

**ANTT – Agência Nacional de Transportes Terrestres**  
**RDT – Recurso de Desenvolvimento Tecnológico**

## **RELATÓRIO FINAL**

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA BIOLUMINESCENTE SUSTENTÁVEL PARA  
APLICAÇÃO EM ELEMENTOS DE SINALIZAÇÃO DE RODOVIAS**

**CONCESSIONARIA ECOVIAS DO CERRADO S.A.**

**16/03/2022**

## SUMÁRIO

<b>1. DESCRIÇÃO DO PROJETO .....</b>	<b>03</b>
1.1 Título .....	03
1.2 Resumo .....	03
1.3 Palavras chave .....	03
1.4 Justificativa .....	03
1.5 Objetivos .....	04
1.6 Organização do trabalho .....	05
1.7 Período de execução .....	05
1.8 Cronograma de execução .....	05
1.9 Local de execução .....	06
1.10 Equipe executora .....	06
<b>2. MÉTODOS E TÉCNICAS UTILIZADAS .....</b>	<b>06</b>
<b>3. ETAPAS DE EXECUÇÃO.....</b>	<b>07</b>
3.1. Etapa 01 .....	07
3.2. Etapa 02 .....	07
3.3 Etapa 03 .....	07
3.4. Análise dos Resultados .....	08
<b>4. CONCLUSÕES, CONSIDERAÇÕES FINAIS E PRODUTOS GERADOS .....</b>	<b>18</b>
4.1 Considerações finais da Concessionária.....	19
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>20</b>
<b>6. ANEXOS .....</b>	<b>21</b>

## 1. DESCRIÇÃO DO PROJETO

### 1.1 Título

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA BIOLUMINESCENTE SUSTENTÁVEL PARA APLICAÇÃO EM ELEMENTOS DE SINALIZAÇÃO DE RODOVIAS

### 1.2 Resumo

O projeto visava desenvolver um sistema de sinalização sustentável a partir de microrganismos marinhos capazes de serem aplicados em elementos de sinalização em rodovias. O presente RELATÓRIO FINAL apresenta o *status* das atividades realizadas, nas quais mantiveram em sua totalidade o cronograma de execução previamente proposto. Como resultado final desta etapa do projeto, a cepa 66F, correspondente à espécie *Bacillus aerophilus*, foi selecionada como fluorescente e proposta para utilização no protótipo de fluorescência. Já as cepas 270, 445, 532, 632, 797, 1272, 1278, correspondentes a diferentes espécies do gênero *Pseudoalteromonas*, foram selecionadas para utilização no protótipo de produção de energia.

### 1.2 Palavras chave

Sinalização, fluorescência, bioluminescência, energia-verde.

### 1.4 Justificativa

Sabidamente a demanda no consumo de energia no mundo vem continuamente aumentando e a busca pela independência nesse setor é motivo de intensa pesquisa. O uso de formas de energias sustentáveis, chamadas de energias-verde, vem ganhando espaço no mercado dada as inúmeras vantagens frente a outras energias não-renováveis disponíveis. Neste contexto, o uso de microrganismos tem se apresentado com uma das principais alternativas para geração de luz e energia de maneira sustentável. Dentro deste cenário, surgiu a Regenera Moléculas do Mar para viabilizar o acesso à biodiversidade de fungos e bactérias – em especial marinha – de maneira legal, sustentável e sem burocracias. A empresa possui uma plataforma de Pesquisa & Desenvolvimento inédita no país: o BANCO REGENERA. Trata-se do primeiro e único banco de microrganismos de origem marinha do Brasil legalmente disponível para bioprospecção e desenvolvimento tecnológico com potencial de aplicação em diferentes setores da economia.

O BANCO REGENERA é constituído por bactérias e fungos de origem marinha, que são apontados como importantes fontes de bioluminescência, visto que os grandes relatos desse fenômeno ocorrem no mar (Herring, 1997; Zarubin et al., 2012; Tanet et al., 2019). O projeto aqui apresentado contempla uma “estratégia dupla” para estabelecer uma solução que possa ser utilizada em elementos de sinalização de rodovias, a saber:

- (i) buscar por microrganismos que produzam bioluminescência no BANCO e;
- (ii) desenvolver uma câmara de biofilme microbiano que possa produzir energia elétrica que acendam elementos luminosos.

O estabelecimento de uma nova tecnologia que seja autossustentável para uso em rodovias permitirá, além de elementos mais visíveis, uma diminuição da manutenção na sinalização de rodovias a longo prazo, diminuindo os custos e melhorando a capacidade visual, gerando assim um maior conforto e segurança aos usuários.

### 1.5 Objetivos

Desenvolver sistema sinalização sustentável a partir de microrganismos marinhos capazes de serem aplicados em elementos de sinalização em rodovias. Especificadamente:

- Rastrear no BANCO REGENERA - banco de bactérias e fungos originários da biodiversidade marinha brasileira - microrganismos capazes de produzir bioluminescência passíveis de serem utilizadas em sinalização de rodovias;
- Avaliar a produção de bioluminescência dos microrganismos rastreados em diferentes condições de trabalho;
- Desenvolver câmara de biofilme microbiano para geração de energia elétrica capaz de acender elementos luminosos a serem utilizados em rodovias;
- Estudar melhores condições para a manutenção da produção de energia na câmara de biofilme microbiano no intuito de torná-la autossustentável por longos períodos;

- Elaborar projeto de protótipo autossustentável para uso em rodovias, o qual será utilizado como base para futura construção física e testes em rodovias.

### 1.6 Organização do trabalho

Dentro dessa proposta tínhamos duas frentes de trabalho bastante inovadoras que exigem o envolvimento de uma série de técnicas e profissionais de diferentes áreas, como biotecnologia, química e física da indústria e da acadêmica. As duas frentes, visando a assertividade do projeto, são:

- Microrganismos com potencial de luminescência/fluorescência para o desenvolvimento de elementos de sinalização luminosos, sendo este sustentável;
- Geração de uma pilha biológica com uso de microrganismos marinhos para a produção de energia elétrica verde.

Nesse contexto, cada uma dessas frentes de trabalho oportunizaram um grande aprendizado acadêmico e geração de conhecimento com alto potencial de aplicabilidade.

### 1.7 Período de execução

15 de março de 2021 a 15 de março de 2022.

### 1.8 Cronograma de execução

<b>MÊS</b>	<b>PRODUTO</b>	<b>REQUISITOS DO PRODUTO</b>
04	Relatório Preliminar 01	Resultados prévios dos testes de bioluminescência e anaerobiose (cerca de 60% do BANCO REGENERA)
08	Relatório Preliminar 02	- Resultados finais dos testes de bioluminescência e anaerobiose; - Resultados dos testes de biofilme; - Resultados preliminares do teste 01 de eletroatividade.
12	Relatório Final 02 Projeto de protótipos	- Resultados finais da otimização de crescimento das bactérias bioluminescentes; - Resultados finais dos testes de eletroatividade; - 01 projeto de protótipo de elemento de sinalização bioluminescente; - 01 projeto de protótipo de câmara de produção de energia elé-

		trica.
--	--	--------

### Cronograma de entregas de relatórios.

ENTREGAS DE RELATÓRIOS												
Mês	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
<b>Entrega de relatório parcial</b>				X				X				
<b>Entrega de relatório final</b>												X

#### 1.9 Local de execução

REGENERA BIOTECNOLOGIA LTDA, com sede na cidade de Porto Alegre, Estado do Rio Grande do Sul, na Av. Bento Gonçalves - Prédio 43421 - Setor IV - Sala 117, Bairro Agronomia, CEP 91501-970 (Cx. Postal 15005).

#### 1.10 Equipe executora

COLABORADORES REGENERA MOLÉCULAS DO MAR

DR. MÁRIO LUIZ CONTE DA FROTA JÚNIOR

DR. ALEXANDRE JOSÉ MACEDO

ESP. JÉSSICA SCHERER

DRA. VANESSA OCHI AGOSTINI

TEC. MARTHA BRAUN DA ROSA

MSc. CAMILA SATURNO

DR. ÉLLEN FRANCINE RODRIGUES

GUILHERME PORTO SANTANA

MARCELO PEDRINI

## 2. MÉTODOS E TÉCNICAS UTILIZADAS

### ETAPA 01: MANUTENÇÃO E REPIQUE DO BANCO REGENERA

Descrição: Nesta etapa foi realizado o repique e a manutenção do BANCO REGENERA, de forma a possibilitar a posterior realização dos testes de bioluminescência e eletroatividade.

## ETAPA 02: BIOLUMINESCÊNCIA

Descrição: Nesta etapa, os 1300 micro-organismos do BANCO REGENERA foram avaliados quanto a possibilidade de produção de bioluminescência. Os microrganismos mais promissores para esta atividade foram testados sob diferentes condições de estresse e, os mais resistentes, foram avaliados para o aumento da produção de biomassa. Por fim, foi gerado um projeto de protótipo para construção futura.

## ETAPA 03: ELETROATIVIDADE

Descrição: Nesta etapa foi realizada a avaliação da capacidade de crescimento em condição anaeróbica dos 1300 microrganismos do BANCO REGENERA. Em seguida, os microrganismos positivos para a característica identificada anteriormente foram avaliados quanto a capacidade de formação de biofilme em superfície de interesse. Os microrganismos mais promissores foram avaliados para a geração de energia em sistema fechado.

## 3. ETAPA DE EXECUÇÃO

### 3.1. Etapa 01: Manutenção e repique do BANCO REGENERA

A Etapa 01 foi realizada na íntegra com a ativação e manutenção da viabilidade de aproximadamente 1300 microrganismos (bactérias e fungos) do BANCO REGENERA por meio de técnicas de microbiologia realizadas na Regenera Moléculas do Mar.

### 3.2. Etapa 02: Bioluminescência

Todos os 1300 microrganismos do BANCO REGENERA (100%) foram investigados quanto a produção de luminescência e fluorescência em meio marinho artificial sólido (MD). A detecção de luminescência e fluorescência foi feita em câmara escura, utilizando o *software Living Image 3.1* para a análise.

### 3.3. Etapa 03: Eletroatividade

Os 1300 microrganismos do BANCO REGENERA (100%) foram investigados quanto a formação de biofilme em grafite (substrato que será utilizado para a geração de energia) e sobrevivência em condições anaeróbicas. A avaliação da formação de biofilme foi realizada em

placas 96 poços estéreis com a presença do substrato de grafite (4 cm<sup>2</sup>), onde uma suspensão de cada microrganismo é inoculada, sendo obtidos resultados de formação de biofilme diretamente na placa e no grafite para a detecção preferência de substrato pelo microrganismo. A avaliação da sobrevivência em condições anaeróbias é realizada em ensaios de anaerobiose, onde o microrganismo foi inoculado em meio semi-sólido (Tioglicolato), sendo obtidos resultados de crescimento em relação às concentrações de oxigênio.

### 3.4. Análise dos Resultados

#### **Etapa 02: Bioluminescência/Biofluorescência**

Dos microrganismos avaliados durante o projeto, 00 (zero) apresentaram luminescência e 07 (007F, 043F, 058F, 066F, 085F, 145F, 173F) apresentaram potencial fluorescência. As células da maioria dos organismos exibem uma fluorescência intrínseca natural, comumente chamada de “autofluorescência”, devido à existência de numerosos constituintes intracelulares (Billinton & Knight 2001). Os espectros de autofluorescência celular abrangem a maior parte da faixa espectral porque diferentes fluoróforos endógenos emitem em diferentes comprimentos de onda do espectro eletromagnético. Por exemplo, flavinas, NAD e lipofuscina emitem luz verde, azul e laranja, respectivamente, quando excitados em comprimentos de onda apropriados e um aumento na autofluorescência é normalmente observado quando o organismo está sob estresse, por exemplo, em contato com antibiótico (Croce & Bottirodi 2014).

Os sete microrganismos com potencial fluorescência, mais os controles foram repicados em meio sólido (LB), mantidos em incubadora B.O.D (28°C) por 5 dias, sendo então suspensos em 20 mL de meio LB, para obter uma densidade óptica final de 600 nm ( $OD_{600nm} \leq 0,05$ ). As culturas foram incubadas aerobicamente a 28° C, em tubos Falcon de 50 mL com agitação por 24 horas, sendo a  $OD_{600nm}$  corrigida para 0,4 (Billinton et al. 2001). Os microrganismos foram então inoculados em placas 96-poços pretas sob quatro condições: (i) -NaCl 0,9% líquido, (ii) NaCl 0,9% líquido + 10 µg mL<sup>-1</sup> de Imipenem, (iii) NaCl 0,9% sólido, (iv) NaCl 0,9% sólido + 10 µg mL<sup>-1</sup> de Imipenem. A incubação foi realizada a 28° C em incubadora B.O.D. Com 1 e 3h de incubação as placas foram lidas em espectrofotômetro (Spectramax M3) sob fluorescência (Excitação: 465nm-Emissão: 583nm). Dentre os microrganismos testados, o único que apresentou fluorescência quando comparado



aos controles (somente meio e microrganismos não fluorescente foi o 66F no tratamento iv, sendo a fluorescência maior com 3h de incubação).

O microrganismo 66F foi então sequenciado (16S) e identificado como *Bacillus aerophilus*. A fim de se confirmar a capacidade de fluorescência, bem como a sua manutenção e incremento foram realizados ensaios expondo o microrganismo a diferentes variáveis. Primeiramente, o microrganismo foi repicado em diferentes meios sólidos (SB, R2A, R2AM, LB, LBM, ALG, ALGS, MM, MD, M1D, YPD, MH, FM, ACM, CEL, QTN, LEITE) e incubado sob duas condições: incubação (28° C) sem incremento de poluente e incubação (28° C) com incremento de 5% de CO<sub>2</sub>. Após quatro dias de incubação, foi observado que a presença de poluente não interferiu no crescimento do microrganismo ( $p > 0,05$ ), no entanto o tipo de meio de cultivo sim ( $p < 0,05$ ). Os meios que apresentaram o maior crescimento foram MH, SB, LB, YPD e R2A. Os principais componentes associados ao crescimento foram a presença de glicose, extrato de carne, ácido hidrolisado de caseína (Fig. 2).

Na avaliação da fluorescência dos tratamentos com maior crescimento em câmara escura, comparando ao controle não fluorescente e ao controle padrão (MD), observou-se que o meio R2A não apresentava potencial.

Para avaliar o comportamento do microrganismo em relação ao oxigênio, os repiques nos diferentes tratamentos acima citados, foram utilizados para o inóculo em semi-sólido (Tioglicolato), sendo obtidos resultados de crescimento em relação às concentrações de oxigênio após quatro dias de incubação (28° C). Desta forma, o microrganismo 66F foi classificado como microaerófilo (organismo aeróbico que cresce em meios com quantidades de oxigênio muito pequenas, inferiores àquelas encontradas no ar) (Fig. 3).

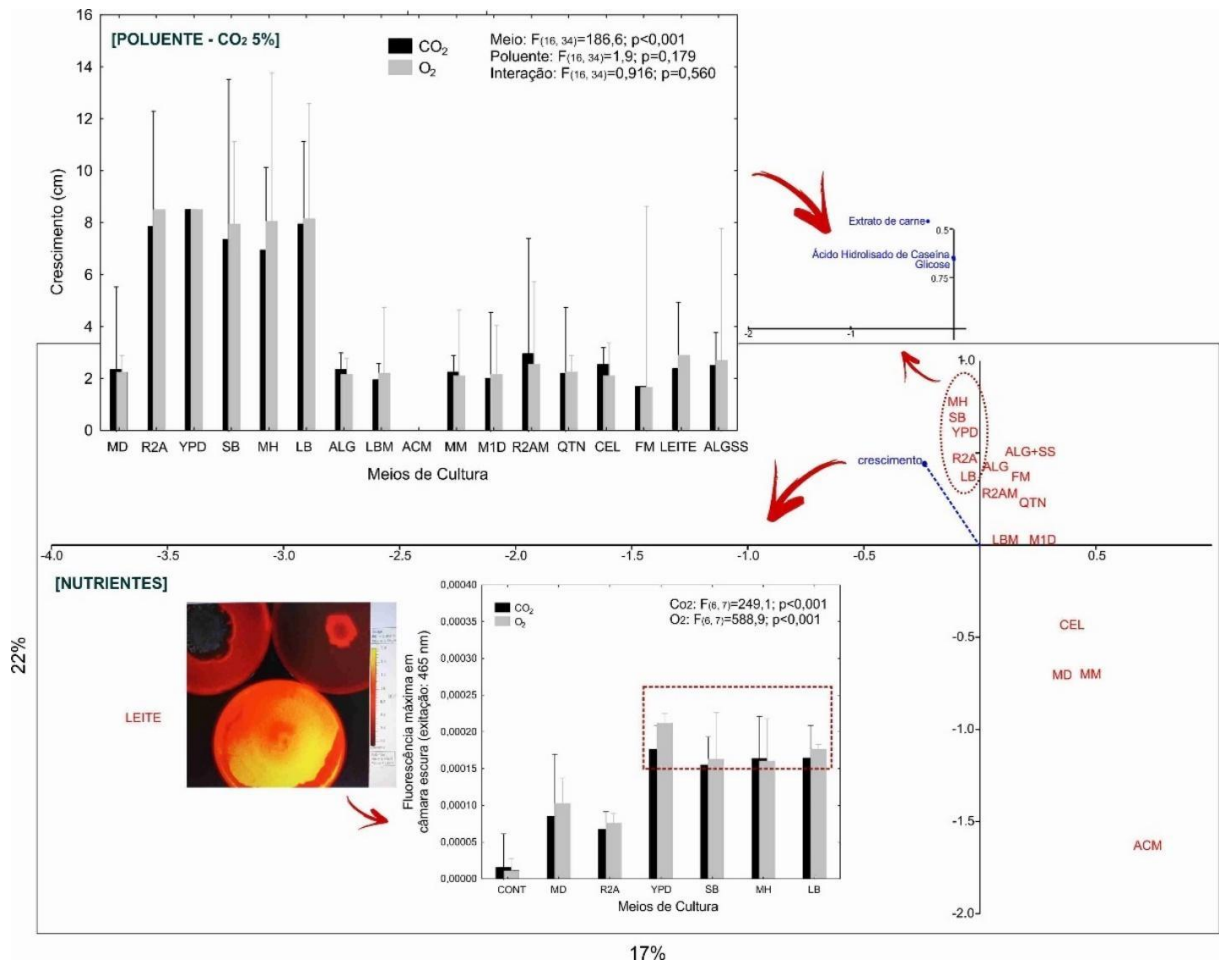


Fig. 2. Resultados obtidos nos ensaios de crescimento e fluorescência com o microrganismo 66F.

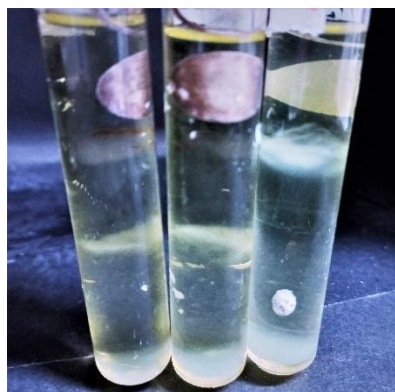


Fig. 3. Resultado obtido no ensaio de anaerobiose em meio semi-sólido (Tioglicolato) para o microrganismo 66F.

