate ameliorates metabolic síndrome in high-fat/high-dextrose fed rats. *Food & Function* 9: 78-86, 2018. O'FLAHERTY, C.; BEORLEGUI, N.; BECONI, M. T. Reactive oxygen species requirements for bovine sperm capacitation and acrosome reaction. *Theriogenology*, v. 52, n. 2, p. 289-301, 1999. PAVIN, C. I. Centrifugação com amortecimento durante a seleção espermática na produção in vitro de embriões bovinos. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Federal do Pampa, Uruguiana, 2016. RIZZETTI D., MARTÍN A., CORRALES P., FERNÁNDEZ F., SIMÕES M., PEÇANHA F., VASSALLO D., MIGUEL M. Y WIGGERS G. Egg White derived peptides prevent cardiovascular disorders induced by mercury in rats: Role of angiotensin converting enzyme (ACE) and NADPH oxidase. *Toxicology Letters* 281: 158-174, 2017. SHARMA, R. K.; AGARWAL, A. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology*, v. 48, p. 835-50, 1996. VIANA J.H.M. 2017 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals: Is it a turning point? In 2017 more in vitro-produced than in vivo-derived embryos were transferred worldwide. *Embryo Transfer Newsl*, v.36, p.8-25, 2018. VIANA, J. H. M. GONÇALVES, R. L. R. Situação atual da produção de embriões bovinos no Brasil e no mundo. *Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*, Gramado, RS, 2019.

Possui Bolsistas

Sim, já possui

Unidades e Cursos

Unidade	Curso
Campus Uruguiana	Doutorado em Ciência Animal (URDCA)
Campus Uruguiana	Doutorado em Bioquímica (URDB)
Campus Uruguiana	Medicina Veterinária (URVET)
Campus Uruguiana	Mestrado em Ciência Animal (URMCA)

Equipe Executora

Nome	E-mail	Tipo	Função	CH Semanal	Período Participação
Daniela dos Santos Brum	danielabrum@unipampa.edu.br	Docente	Coordenador	1	De 21/02/2022 a 31/05/2023
Fabio Gallas Leivas	fabioleivas@unipampa.edu.br	Docente	Co-coordenador	2	De 21/02/2022 a 31/05/2023
Francielli Weber Santos Cibir	franciellibin@unipampa.edu.br	Docente	Colaborador	1	De 21/02/2022 a 31/05/2023
Giulia Alessandra Wiggers Pecanha	giulipecanha@unipampa.edu.br	Docente	Colaborador	1	De 21/02/2022 a 31/05/2023
Janislene Mach Trentin	janislenetrentin@yahoo.com.br	Colaborador Externo	Colaborador	1	De 21/02/2022 a 31/05/2023
Marta Miguel Castro	marta.miguel@csic.es	Colaborador Externo	Colaborador	1	De 21/02/2022 a 22/05/2023
Rafaela Dalmolin Menezes	rafa_jader_25@hotmail.com	Discente	Discente - Voluntário	4	De 21/02/2022 a 31/05/2023
Rochelle Stefanny Maurante Soares	rochellesoares.aluno@unipampa.edu.br	Discente	Discente - Voluntário	2	De 21/02/2022 a 31/05/2023

Parcerias

Instituição	Descrição	Acordo de Parceria?	Convênio Firmado?	Número do Convênio
Universidad Autónoma de Madrid	A pesquisadora do Bioactivity and Food Analysis Laboratory, Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación, Nicolás Cabrera, 9, Campus Universitario de Cantoblanco irá disponibilizar o Hidrolisado de clara de ovo que será utilizado nos experimentos.	Não	Não	

Cronograma

Data Início	Data Fim	Atividade	Carga Horária	Local	Membros
16/05/2022	20/10/2025	Revisão de Literatura	60	Biotech	Rafaela Dalmolin Menezes, Rochelle Stefanny Maurante Soares
23/05/2022	18/12/2023	Aquisição de material e reagentes	40	Biotech	Daniela dos Santos Brum
23/05/2022	18/07/2022	Obtenção e avaliação do hidrolisado	240	Biotech	Giulia Alessandra Wiggers Pecanha, Marta Miguel Castro
11/07/2022	09/10/2023	Padronização das Técnicas	240	Biotech	Daniela dos Santos Brum, Francielli Weber Santos Cibir, Rafaela Dalmolin Menezes, Rochelle Stefanny Maurante Soares
19/09/2022	30/11/2022	Experimento 1	240	Biotech	Daniela dos Santos Brum, Francielli Weber Santos Cibir, Giulia Alessandra Wiggers Pecanha, Rafaela Dalmolin Menezes, Rochelle Stefanny Maurante Soares
12/12/2022	16/12/2024	Tabulação / Análise Resultados	480	Biotech	Daniela dos Santos Brum, Janislene Mach Trentin, Rafaela Dalmolin Menezes, Rochelle Stefanny Maurante Soares
01/02/2023	15/04/2026	Redação resumo/ Apresentação eventos	240	Biotech	Daniela dos Santos Brum, Fabio Gallas Leivas, Francielli Weber Santos Cibir, Giulia Alessandra Wiggers Pecanha, Janislene Mach Trentin, Marta Miguel Castro, Rafaela Dalmolin Menezes, Rochelle Stefanny Maurante Soares
01/05/2023	09/03/2026	Redação e publicação artigos de artigos científicos	620	Biotech	Daniela dos Santos Brum, Fabio Gallas Leivas, Francielli Weber Santos Cibir, Giulia Alessandra Wiggers Pecanha, Janislene Mach Trentin, Marta Miguel Castro, Rafaela Dalmolin Menezes, Rochelle Stefanny Maurante Soares
01/05/2023	09/03/2026	Redação e publicação artigos de artigos científicos	620	Biotech	Daniela dos Santos Brum, Fabio Gallas Leivas, Francielli Weber Santos Cibir, Giulia Alessandra Wiggers Pecanha, Janislene Mach Trentin, Marta Miguel Castro, Rafaela Dalmolin Menezes, Rochelle Stefanny Maurante Soares
08/04/2024	16/12/2024	Experimento 2	480	Biotech	Daniela dos Santos Brum, Francielli Weber Santos Cibir, Rafaela Dalmolin Menezes, Rochelle Stefanny Maurante Soares

Pareceres Solicitados

Parecer
Não necessita parecer

Planejamento de Despesas

Despesas de Custeio	Opção	Valor Estimado (R\$)	Fonte de Financiamento	Especificações
Auxílio a Estudantes (Bolsas)	Necessita	30.000,00	Edital Interno e Externo	PIBIC, ProIC, CNPq
Diárias	Não Necessita	0,00		
Passagens	Não Necessita	0,00		
Material de Consumo	Já Possui	8.000,00	Fomento Aprovado	AGP
Serviços de Terceiros (Pessoa Física)	Não Necessita	0,00		
Serviços de Terceiros (Pessoa Jurídica)	Não Necessita	0,00		
Outros	Não Necessita	0,00		
Total		38.000,00		

Despesas de Capital	Opção	Valor Estimado (R\$)	Fonte de Financiamento	Especificações
Equipamentos e Material Permanente	Já Possui	1.250.000,00	Edital Interno	

Total Geral de Despesas (R\$): **1.288.000,00**

Alternativas caso a fonte de financiamento não se confirme: O laboratorio possui equipe para realizar, caso não seja contemplado com as bolsas.

Alterações ref. ao projeto no SIPPEE:

