RELATÓRIO ANUAL 2018

Parte II

CNPEM
Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais

Este relatório foi aprovado pelo Conselho de Administração
em Reunião Ordinária realizada em
22/02/2019

RELATÓRIO ANUAL 2018

Parte II

1. LABORATÓRIO NACIONAL DE LUZ SÍNCROTRON 2
1.1 O LNLS em 2018 2
1.2 Instalações Abertas a Usuários Externos 5
1.3 Pesquisa e Desenvolvimento *in-house* 15
1.4 Apoio à geração de inovação 19
1.5 Treinamento, Educação e Extensão 25
1.6 Infraestrutura, Operação e Melhorias técnicas 27
1.7 Projeto Sirius 29
2. LABORATÓRIO NACIONAL DE BIOCIÊNCIAS 93
2.1 O LNBIO em 2018 93
2.2 Instalações Abertas a Usuários Externos 98
2.3 Pesquisa e Desenvolvimento *in-house* 101
2.4 Apoio à geração de inovação 128
2.5 Treinamento, Educação e Extensão 131
2.6 Infraestrutura, Operação e Melhorias Técnicas 135
3. LABORATÓRIO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO BIOETANOL 143
3.1 O CTBE em 2018 143
3.2 Instalações Abertas a Usuários Externos 146
3.3 Pesquisa e Desenvolvimento *in-house* 149
3.4 Apoio à geração de inovação 175
3.5 Treinamento, Educação e Extensão 181
3.6 Infraestrutura, Operação e Melhorias Técnicas 190
4. LABORATÓRIO NACIONAL DE NANOTECNOLOGIA 195
4.1 O LNNANO em 2018 195
4.2 Instalações Abertas a Usuários Externos 198
4.3 Pesquisa e Desenvolvimento in-house 200
4.4. Apoio à geração de inovação 251
4.5 Treinamento, Educação e Extensão 259
4.6 Infraestrutura, Operação e Melhorias Técnicas 266

1. LABORATÓRIO NACIONAL DE LUZ SÍNCROTRON

1.1 O LNLS em 2018

No ano de 2018, o LNLS atendeu a 566 propostas de usuários externos, fornecendo cerca de 45.717 horas para experimentos da comunidade científica nacional e internacional, distribuídas ao longo de 1.945 turnos de 23,5 horas. A fonte de luz síncrotron operou, mais uma vez, dentro do alto padrão de confiabilidade (98,4%).

Os destaques da produção científica dos usuários do LNLS, que serão descritos adiante neste capítulo, evidenciam a vocação do CNPEM em dar suporte ao desenvolvimento de pesquisas na área estratégica de energia e materiais.

Com relação à nova fonte de luz sincrotron Sirius, o ano de 2018 foi crítico para projeto devido à finalização das obras civis e início da montagem dos aceleradores e linhas de luz. O Linac começou a ser montado em março, foi instalado e comissionado, com o primeiro feixe sendo detectado em 8 de maio. Em junho teve início a instalação de componentes do *Booster*, Anel de Armazenamento e da linha de transporte Linac-*Booster*, em um processo que culminou com o primeiro feixe na entrada do *Booster* no dia 11 de novembro. A montagem do Anel de Armazenamento foi a que sofreu o maior atraso, atingindo cerca de 70% de sua instalação, e a primeira volta de elétrons ficou para o início do segundo trimestre de 2019.

Com relação às linhas de luz, o ano de 2018 foi marcado pelo comissionamento de diversos protótipos de componentes de linhas de luz e o início da instalação dos primeiros componentes de infraestrutura e *front-ends* das 6 linhas de luz no Sirius que compõem sua primeira fase. As cabanas ótica e experimental e a sala de controle linha MANACÁ estão em fase final de instalação e a cabana ótica das linhas CATERETÊ e CARNAÚBA estão sendo instaladas. As demais cabanas das 6 primeiras linhas estão em fase de construção para instalação, com previsão de entrega da infraestrutura de cabanas das 6 primeiras linhas completas para o primeiro semestre de 2019, a partir de maio, com uma por mês.

Por fim, é importante ressaltar que o Sirius é um projeto estruturante para o Brasil, com enorme impacto na formação de recursos humanos, no desenvolvimento de CT&I, na inovação e na inserção internacional da ciência brasileira. No âmbito dos recursos humanos, o projeto tem formado profissionais capacitados para projetar, construir e operar um equipamento científico de grande porte e enorme complexidade. Sem contar o envolvimento de pesquisadores brasileiros, de universidades, empresas e centros de pesquisa, no aprendizado e utilização das técnicas experimentais que estarão disponíveis no Sirius. No campo da inovação, o Sirius tem construído diversas parcerias com empresas brasileiras para desenvolver componentes complexos e colaborar para a resolução de desafios envolvidos no projeto. E, no âmbito internacional, o Sirius deverá atrair pesquisadores de todo o mundo, colaborando de forma decisiva para que o Brasil

se torne um polo de atração de cérebros e para que a ciência brasileira alcance um novo patamar.

Yves Pierre Petroff

Diretor do LNLS

Instalações abertas a Usuários Externos

Instalações	Propostas	Beneficiários	Horas
MX2	63	175	2.358
PGM	35	154	3.404
TGM	8	68	2.047
SXS	37	162	3.266
SAXS1	97	371	3.358
XDS	38	154	3.404
XPD	40	186	3.841
XRD1	21	95	1.832
XRD2	36	139	3.404
XTMS	14	56	2.166
XAFS2	55	218	3.712
XRF	37	139	3.933
IMX	31	109	2.760
IR1	28	72	3.059
DXAS	26	110	3.223
Totais sem duplicatas	566	1.680	45.717

ABRANGÊNCIA DOS BENEFICIÁRIOS

Brasileiros | 83,5% (72,3% Sudeste)
Estrangeiros | 16,5%

ARTIGOS EXTERNOS

212 artigos que fizeram referência ao uso das instalações do LNLS em 2018

Apoio à geração de inovação nos setores AIS

Horas totais dedicadas ao apoio à geração de inovação	0
Acordos vigentes com empresas dos setores AIS	2
Propriedade intelectual	1

P&D in house

Horas totais dedicadas a Pesquisa e Desenvolvimento internos	11.044
Número de artigos publicados por pesquisadores internos	83
Mediana do Fator de Impacto das Revistas	3,474
Percentual de artigos classificados em Quartis Q1 e Q2	87%
Pós-doutores supervisonados	18
Novos auxílios contratados em 2018	3
Acordos vigentes com Instituições de P&D	5

Treinamento, Educação e Extensão

Eventos de Capacitação	2ª Escola Brasileira de Síncrotron (EBS)
	Sirius Beam Position Monitor Workshop
Eventos Científicos	Caterete Workshop - 2nd User Workshop on Coherent X-ray Imaging and Small Angle X-ray Scattering
	1st Sirius Scientific Computing Workshop – S²C
	28th Annual Users' Meeting (RAU)
Bolsistas	
Doutorado	19
Mestrado	17
Iniciação científica	24
PCI	2
Outras Modalidades	8

1.2 Instalações Abertas a Usuários Externos

Em 2018, o LNLS manteve aberta para usuários externos 14 linhas de luz na fonte de luz síncrotron UVX, sendo 13 delas abertas de forma regular (SAXS1, MX2, XRD1, XRD2, XPD, XDS, XAFS2, DXAS, SXS, XRF, PGM, IR, IMX), além da linha TGM, que opera meio ano para execução de propostas de longo prazo, e da estação experimental XTMS, que opera acoplada na linha XRD1. A maioria dessas linhas de luz (11) é baseada em dipolos de 1,67 T e fornece características de brilho semelhantes. As outras 3 linhas de luz baseadas em dispositivos de inserção são: 1 baseada em um EPU50 (PGM), 1 baseada em um *wiggler* híbrido 2T (MX2) e um baseado em um *wiggler* SC 4T (XDS). O anel de armazenamento funciona de segunda-feira (ou terça-feira) a sábado, levando a uma média de 3750 horas por ano, ou cerca de 170 dias por ano, 70-75% dos quais são oferecidos à comunidade de usuários por meio de chamadas bianuais, com avaliação feita por comitês de especialistas da própria comunidade de usuários. Aproximadamente 20% do tempo de linhas é usado para pesquisa e desenvolvimento interno. Parte do tempo do feixe (2%) é utilizada também para capacitação e para alguns estudos de pesquisa de empresas.

As instalações abertas do LNLS beneficiam milhares de cientistas no Brasil e no exterior anualmente. Em 2018, foram 1.680 beneficiários, dos quais 1.403 brasileiros de diversos estados do país – sendo mais da metade deles com origem fora do estado de São Paulo – e 278 de outros países – cerca de metade deles oriundos da Argentina. Destaca-se que o programa de usuários do LNLS oferece apoio financeiro referente as despesas de viagem e hospedagem para pesquisadores brasileiros e latino-americanos, e a política vigente deste programa limita o auxílio financeiro para até dois pesquisadores por proposta. Ressalta-se ainda que a Argentina tem contribuído financeiramente para este programa nos últimos anos.

Ao longo dos últimos quatro anos de operação, o número de propostas, a ocupação média e o número de usuários beneficiados pelas instalações abertas do LNLS aumentaram. Por sua vez, a taxa média de sucesso (taxa de aprovação de propostas pelo comitê científico) de aplicação às linhas UVX reflete o equilíbrio entre demanda e oferta de acesso a tempo de feixe e foi de aproximadamente 60% em 2018, o que é semelhante à média mundial em outros países. Destaca-se que mesmo com a redução do número de linhas de luz ocorrida no período, o tempo de feixe foi usado de forma mais eficiente, visto pela taxa de ocupação, que passou de 52% em 2015, para 87% em 2018. Este resultado se deve às melhorias de instrumentações das linhas de luz e, principalmente, ao aumento do número de cientistas e especialistas para interagir com os usuários e preparar experimentos. Além disso, a maior parte do uso interno foi dedicada ao comissionamento de instrumentos para as linhas de luz Sirius, cujos desenvolvimentos refletiram diretamente no desempenho da linha de luz.

Para tirar o melhor proveito dos instrumentos de linha de luz UVX, está prevista a transferência de 5 linhas de luz da fonte atual para o Sirius com base na demanda e competitividade de destes instrumentos. Com esta transferência, além das técnicas

avançadas de síncrotron que estarão disponíveis em breve nas linhas de luz Sirius Fase 1A, o Sirius também oferecerá praticamente todos os programas experimentais disponíveis atualmente na fonte de luz UVX – como espalhamento de raios-x, espectroscopia de absorção de raios X e raios X moles. O processo de transferência e a renovação dessas linhas de luz conta contará com financiamento da PETROBRAS (em fase final de julgamento). Este financiamento também permitirá a construção de novos laboratórios de suporte e uma infraestrutura de computação de alto desempenho. Uma breve descrição das linhas de luz que serão transferidas é apresentada abaixo:

- A linha de luz XARU, dedicada à espectroscopia de absorção de raios X duros, será baseada no monocromador HD-DCM desenvolvido para Sirius, ópticas parcialmente de XDS e nas estações experimentais de instrumentação da linha de luz XAFS1 e XAFS2.
- A linha de luz COLIBRI será formada pela ótica da PGM (com resfriamento readaptado à potência de Sirius) e suas estações experimentais.
- A linha de luz HARPIA será formada por um monocromador HD-DCM e a primeira uma estação experimental de XRD1.
- A linha de luz HERA será formada por um monocromador do tipo Laue de alta energia e uma estação experimental do XTMS
- Linha SAGUI, usará parte da ótica do XDS e algumas das estações experimentais SAXS1 e SAXS2 e o difratômetro de 6 círculos de XRD2.

As estações experimentais nano-FTIR e micro-FTIR – hoje, disponíveis na linha IR1 do UVX, e que no futuro estará disponível na linha IMBUIA do Sirius – foram parcialmente financiadas pelo projeto MCTIC/Sirius e instaladas no UVX para preparação da comunidade para estas técnicas de imagem. O processo de transferência e atualização destas estações também será co-financiado pelo mesmo projeto da PETROBRAS.

De acordo com o cronograma de transição (Figura 1), no segundo semestre de 2019, a operação do usuário UVX será completamente interrompida na maioria das linhas de luz para transferir os componentes do UVX para Sirius. Durante o primeiro semestre de 2019, as linhas de luz receberão apenas experimentos que visem completar propostas anteriores, já aprovadas e iniciadas no UVX. A partir de 1 de agosto de 2019, o UVX deixará de operar para usuários para que a transferência de recursos humanos e de equipamentos possa ser feita para o Sirius. Eventualmente, alguns períodos de feixe em 2019 serão utilizados para calibração de instrumentos. Se o financiamento junto a Petrobras tramitar conforme planejado, a renovação e transferência das 5 linhas de luz do UVX para o Sirius ocorrerá no início de 2020. Seguindo o atual cronograma de instalação das linhas de luz da fase 1A, prevê-se que os primeiros usuários sejam convidados para experimentos de comissionamento até o início de 2020. Há expectativa

de operação nos mesmos níveis atuais a partir de 2021, quando haverá número suficiente de linhas de luz operando no programa de usuários (Figura 1).

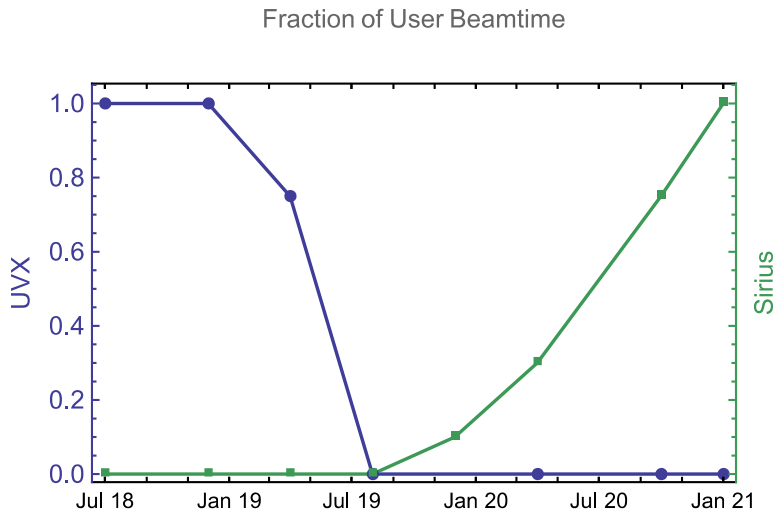


Figura 1. Evolução aproximada do tempo do usuário esperado para a transição entre UVX e Sirius

1.2.1 Destaques científicos do programa de usuários

Nos últimos 5 anos, o número de publicações de usuários se manteve próximo a 200 artigos por ano, ao passo que o número de publicações internas quase dobrou desde 2014, passando de 44 para 83 artigos. No total, o número de trabalhos publicados com as linhas do LNLS chegou a cerca de 300 artigos.

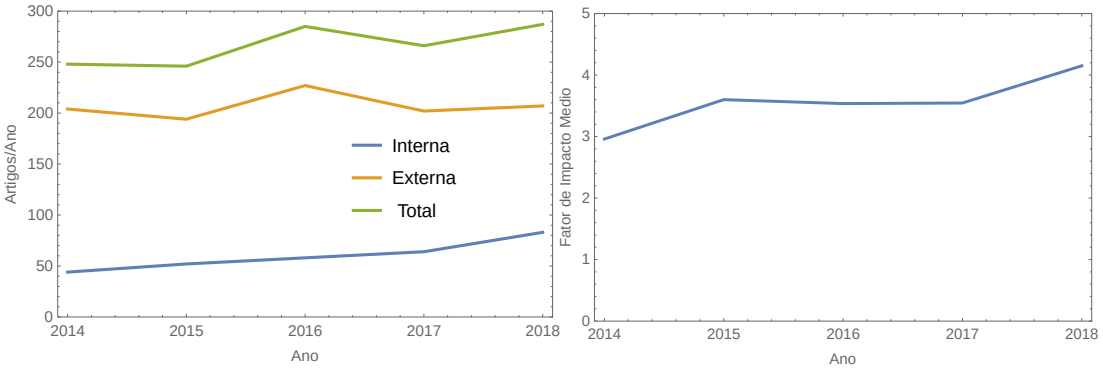


Figura 2. Número e fator de impacto médio das publicações do programa do usuário ao longo dos últimos 5 anos

A Figura 2 mostra o número de trabalhos publicados no período de 2014 a 2018 e a evolução do fator de impacto médio no mesmo período.

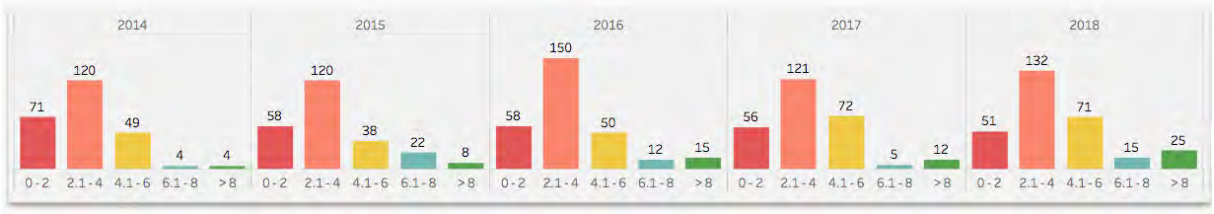


Figura 3. Distribuição de fatores de impacto dos artigos publicados utilizando os instrumentos do LNLS

Destaca-se que embora 4 linhas de luz tenham sido fechadas no UVX desde 2015, o número de propostas e o número de publicações não foram afetados. O fator de impacto médio das publicações tem aumentado de forma constante e, em 2018, o fator de impacto médio dos artigos publicados chegou a quase 4,2, com 40 artigos com fator de impacto acima de 6 (Figura 3). Este resultado é comparável a síncrotrons de 3ª geração, bem mais competitivos do que o UVX. O aumento do número de publicações com participação dos membros do CNPEM e do fator de impacto médio tem forte correlação com o crescimento do quadro de pesquisadores que, só no LNLS, quase dobrou desde 2014. Embora este aumento de quadro tenha sido motivado e dedicado quase integralmente ao Sirius, o aumento de suporte e massa crítica científica no LNLS teve grande influência na melhora da quantidade e qualidade dos trabalhos publicados. Isso é surpreendente para uma fonte síncrotron de 2ª geração, já envelhecida, mas reflete a alta motivação da comunidade de usuários com a proximidade da disponibilidade do Sirius. Mais ainda, os resultados alcançados até aqui, demonstram que a comunidade criada desde o início do UVX está preparada e apta a enfrentar os novos desafios que os experimentos do Sirius trarão.

O LNLS tem mantido seus esforços para treinar a comunidade de usuários, principalmente os jovens cientistas que terão algumas décadas de aproveitamento do Sirius pela frente. No âmbito destes esforços, em 2018 foi realizada a segunda edição da Escola Brasileira de Síncrotron (EBS) que, seguindo os moldes da primeira edição de 2017, ofereceu um conjunto didático de palestras sobre ciência de radiação síncrotron para estudantes do Brasil e da América Latina. A escola ocorreu entre os dias 10 a 20 de julho e contou com 92 participantes selecionados - 89 externos e 3 internos -, atingindo o mesmo nível de sucesso da primeira edição. A programação contemplou um total de 62 horas distribuídas entre aulas teóricas em tópicos abrangendo aspectos gerais sobre radiação síncrotron, aulas de tópicos específicos e aulas práticas nas linhas de luz do UVX. O grau de satisfação e comprometimento demonstrado pelos alunos foi excelente. Ressalta-se que a terceira edição do evento ocorrerá em 2019 e já está em fase de preparação.

Dentre os trabalhos publicados por usuários das linhas de luz do UVX, destacam-se abaixo alguns que não apenas possuem um elevado fator de impacto, mas que ilustram bem as aplicações de todas as linhas do UVX, dando simultaneamente uma ideia da direção que a ciência do Sirius deverá tomar.

Física da matéria condensada

Na área de física da matéria condensada destacam-se 3 trabalhos: dois deles, realizados nas linhas PGM e IR, elucida a utilização de técnicas de luz síncrotron no estudo de superfícies e interfaces – que serão realizados no futuro nas linhas IPÊ e IMBUIA; e um, realizado na linha XDS, ilustra o estudo de materiais com propriedades exóticas sob condições extremas – programa científico que será transferido para linha EMA do Sirius.

O trabalho ***"Unraveling the Atomic Structure of Fe Intercalated under Graphene on Ir(111): A Multitechnique Approach",*** Fator de Impacto 9,9 , que utilizou a linha PGM e foi publicado na revista *Chemistry of Materials* (Figura 4), e o trabalho ***"Infrared Fingerprints of Natural 2D Talc and Plasmon–Phonon Coupling in Graphene–Talc Heterostructures"***, Fator de impacto 6,9, que utilizou a linha IR e foi publicado na revista *ACS photonics*, demonstram o potencial das técnicas de sondagem de estados eletrônicos de superfícies, interfaces e heteroestruturas baseadas em grafeno (Figura 5).

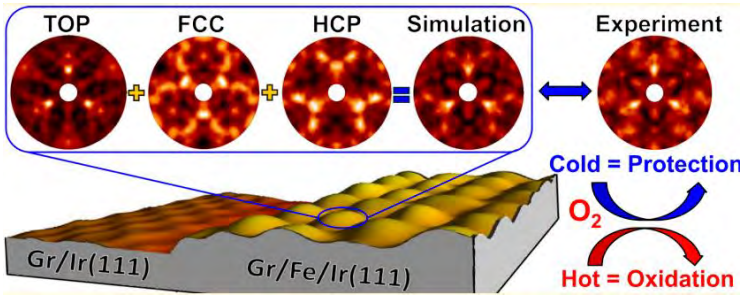


Figura 4. No trabalho publicado na revista *Chemistry of Materials* o grupo de usuários utilizou a técnica de XPS na linha PGM para investigar a deposição de Fe em grafeno depositado sobre uma superfície de Ir(111) para compreender o crescimento, intercalação e oxidação de dispositivos baseados em filmes ultrafinos de ferro e grafeno.

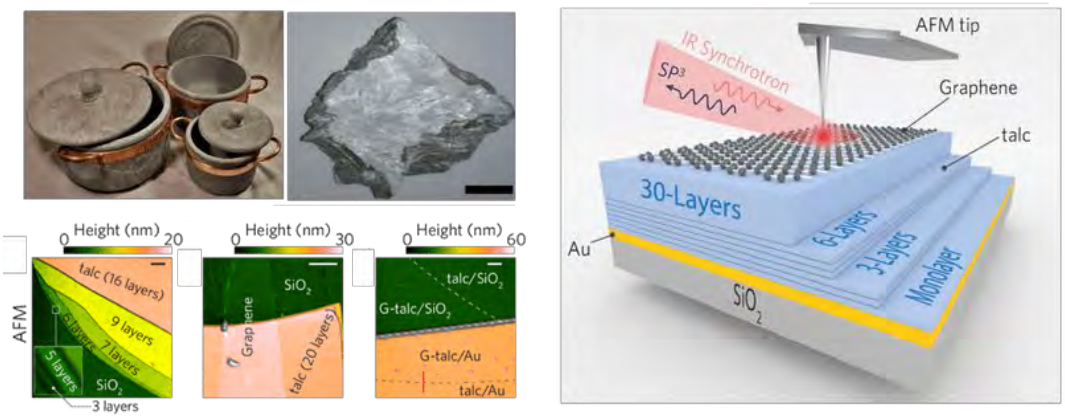


Figura 5. No artigo publicado na revista *ACS photonics* (v. 5, n. 5, p. 1912-1918, 2018) o grupo de usuários e pesquisadores do LNLS investigaram com a técnica de Nano FTIR do UVX uma combinação entre o grafeno e talco que possibilitará a confecção de novos dispositivos opto-eletrônicos em escala nanométrica

Em 2018, pesquisadores da Unicamp e do LNLS, publicaram o trabalho ***"First-order structural transition and pressure-induced lattice/phonon anomalies in Sr2IrO4"***, na revista *Physical Review B*. O estudo, realizado na linha XDS, demonstra o potencial da investigação de materiais com propriedades mais exóticas, como supercondutividade, quando submetidos a condições extremas. Para tanto, os pesquisadores utilizaram difração de raios-X (Figura 6) e espalhamento Raman para entender o porquê este material, apesar de um candidato a supercondutor, não apresenta tal propriedade. Ao aplicar pressões da ordem de 66 GPa, o estudo revelou os mecanismos eletrônicos e estruturais que competem para este comportamento inusitado.

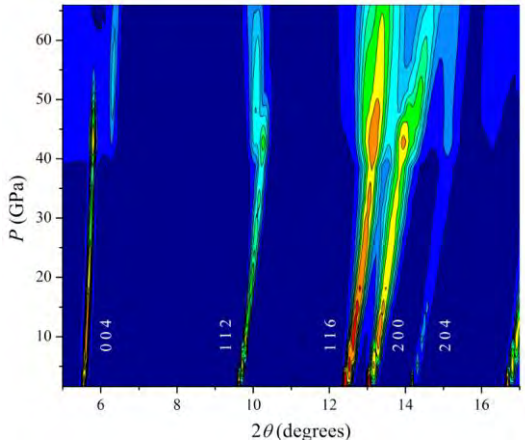


Figura 6. Dados de difração de raios-X em função da pressão que permitiram acompanhar a evolução estrutural dos Iridatos do trabalho publicado na *Physical Review B* (v. 98, n. 9, p. 094101, 2018) por um grupo de usuários e pesquisadores do LNLS utilizando a linha XDS

Nanotecnologia e catálise

Na área de nanotecnologia e catálise, destacam-se em 2018 dois trabalhos que ilustram o uso das técnicas de espectroscopia de raios-X e difração de pó na investigação de materiais nanoestruturados, em especial no desenvolvimento de novos catalisadores. Este tema é intensamente investigado pela comunidade de usuários e terá uma grande ampliação de oportunidades com o Sirius.

O trabalho ***"Unexpected Optical Blue Shift in Large Colloidal Quantum Dots by Anionic Migration and Exchange",*** publicado na revista *Journal of Physical Chemistry Letters* (Fator de Impacto 8.7) utilizou dados de XPS, XANES, e EXAFS das linhas XAFS1 e SXS para elucidar as propriedades óticas de nanocristais coloidais baseados em ligas de CdSeZnS (Figura 7).

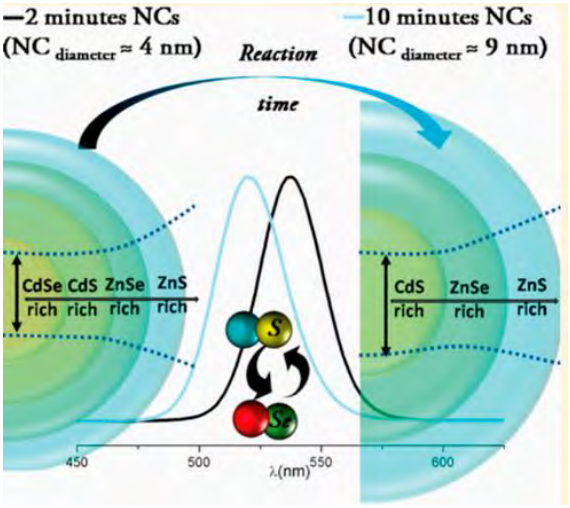


Figura 7. Processo de crescimento de nanocristais com propriedades óticas controladas, investigado no trabalho *Journal of Physical Chemistry Letters* v. 9, n. 11, p. 3124-3130, 2018

No âmbito do trabalho ***"CO2 reforming of methane over supported LaNiO3 perovskite-type oxides",*** publicado na revista *Applied Catalysis B-Environmental*, (Fator de Impacto 11,7), um grupo de usuários investigou mudanças estruturais (Figura 8) da *perovskite* LaNiO3 na reação de reforma seca do metano, muito importante na utilização do biogas. A pesquisa foi realizada com dados obtidos na linha XPD.

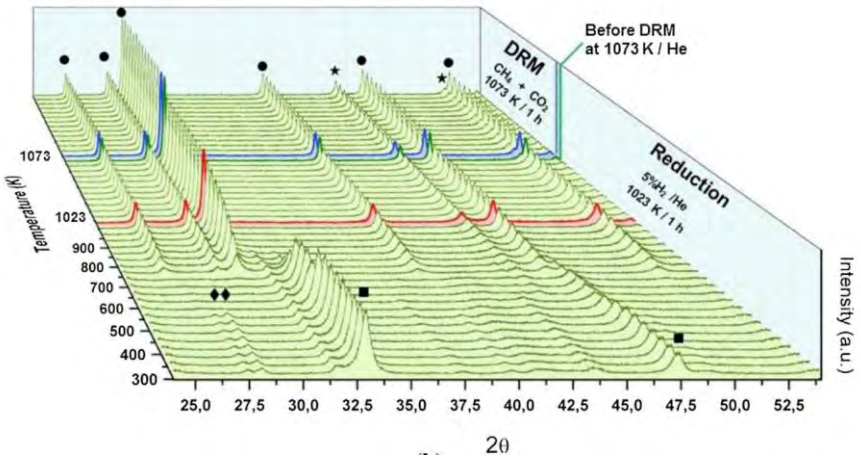


Figura 8. Dados de difração *in-situ* do catalisador baseado em perovskita de LaNiO3, durante a sua redução da temperatura ambiente até 1023 K na reforma seca do Metano (DRM) como publicado na revista *Applied Catalysis B-Environmental* v. 221, p. 349-361, 2018

Biomateriais e polímeros

Em 2018, na área de materiais moles e bio-materiais destacam-se três artigos. Na área de polímeros, a técnica de SAXS foi utilizada para estudar a evolução da síntese de membranas porosas funcionalizadas com estrutura bicontínua em equilíbrio, formadas a partir de copolímeros, que podem servir por exemplo para sistemas de destilação. Este trabalho deu origem ao artigo ***"Functionalized Nanochannels from Self-Assembled and***

Photomodified Poly(Styrene-b-Butadiene-b-Styrene)", publicado na revista *Small,* Fator de Impacto 9,6 (Figura 9).

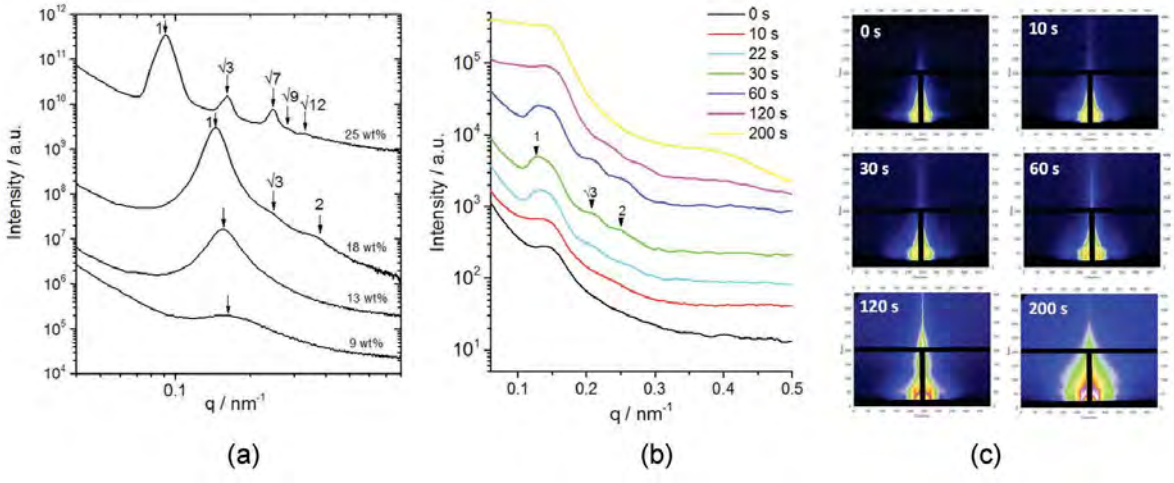


Figura 9. Dados de SAXS (a) e (b) feitos na linha SAXS1 e dados de GISAXS feitos no ESRF que foram usados para modelar as membranas desenvolvidas no trabalho publicado na revista *Small* v. 14, n. 18, p. 1701885, 2018

No uso de técnicas de luz síncrotron em sistemas biológicos, na escala molecular, destaca-se o trabalho liderado por usuários da África do Sul, que trata do desenvolvimento de vacinas para o HIV-1 baseadas em anticorpos (Figura 10). A pesquisa foi publicada na revista *Cell Reports*.