Para avaliar a influência da temperatura na fluorescência, foi realizado um ensaio em meio líquido, selecionados a partir dos ensaios anteriores (MH, SB, LB, YPD) + o meio padrão das análises preliminares de fluorescência (MD), com o microrganismo em suspensão. As suspensões foram mantidas por 24 horas sob diferentes temperaturas (10, 20 e 30° C) sem agitação. Após esse período, foi estimado o crescimento OD600nm, sendo o padrão esperado observado: maior crescimento em maiores temperaturas, independentemente da presença do poluente CO<sub>2</sub> (Fig. 4).

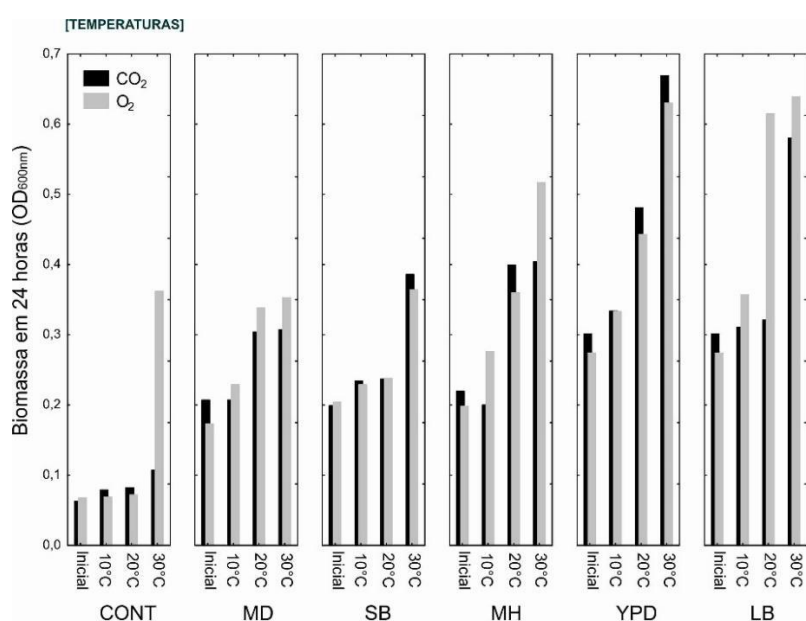


Fig. 4. Resultado de crescimento obtido no ensaio de temperatura para microrganismo 66F.

Posteriormente, as OD600nm das suspensões foram corrigidas para 0,3 e as mesmas foram inoculadas em placas 96-poços pretas com NaCl 0,9% sólido + 10 µg mL<sup>-1</sup> de Imipenem. A incubação foi realizada a 28° C em incubadora B.O.D. Com 3h de incubação as placas foram lidas em espectrofotômetro (Spectramax M3) sob diferentes comprimentos de onda (Excitação-Emissão) de fluorescência (260-315, 303-510, 335-405, 405-465, 355-451, 360-480, 340-475, 375-500, 405-665, 450-590 nm), a fim de se identificar quais os fluoróforos endógenos envolvidos (Croce & Bottirodi 2014).

Foi observado que somente no comprimento de onda 260-315 nm foi detectada a fluorescência e somente para os meios MD, SB, YPD e LB, havendo diferença entre a presença do poluente CO<sub>2</sub> (p<0,05) e entre as temperaturas avaliadas (p<0,05) (Fig. 5). De acordo com Croce & Bottirodi (2014), fluorescência dentro dos comprimentos de onda 260-

315 nm estão associados a aminoácidos aromáticos (Phe, Tyr, Trp) presentes em proteínas funcionais excitadas por UV. Dentre os meios com maior potencial de aplicação, encontra-se o YPD, o qual apresentou um incremento na fluorescência comparado aos demais tratamentos, nas três temperaturas testadas e maior quando exposto ao poluente CO<sub>2</sub> (Fig. 5).

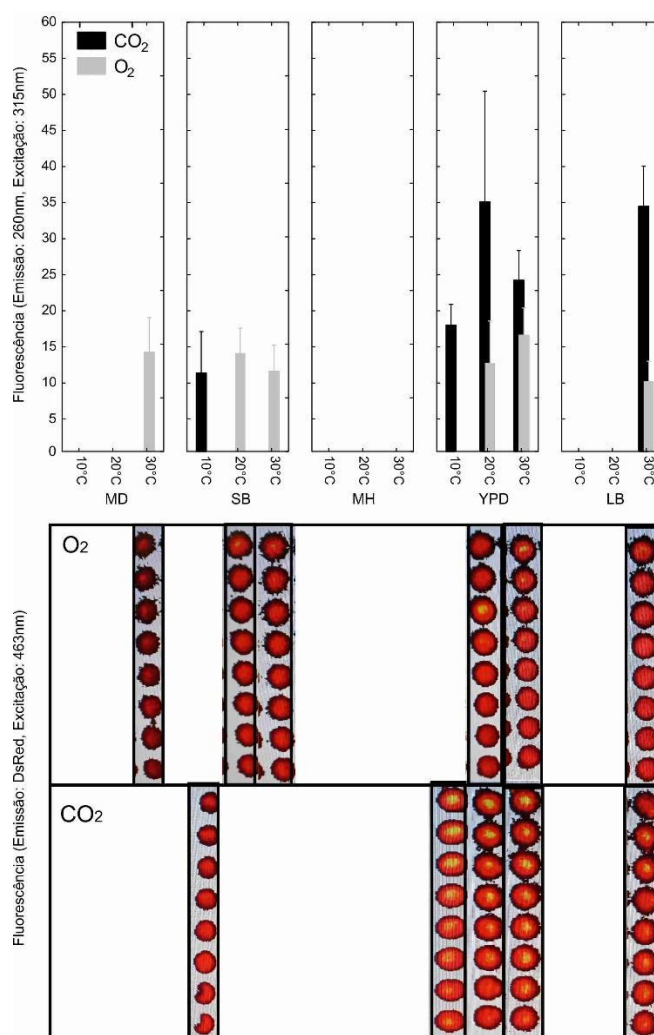


Fig. 5. Resultado de fluorescência obtido em espectrofotômetro (Excitação 560, Emissão 315 nm) e em câmara escura (Excitação: 465 nm, Emissão: DSRed) para o microrganismo 66F.

O protótipo da ETAPA 02 está baseado no projeto de sinalizador luminoso construído com bactérias fluorescentes. LEDs ultravioleta colocados na placa eletrônica central ativam a fluorescência amarela em bactérias colocadas nas duas camadas de meio semitransparente (Figura 6).