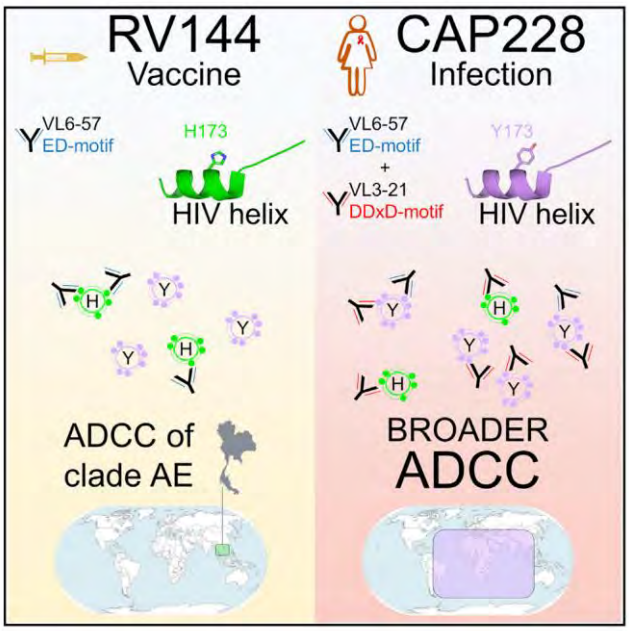


Figura 10. Desenvolvimento de um anticorpo para vacinas de maior abrangência populacional, publicado no trabalho intitulado *"V2-Directed Vaccine-like Antibodies from HIV-1 Infection Identify an Additional K169-Binding Light Chain Motif with Broad ADCC Activity"*

Agricultura e meio ambiente

O engajamento do LNLS na área de pesquisa de agricultura e meio ambiente tem resultado em publicações com maior fator de impacto, bem como em um aumento no número de artigos publicados nesta temática. Em 2018, destacam-se os trabalhos realizados nas linhas SXS, XRF e IR, que tem sido as mais utilizadas atualmente para esta temática e que terão no Sirius a linha CARNAÚBA como principal instrumento. No âmbito do trabalho ***"Smart Fertilization Based on Sulfur-Phosphate Composites: Synergy among Materials in a Structure with Multiple Fertilization Roles"***, investigou-se a fertilização mais racional de micronutrientes como enxofre e fósforo (Figura 11) a nível molecular, utilizando espectroscopia de raios -X tender. O trabalho foi publicado na revista *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* (Fator de Impacto 6,1).

Figura 11. A especiação de fósforo por análises de XANES permitiu investigar a dinâmica de fixação deste micronutriente após a sua dissolução no solo no trabalho publicado na revista *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* v. 6, n. 9, p. 12187-12196, 2018

Destaca-se também o trabalho realizado na linha XRF, ***"Energy-Dispersive Total-Reflection Resonant Inelastic X-ray Scattering as a Tool for Elemental Speciation in Contaminated* Water"**, um método analítico para obter informação sobre o estado químico de traços (Figura 12) de elementos metálicos em líquidos, de forma rápida e fácil.

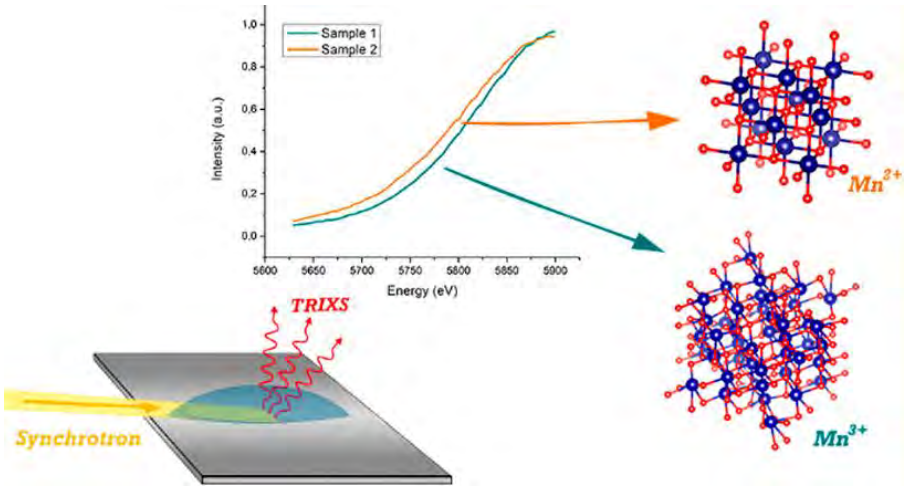


Figura 12. O método de *"Resonant inelastic X-ray scattering under total reflection geometry (TRIXS)"* aplicado na investigação de contaminantes metálicos em água, como publicado na revista *Analytical Chemistry* vol 90, 3886−3891, 2018

Ciência de Materiais

Na área de ciência de materiais, destaca-se o artigo ***"High Thermoelectric zT in n-Type Silver Selenide films at Room Temperature"***, publicado na revista *Advanced Energy Materials* – artigo com maior fator de impacto de 2018 (21.9). O trabalho utiliza difração de raios X, feita na linha XRD2, para invetigar a origem microscópica estrutural da termoeletricidade em filmes de Prata e Selenio. Estes materiais apresentam grande potencial para transformar calor em eletricidade em dispositivos vestíveis, embutidos a roupas e acessórios, e outras tecnologias flexíveis (Figura 13).

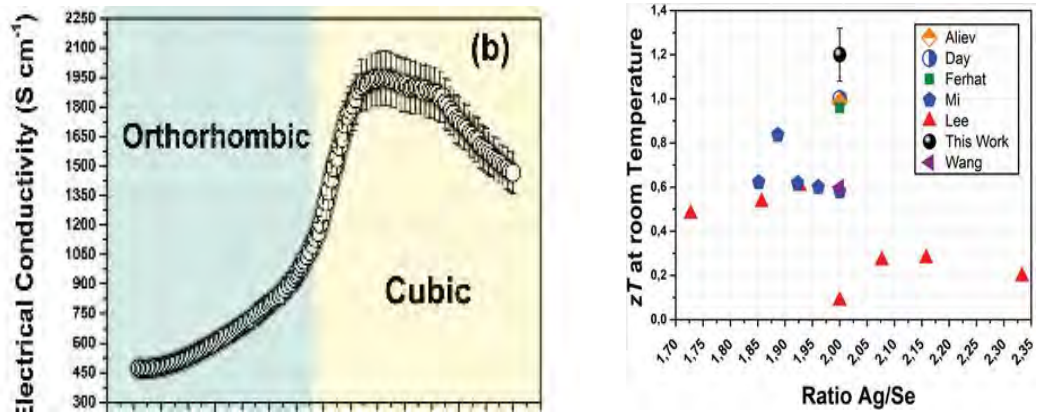


Figura 13. Dados de difração de raios X que evidenciam a transição estrutural do material termoelétrico e comparação entre o valor de zT à temperatura ambiente para o filme fino de Ag2Se obtido pelo grupo e outros resultados da literatura para materiais com diferentes proporções de prata e selênio, como publicados na *Advanced Energy Materials* v. 8, n. 8, p. 1702024, 2018

Por fim, destaca-se o trabalho publicado na revista *Materials & Design*, ***"Compositional analysis on the reverted austenite and tempered martensite in a Ti-stabilized***

supermartensitic stainless steel: Segregation, partitioning and carbide precipitation". Esta pesquisa utilizou difração de raios-X *in-situ* da estação XTMS da linha XRD1 para estudar as transformações de fase em aço inoxidável (Figura 14). A maior limitação desta técnica no UVX é a baixa energia dos raios-X, o que será amplamente superado na linha HERA do Sirius.

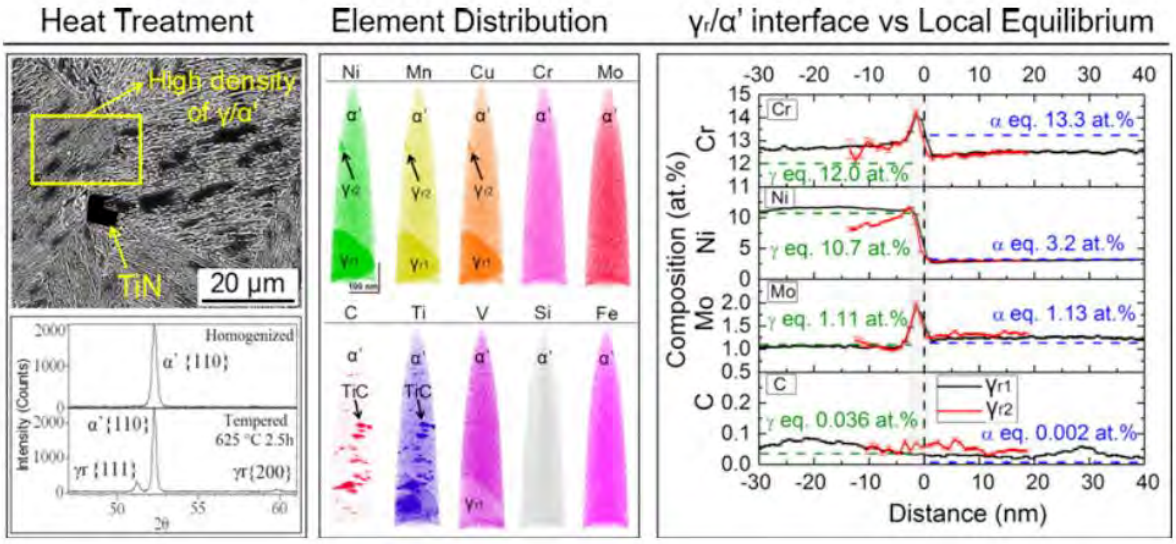


Figura 14. Resumo gráfico do trabalho publicado na revista *Materials & Design* v. 140, p. 95-105, 2018 com dados obtidos na estação XTMS da linha XRD1

1.3 Pesquisa e Desenvolvimento *in-house*

No desenvolvimento de experimentos nas linhas de luz do UVX, executados como testes para as linhas do Sirius, destacam-se os experimentos de difração e espectroscopia em altas pressões, utilizando o feixe microfocalizado do sistema KB de focalização da linha EMA – instalado na linha XDS para testes –, e os sistemas de automação para troca rápida de cristais, integrado ao sistema de análise de dados – instalados na linha de cristalografia de proteínas MX2 para comissionamento e teste.

1.3.1 Técnicas de luz síncrotron em condições extremas

Este projeto prevê o desenvolvimento de técnicas de luz síncrotron para estudos de materiais em condições de altas pressões, temperaturas e campo magnético. Os principais materiais estudados são: materiais magnéticos, supercondutores, semicondutores e duros, além da competição entre estrutura e magnetismo.

O sistema de micro-focalização do feixe de raios-X que irá para a estação micro-probe da linha EMA, instalado em 2017, foi comissionado no primeiro semestre de 2018, com excelentes resultados e dentro da especificação almejada no projeto deste sistema. Apesar das limitações de tamanho do feixe de luz síncrotron de uma fonte de 2ª geração, o UVX, foi possível alcançar foco de dezenas de microns, resultando em um aumento da

densidade de fluxo de fótons em fatores de até 160 vezes, utilizando células de alta pressão. Esse processo foi realizado na linha de luz XDS e permitirá tanto adiantar o comissionamento do sistema para a linha EMA, quanto abrir novas possibilidades científicas para os usuários desta linha. Na Figura 15 observa-se um exemplo de melhoria no espectro de absorção de raios X na borda do Paládio, e um ganho de tempo e pressão limite em experimentos com amostras de $LuFe_4Ge_2$, que sofrem transições estruturais com a aplicação de altas pressões.

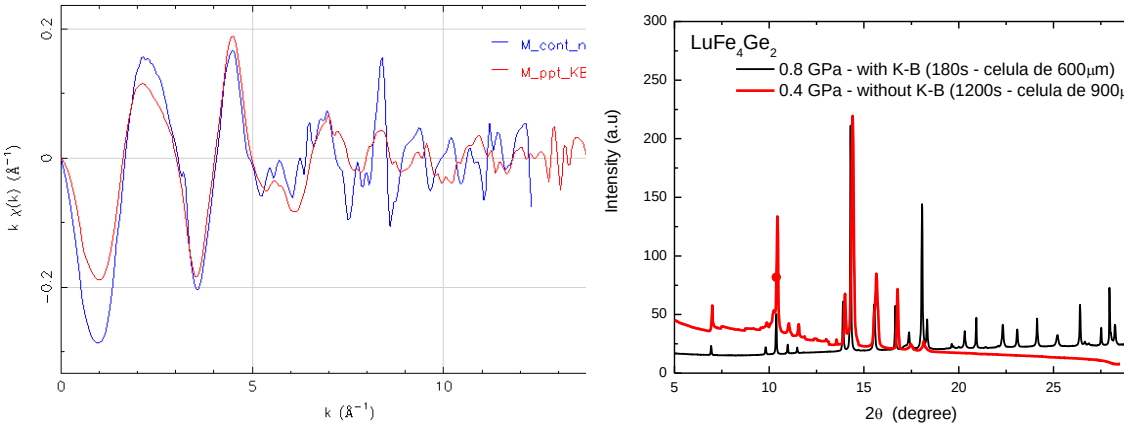


Figura 15. Espectro de XAS na borda do Paládio (esquerda) antes(azul) e depois do sistema KB de focalização instalado. Difratograma de amostras LuFe4Ge2 que revelou informação da evolução da rede cristalina com pressão, antes (vermelho) e depois da instalação do KB (azul). Ambos resultados foram obtidos durante o comissionamento do sistema KB (foto no inset)

1.3.2 Técnicas de luz síncrotron em biologia estrutural

O objetivo deste projeto é a implementação de novas soluções para a resolução de estruturas e compreensão das funções de proteínas utilizando o maior brilho e coerência disponíveis no Sirius. Uma das principais metas é desenvolver métodos de análise de proteínas de membrana e *screening* de fragmentos visando a descoberta de fármacos, que são parte da proposta da linha MANACÁ. Além disso, busca-se maior integração da pesquisa desenvolvida pelo Laboratórios Nacionais do CNPEM e fomentar à inovação.

Um sistema automatizado para entrega de amostras, baseado no braço robótico Staubli, está sendo comissionado (Figura 16) na linha MX2. O braço robótico entregará amostras em pinos Unipuck/SPINE ao goniômetro miniKappa fixo e também conterá placas de cristalização para triagem rápida de cristais e coleta de dados.

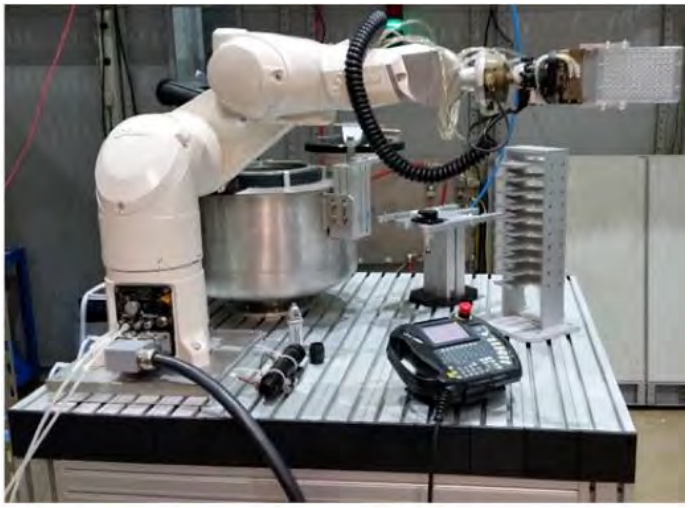


Figura 16. Instalação, simulação e programação do braço robótico TX60

Por meio da interface do MXCube, disponibilizada para uso na linha de luz MX2, os usuários poderão controlar o experimento e escolher o modo de coleta de dados (Figura 17). Ademais, a equipe das linhas de luz está trabalhando com a comunidade do consórcio MXCube no desenvolvimento da próxima versão do sistema, que será baseada na web e oferecerá novas ferramentas para acesso remoto.