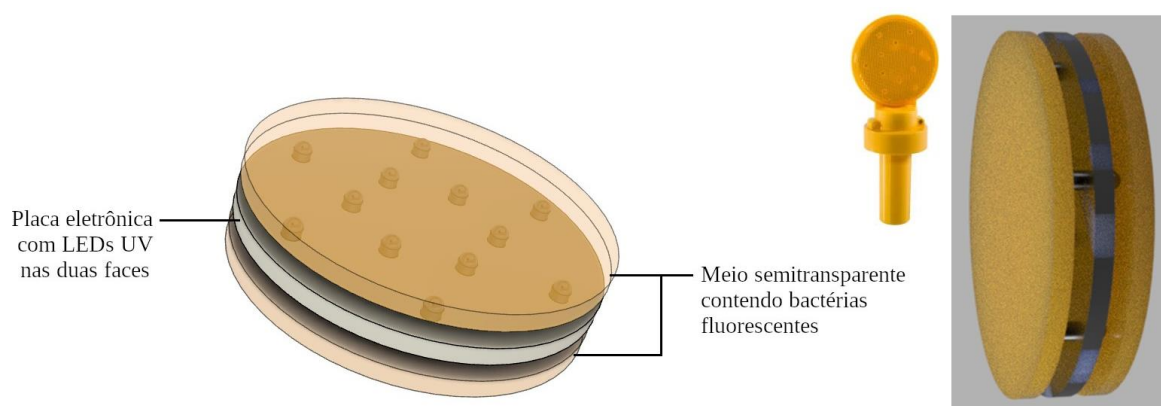


Fig. 6. Projeto de protótipo de sinalizador luminoso construído com bactérias fluorescentes.

### Etapa 03: Eletroatividade

Na ETAPA 03 estava prevista a otimização das células de produção de energia e a atualização do dispositivo de captação de energia, bem como o desenvolvimento de um protótipo.

Todos os 1300 microrganismos do BANCO REGENERA (100%) foram investigados quanto a formação de biofilme em grafite (substrato que será utilizado para a geração de energia) e sobrevivência em condições anaeróbias. A avaliação da formação de biofilme foi realizada em placas 96 poços estéreis com a presença do substrato de grafite (4 cm<sup>2</sup>), onde uma suspensão de cada microrganismo é inoculada, sendo obtidos resultados de formação de biofilme diretamente na placa e no grafite para a detecção de preferência de substrato pelo microrganismo. A avaliação da sobrevivência em condições anaeróbias é realizada em ensaios de anaerobiose, onde o microrganismo é inoculado em meio semi-sólido (Tioglicolato), sendo obtidos resultados de crescimento em relação às concentrações de oxigênio. Dos microrganismos avaliados, 21 apresentaram forte formação de biofilme em grafite e capacidade de sobrevivência em condições anaeróbias (0077, 0091, 0270, 0299, 0332, 0445, 0479, 0532, 0632, 0797, 0835, 0858, 0864, 0866, 0873, 1087, 1171, 1177, 1272, 1276, 1278). A Tabela abaixo apresenta a identificação dos microrganismos após o sequenciamento (16S).

Em relação aos resultados obtidos, após 30 dias de acompanhamento foi observada a produção de energia nos tratamentos T2 = *Pseudoalteromonas* spp. (MD líquido), com valor máximo de produção de 42 mV (1,22 μW). Este tratamento é composto pela combinação das cepas 270, 445, 532, 632, 797, 1272, 1278. Ressalta-se que as células de incubação da versão original são pequenas, com uma única célula onde encontram-se o anodo e o catodo

de volume interno de 28 mL e área de 7 cm<sup>2</sup> (Figura 7). Para tal, necessitamos de informações como potência emitida, radiação da amostra e ângulo, além de um sensor específico. As novas versões de células testadas, com volume, material e estrutura diferentes não resultaram em otimização na produção de energia. Estas versões são compostas por duas células separadas (uma para o anodo e uma para o catodo) conectadas por ponte salina ou nafion com no mínimo 250 mL de volume, sendo NaCl 10% utilizada como meio no catodo com aeração contantes e MD no anodo, sem aeração (Figura 8). A maior produção obtida foi 200 mV (5,8 μW).

<b>Código da Cepa</b>	<b>Espécie (16S)</b>
0077	<i>Brevibacterium casei</i>
0091	<i>Bacillus piscis</i>
0270	<i>Pseudoalteromonas issachenkonii</i>
0299	<i>Staphylococcus warneri</i>
0332	<i>Bacillus pumilus</i>
0445	<i>Pseudoalteromonas donghaensis</i>
0479	<i>Bacillus aerophilus</i>
0532	<i>Pseudoalteromonas lipolytica</i>
0632	<i>Pseudoalteromonas issachenkonii</i>
0797	<i>Pseudoalteromonas issachenkonii</i>
0835	<i>Bacillus aerophilus</i>
0858	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
0864	<i>Pseudoalteromonas donghaensis</i>
0866	<i>Bacillus stratosphericus</i>
0873	<i>Pseudoalteromonas donghaensis</i>
1087	<i>Bacillus stratosphericus</i>
1171	<i>Bacillus siamensis</i>
1177	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
1272	<i>Pseudoalteromonas issachenkonii</i>
1276	<i>Pseudoalteromonas issachenkonii</i>
1278	<i>Pseudoalteromonas donghaensis</i>



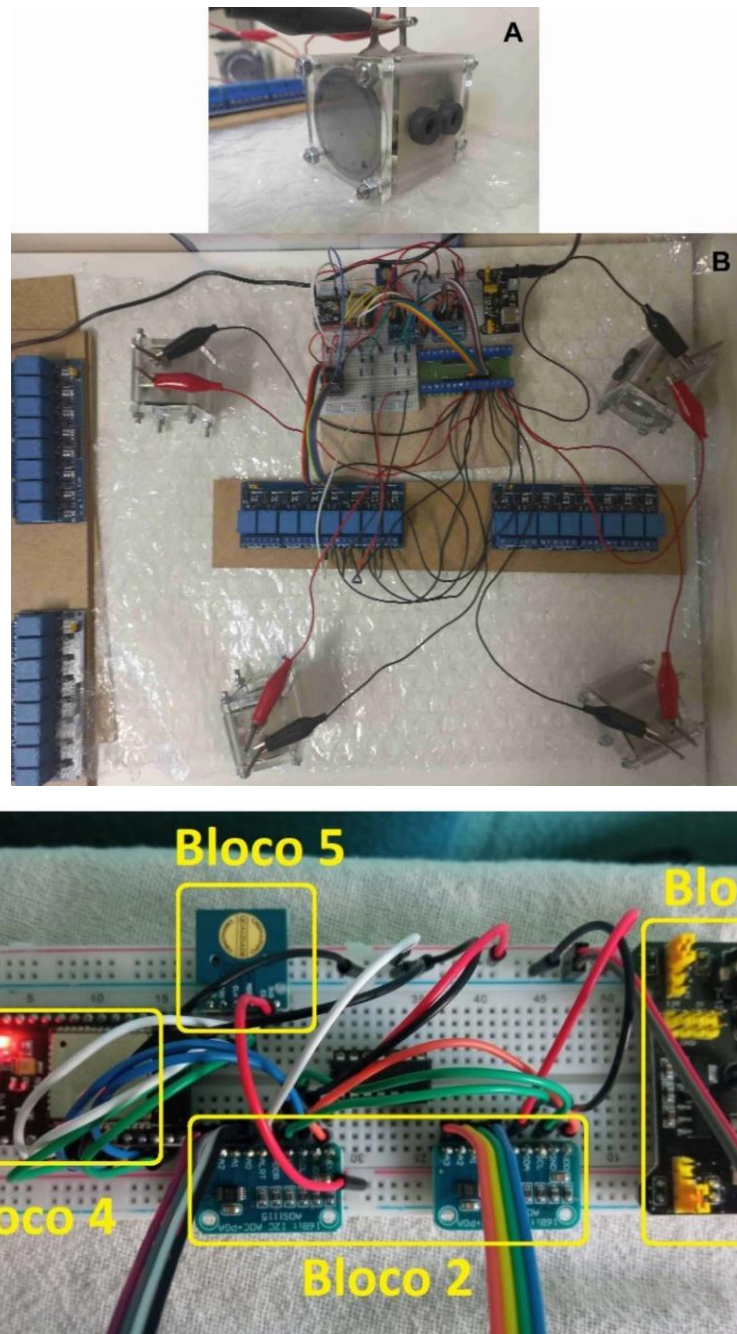


Fig. 7. Sistema original de captação de energia produzida por microrganismos. A: célula de incubação, B: dispositivo de captação de energia completo, o qual envia as informações para uma plataforma digital (ThingSpeak™). C: Bloco 2 = Conversores analógico-digital (pontos de ligação das células a combustível), Bloco 4 = Microcontrolador (contém o software que possibilita o envio de dados para a internet e faz as leituras automaticamente a cada 30 min), Bloco 5 = Cartão SD para a gravação dos dados, Bloco 8 = Alimentação do circuito.



Fig. 8. Sistema alternativo de captação de energia produzida por microrganismos.

O protótipo da ETAPA 03 está baseado em um projeto do sistema testado e atualizado (Figura 9) em balizador tipo T com sinalizador luminoso alimentado por células a combustível microbianas (CCMs). As CCMs são colocadas no corpo do balizador, apresentado semitransparente na Figura 10.

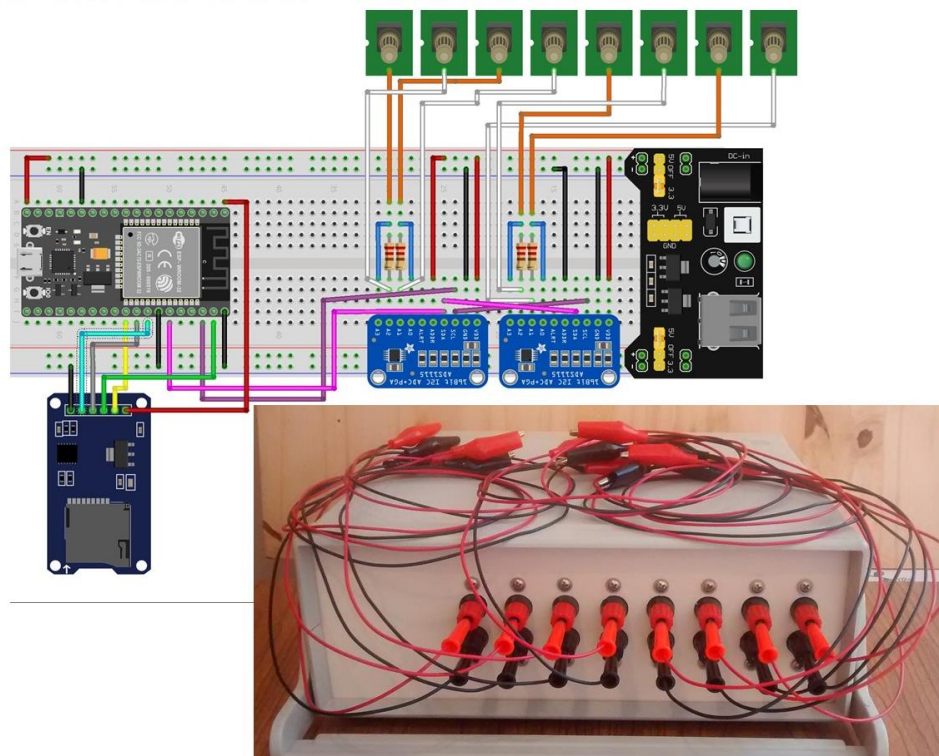


Fig. 9. Sistema de captação de energia atualizado.





Fig. 10. Projeto de protótipo de balizador tipo T com sinalizador luminoso alimentado por CCMs.

Em anexo encontram-se os protótipos com os esquemas de conexão das placas eletrônicas. Para o seu funcionamento, é preciso gravar um software tanto no protótipo quanto no produto final. O programa está disponível em: <https://git.cta.if.ufrgs.br/mfc/mfc-meta/-/tree/master/ProgDATA/Projeto/C%C3%B3digo%20-%208%20entradas>.

Foi realizado um estudo de viabilidade de patente e observamos o registro de patentes de modelos de células microbianas (CCMs), incluindo um modelo similar ao testado no atual projeto. O modelo consiste em uma CCM no compartimento de ânodo e um compartimento de cátodo. No entanto, diferente do sistema desenvolvido no atual projeto, a patente inclui a separação dos compartimentos por uma membrana (US8415037B2). Um modelo de duas células também foi patenteado (US20090324996A1). Também foram patenteados componentes particulares que melhoram a vida útil, desempenho e produção do componente de cátodo a custo reduzido (WO-2014144705-A3). Não foram encontradas patentes sobre métodos, processos ou produtos com base em uso de microrganismos em equipamentos de sinalização, seja utilizando modelos de CCMs ou uso de bactérias fluorescentes. A busca realizada demonstra o potencial patentário dos protótipos desenvolvidos, no entanto é necessária a continuidade da pesquisa na área para o desenvolvimento e para o teste dos protótipos propostos, projeto que já foi submetido para avaliação, permitindo assim um registro de patente.