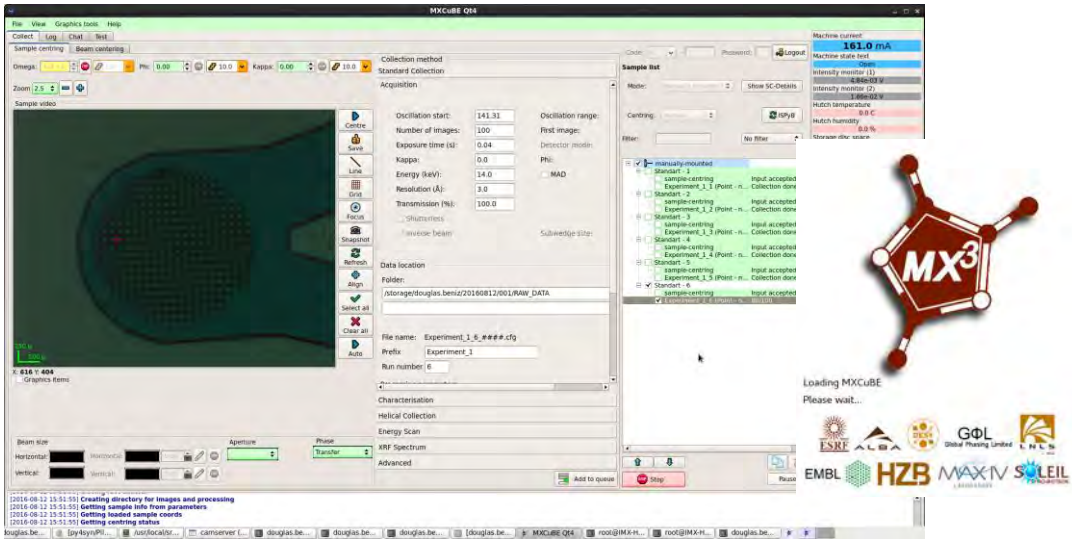


Figura 17. Interface do MXCube

Destaca-se também o desenvolvimento de *pipelines* para tratamento de dados, coletados de forma tradicional e serial, e para identificação de ligantes estão sendo desenvolvidas. Este desenvolvimento permitirá que os usuários deixem o laboratório com dados pré-tratados. O MX2 AutoProcessing Pipeline (MX2AutoProc, Figura 17), desenvolvido pelo LNLS, consiste em uma interface gráfica, desenvolvida a partir do PyQT e Python3, capaz de processar as imagens de difração durante a coleta de dados e determinação da estrutura por substituição molecular, refinamento do corpo rígido e

SAD (difração anômala) com entrada mínima do usuário. Este *pipeline* está sendo testado pelos usuários da linha de luz MX2 desde o início de 2018.

Além dos projetos acima citados vale ressaltar três artigos resultantes de colaborações entre pesquisadores do CNPEM e usuários externos. Os artigos incluem desenvolvimentos nas áreas de nanotecnologia e catálise e biomateriais e polímeros.

O trabalho ***"Controlling Reaction Selectivity over Hybrid Plasmonic Nanocatalysts"***, publicado por pesquisadores do LNLS e usuários externos, na revista *Nano Letters* (Fator de Impacto 12,1) demonstrou a aceleração de processos catalíticos com a excitação de modos de *plasmons* de superfície por luz visível, utilizando espectroscopia de raios -X da linha XAFS2 (Figura 18).

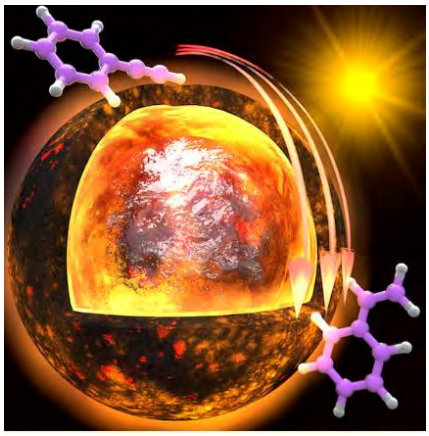


Figura 18. Controle do processo catalítico por excitação de plasmons de superfície em nanocatalisadores, publicado na revista *Nanoletters* v. 18, n. 11, p. 7289-7297, 2018

No trabalho ***"Hybrid Organic-Inorganic Anatase as a Bifunctional Catalyst for Enhanced Production of 5-Hydroxymethylfurfural from Glucose in Water"***, pesquisadores do LNLS, LNNano e usuários, utilizaram dados obtidos nas linhas XRD1 e XAFS1 para investigar um catalisador híbrido orgânico-inorgânico na produção de 5-Hydroxymethylfurfural(HMF), um composto intermediário muito importante para a economia baseada em biomassa.

No âmbito de aplicações de síncrotron na áera biomédica, o LNLS tem colaborado intensamente com o LNBio, com o desenvolvimento de protocolos e formas de medidas de sistemas biológicos, desde a escala molecular até a escala de tecidos e órgãos. Destaca-se como exemplo, o trabalho ***"High-resolution synchrotron-based X-ray microtomography as a tool to unveil the three-dimensional neuronal architecture of the brain"***, publicado na *Nature Scientific Reports* (Fator de Impacto 4.2). O estudo, executado na linha IMX, liderado por pesquisadores do LNBio em colaboração com pesquisadores do LNLS e usuários externos, demonstrou uma nova metodologia para se estudar a estrutura de conectividade de neurônios por micro tomografia de raios-X (Figura 19).

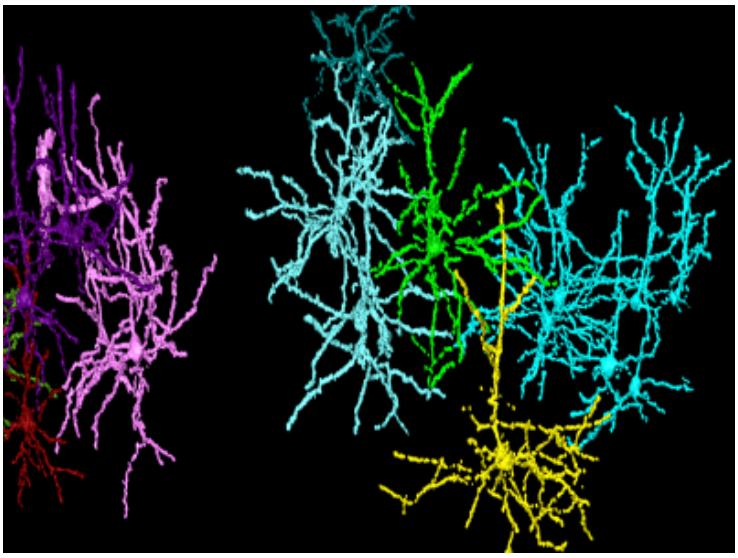


Figura 19. Imagem de microtomografia de raios X do córtex cerebral mostrando a segmentação de neurônios individuais. Cada cor representa um único neurônio ou um grupo de neurônios. Da revista *Scientific Reports*, v. 8, p. 12074, 2018

1.4 Apoio à geração de inovação

Marcas Sirius

Seguindo a estratégia de ampliação da proteção da marca Sirius, em 2018 foram registradas mais 12 marcas que associam o projeto ao LNLS e ao CNPEM. As marcas foram registradas nas classes 09, 41 e 42, segundo a Classificação Internacional de Produtos e Serviços de NICE, para abranger equipamentos relacionados as áreas de ciências; educação e formação; serviços científicos e tecnológicos, assim como serviços de pesquisa; respectivamente.

Pedidos de Proteção de Tecnologia do LNLS

Em dezembro de 2018, o LNLS registou um pedido de patente para proteção do “Sensor de Pressão e Força Usando Efeito Mecanocalórico”. Trata-se de um dispositivo com objetivo de medir variações de força e de pressão por efeito mecanocalórico (capacidade dos materiais de mudar de temperatura ao ser comprimido ou descomprimido). O dispositivo tem caráter inovador e utiliza do efeito barocalórico e elastocalórico de certos materiais para determinar a variação de força ou de pressão que esses materiais sofrem.

Figura 20. Sensor de pressão e força que utiliza o efeito barocalórico

O dispositivo consiste em um painel de controle conectado a dois sensores: um de força e outro de pressão (conforme esquematizado na Figura 20). A conexão se dá via dois termopares independentes, que medem as variações de temperatura dos materiais mecanocalórico no interior dos sensores. Os dados de temperatura são convertidos imediatamente pelo sistema e os valores de força e pressão são mostrados no painel de controle.