#### 4. CONCLUSÕES, CONSIDERAÇÕES FINAIS E PRODUTOS GERADOS

Durante o período de vigência do presente relatório não ocorreram atividades de capacitação, participação em seminários, congressos e visitas técnicas. A presente proposta também não conta com alunos bolsistas de mestrado ou doutorado e ainda não foram publicados dados oriundos da pesquisa.

Abaixo estão discriminados os equipamentos/software de valores relevantes que foram adquiridos com os recursos da RDT durante toda a vigência do projeto.

<b>Equipamento</b>	<b>Quantidade</b>	<b>Valor</b>
Ultrafreezer (-80° C)	1	R\$ 50.000,00
Capela de fluxo laminar	1	R\$ 40.000,00
Estufa B.O.D	1	R\$ 4.782,49
Freezer -20° C	1	R\$ 4.280,00
Computador genômica	1	R\$ 9.999,80
Notebook	1	R\$ 5.102,74
Câmara de Energia	1	R\$ 30.000,00
Banho-Maria 5L	1	R\$ 4.800,00
Chapa aquecedora e agitadora	1	R\$ 2.700,00
Vortex	1	R\$ 1.425,00
Ultrasom	1	R\$ 1.861,00
Balança 10Kg	1	R\$ 4.998,00
Termômetros	1	R\$ 468,00
Geladeira	1	R\$ 3.099,00

Os resultados aqui obtidos reforçam o potencial dos microrganismos do BANCO REGENERA para o desenvolvimento de um sistema sinalização sustentável em rodovias. Para otimizar a produção observada, visando a sua aplicação em rodovias, é necessário que o projeto Bioluminescência FASE 02 seja aprovado.

Em relação aos produtos gerados, destacam-se:

- Célula combustível com aquisição de dados de produção de energia para escala experimental que será utilizada para as análises internas de produção de energia microbiana;

- Projeto de protótipo digital de um elemento de sinalização de rodovias autossustentável com microrganismos fluorescentes para construção e testes futuros em rodovias;
- Projeto de protótipo digital de célula de produção de energia elétrica autossustentáveis para construção e testes futuros em rodovias;
- Estudo de viabilidade de patente dos produtos desenvolvidos.

#### 4.1 Considerações finais da Concessionária

A Concessionária avalia que de maneira geral, o projeto foi desenvolvido com excelência conforme os objetivos estabelecidos, sendo os resultados alcançados em nível de pesquisa básica (etapa crucial devido a complexidade do tema) muito relevantes para o desdobramento necessário, para tornar possível a utilização do potencial dos microrganismos marinhos.

De imediato, é possível aferir não só a potencialidade destes microrganismos para bioluminescência, mas também para outras aplicações de forma contribuir com o desenvolvimento de elementos de infraestrutura rodoviária de forma cada vez mais sustentáveis, alinhado aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização Mundial da Nações Unidas – ONU, que se caracteriza por um esforço global para acabar com a pobreza, proteger o meio ambiente e o clima e garantir que as pessoas, em todos os lugares, possam desfrutar de paz e de prosperidade. Estes são os objetivos para os quais as Nações Unidas estão contribuindo a fim de que o Brasil possa atingir a Agenda em 2030 (ONU BRASIL, 2022). Dessa maneira, podemos observar que os benefícios desta modalidade de pesquisa para desenvolvimento de recursos tecnológicos sustentáveis, resultarão no futuro em benefícios não só aos usuários da rodovias, mas para toda a comunidade do entorno.

Já em relação aos efeitos práticos esperados da pesquisa ora finalizada, são de que os microrganismos marinhos prospectados nesta fase, além dos protótipos desenvolvidos, tenham seu potencial descoberto trazidos para o dia-a-dia da infraestrutura rodoviária Brasileira, com produtos inovadores e sustentáveis, que culminam com condições cada vez mais seguras de trafegabilidade nas rodovias, com o menor impacto ambiental.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BILLINTON N, KNIGHT AW. BIOCHEM. 2001. Handbook of Biological Confocal Microscopy. 291:175– 197.
- CROCE AC, BOTTIROLI G. 2014. Autofluorescence spectroscopy and imaging: a tool for biomedical research and diagnosis. Eur J Histochem. 58(4):2461.
- HERRING, Peter J. 1977. Bioluminescence of marine organisms. Nature, [s.l.], v. 267, n. 5614, p.788-793, jun. Springer Science and Business Media LLC.
- ZARUBIN, M. et al. 2011. Bacterial bioluminescence as a lure for marine zooplankton and fish. Proceedings Of The National Academy Of Sciences, [s.l.], v. 109, n. 3, p.853-857, 27 dez. Proceedings of the National Academy of Sciences.
- TANET L., et al. 2019. Bacterial Bioluminescence: Light Emission in Photobacterium phosphoreum Is Not Under Quorum-Sensing Control. Frontiers in Microbiology. [s.l.], v. 10, n. 8, p.365-345, mar. Frontiers in Microbiology.
- ONU BRASIL, 2022. Objetivos de Desenvolvimento Sustentável. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em 15 de julho de 2022.

Porto Alegre/RS, 16 de março de 2022.

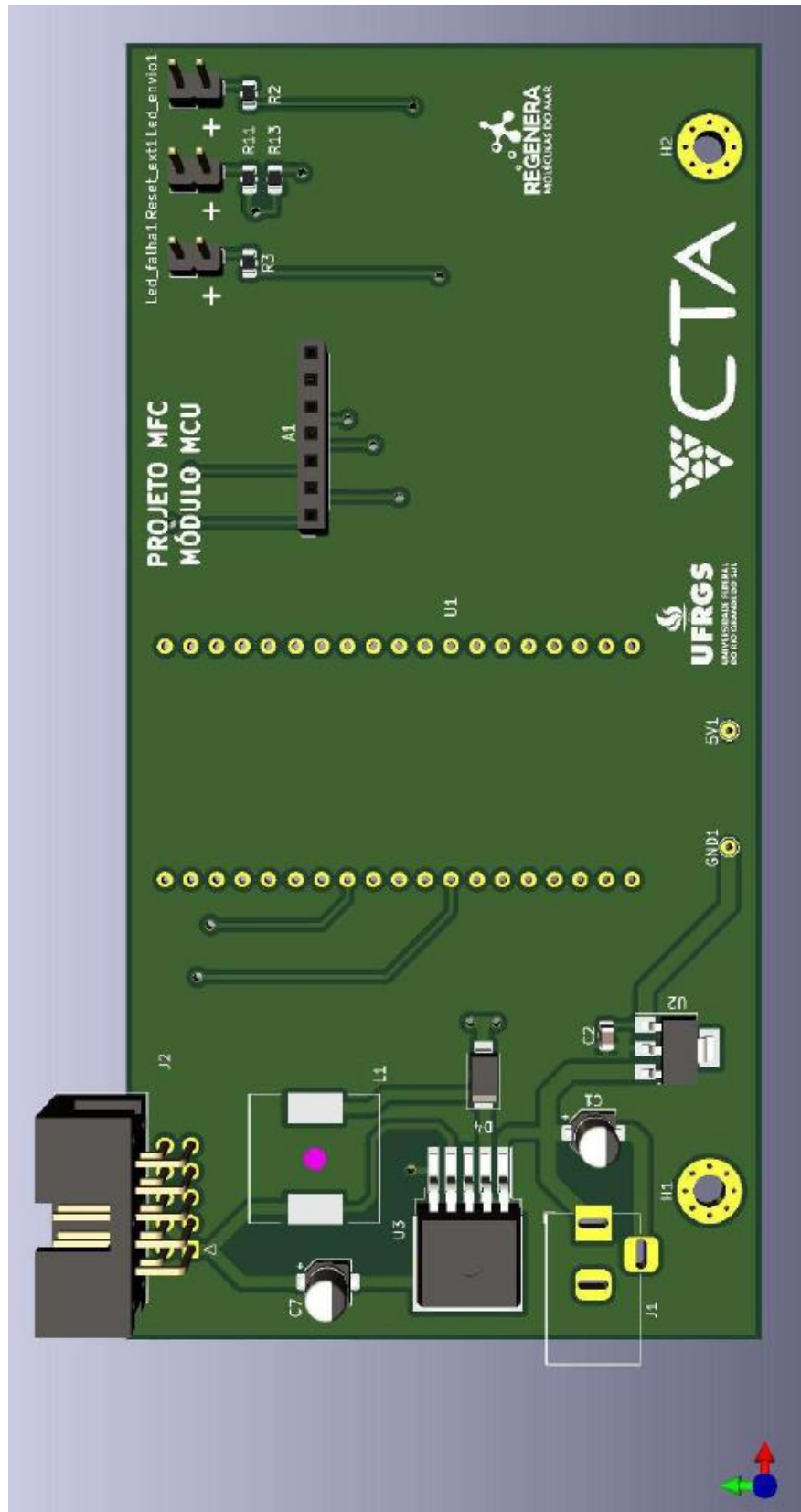
---

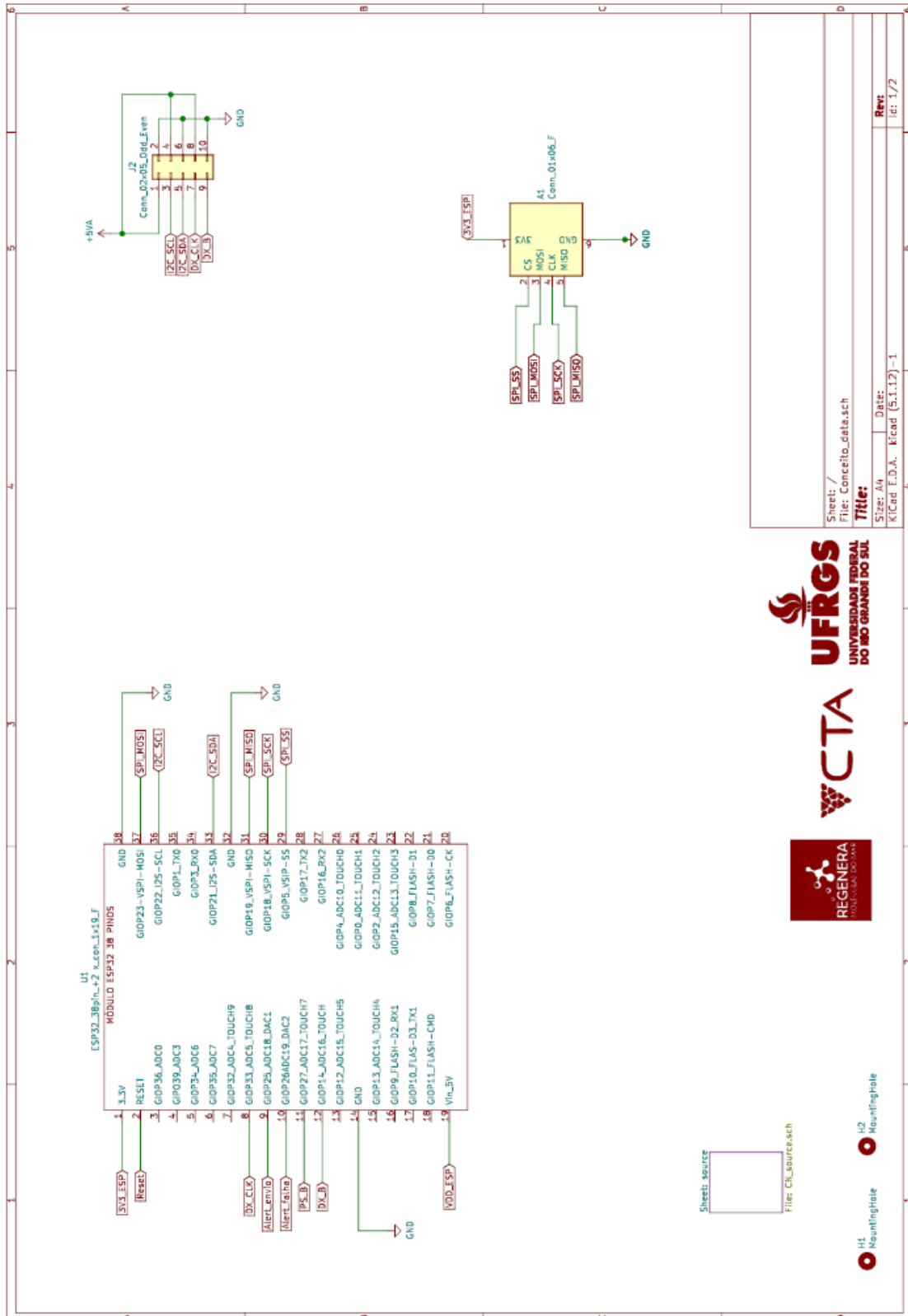
CONCESSIONÁRIA ECOVIAS DO CERRADO S.A

---

REGENERA BIOTECNOLOGIA LTDA

## 6. ANEXOS – Protótipos das placas eletrônicas





Sheet: /  
File: Conceito\_deta.sch  
**Title:**  
Size: A4 Date:  
Kicad E.D.A. Kicad (5.1.12)-1 Rev:  
Id: 1/2