1.4.1 Projetos Desenvolvidos em Parceria com Empresas

PITEC e Instituto Eldorado

Em 2018, o LNLS deu continuidade à parceria com a empresa PI-Tecnologia Ltda e o Instituto de Pesquisas Eldorado. A parceria, que teve início em 2017, refere-se a um programa de cooperação e intercâmbio tecnológico com objetivo de desenvolver Detectores de Raios X para pesquisas científicas nas linhas de Luz da Fonte de Luz Síncrotron Sirius. A parceria contempla as fases de prototipagem com três entregas.

A primeira fase, chamada Demo#1, contemplou: (a) a demonstração com uma placa eletrônica, chamada MFB, ligada a kit de desenvolvimento Virtex com Placa CIP006 de 12 sensores para Raios X, para comprovar a transmissão de dados em protocolo RDMA e software versão alfa com taxa de 2000 frames por segundo via módulo de fibra óptica (100Gb/s) até o servidor de processamento de imagens; (b) entrega de novo lote de Placas MFB; (c) novo projeto da placa flexível 2.0 e Projeto atualizado da cerâmica elétrica V1.1; (d) Montagem dos dissipadores mecânicos das placas e (e) teste de Sensor HEXA na placa flexível Flex PCB 1.0.

A segunda fase, chamada Demo#2, está em andamento. Esta fase contempla a comprovação de funcionamento com duas linhas de sensores Hexa montados no chassi final com placa flexível Flex PCB 2.0, ligados à uma placa MFB que será conectada a uma

placa eletrônica TB (*Transport Board*) no chassi mecânico final com a caixa. As placas citadas em suas versões finais transmitem dados em protocolo RDMA e software versão beta com taxa de 2000 frames por segundo via módulo de fibra óptica (100Gb/s) até o servidor de processamento de imagens.

A última fase prevê a entrega do protótipo final com suas respectivas validações e comissionamento, incluindo a comprovação de funcionamento com 06 linhas de sensores Hexa (6x6), com três placas MFB acopladas à placa TB, onde todo conjunto será montado na mecânica com dissipadores e caixa transmitindo a 100Gbps para o servidor de processamento de imagens e Softwares na versão Release 1.0.

Figura 21. Esq.: Demo#1. Dir.: Demo#2

BioLambda

Ainda em 2018, o LNLS iniciou e finalizou uma parceria com a empresa BioLambda para o desenvolvimento de um equipamento para fotopasteurização de líquidos. Desenvolvido em colaboração com pesquisadores da empresa, do LNLS e da USP, o equipamento atua na inativação de micro-organismos em líquidos utilizando luz visível, com comprimentos de onda no intervalo entre 350nm e 750nm. A inativação microbiana em líquidos mediada por luz visível (fotopasteurização) pode ser utilizada para substituir ou complementar processos de inativação térmica. Adicionalmente, a fotopasteurização pode ser utilizada em líquidos sensíveis a temperaturas, contornando diversas limitações da pasteurização térmica e UHT. Está prevista a proteção desta tecnologia através de pedido de patente, cuja titularidade será compartilhada com o CNPEM.

Parcerias Tecnológicas Sirius

Em 2018, a maioria das parcerias tecnológicas com empresas estiveram relacionadas às demandas por equipamentos, dispositivos e sistemas do novo acelerador Sirius. Dentre estas, se destacam aquelas realizadas no âmbito da chamada de propostas para o desenvolvimento de produtos, processos e serviços inovadores para o Sirius, com apoio financeiro da FAPESP e Finep.

Os “Desafios Sirius” da segunda chamada pública estão na reta final de execução nas empresas. Nesta chamada, ao todo, dez empresas se candidataram a desenvolver dez projetos. Os avanços dos projetos de pesquisa estão descritos abaixo.

Empresa Tecnal

A parceria com a empresa Tecnal visa o desenvolvimento de banho térmico capaz de manter a refrigeração de elementos óticos das linhas de luz com alta confiabilidade e estabilidade. O protótipo final do banho termostatizado desenvolvido na empresa encontra-se em fase de teste de nos sistemas de controle, diagnóstico e de refrigeração.

Figura 22. Protótipo do Banho Termostatizado em teste na empresa

Empresa Promac

A parceria com a empresa Promac tem como objetivo o desenvolvimento do processo de usinagem, solda e acondicionamento de câmaras para ultra alto vácuo em aço inoxidável austenítico para os elementos óticos das linhas de luz.

A PROMAC trabalha nos processos de fabricação das câmaras metálicas para utilização em ultra alto vácuo de elementos ópticos mais atuais do LNLS, já em sua segunda versão. Os primeiros corpos de prova (CP’s) para validação da solda foram aprovados na primeira análise metalográfica e novos CP’s foram confeccionados em novas geometrias para análise, visando validar o processo. Foram soldados três corpos de prova (CP), os quais foram submetidos e aprovados ao teste de validação da solda (*Leak Detector)*. Os resultados destes testes, levaram a definição da soldagem por alta corrente (40A), como a mais adequada para qualidade exigida pelo desafio. Atualmente, a empresa se prepara para iniciar a soldagem das partes do protótipo.

Empresa ACT Ion

A parceria com a empresa ACT Ion visa o desenvolvimento de sistema modular de *baking* para aquecer as câmaras de vácuo a alta temperaturas (superiores a 100ºC, podendo chegar a até 200ºC). No âmbito desta parceria foi desenvolvido um primeiro protótipo, que se encontra em fase de teste em uma câmera de espelho no Laboratório de Metrologia do LNLS (Figura 23). Destaca-se que o protótipo tem atendido a todas expectativas de funcionamento, revelando o sucesso deste desenvolvimento.

Figura 23. Preparação para montagem do protótipo no LNLS (esq.) e processo de montagem e instalação do protótipo no LNLS (dir.)

Empresa Tecno-How Engenharia Industrial

A parceria com a empresa Tecno-How Engenharia Industrial envolve aplicar tecnologias de Manufatura Aditiva, baseadas em laser e em feixe de elétrons, aplicadas a materiais metálicos e cerâmicos para o desenvolvimento de peças com alta complexidade (geométrica, acabamento superficial e qualidade dimensional) capazes de atender a demandas de operação nas linhas de ultra alto vácuo.

Em 2018 foram realizados experimentos utilizando 2 técnicas de processamento, uma por laser e outra por feixe de elétrons. Para a caracterização dos processos, foram realizados ensaios mecânicos de tração e metalografia para observação da microestrutura. Nos quesitos de vácuo, foram realizados ensaios de estanqueidade utilizando-se um *leak detector*. Os resultados preliminares dos ensaios mecânicos indicaram valores adequados, comparáveis aos obtidos pelos processos convencionais de fabricação. Por sua vez, a microestrutura apresenta um nível bastante elevado de defeitos internos inerentes dos processos. Em ambos os processos, os corpos de prova foram aprovados nos ensaios de *leak detector*. Para os próximos meses, o foco será direcionado para a melhoria do processo, especialmente da estrutura metalúrgica das ligas obtidas por ambos processos.

Empresa Setup Automação Controle de Processos

A parceria do LNLS com a empresa Setup Automação Controle de Processos tem como objetivo o desenvolvimento de sensores de posição vertical (nível) e inclinação em relação à vertical gravitacional (inclinômetro bidimensional). Como resultado, foi desenvolvido o *software* de gestão e interpolação de dados para cada um dos 200 sensores da rede hidrostática, além do modelo matemático para visualização e identificação de *outliers*, caso ocorram. Além disso, a empresa finalizou os primeiros protótipos completos, com sensores e vasos comunicantes.

Em setembro de 2018, o pesquisador responsável pelo projeto solicitou auxílio do LNLS para reproduzir o teste em bancadas especiais a prova de vibração. Este teste, realizado com auxílio de professores da Faculdade de Engenharia Elétrica e do Instituto de Física da UNICAMP, revelou que o nível de ruído encontrado nas medições do interferômetro tinha mais de um componente: o ambiente de ensaio não era adequado e a base do interferômetro carecia de correções mecânicas para melhorar a relação sinal ruído. Como resultado, o protótipo será reconstruído e os ensaios repetidos.

Empresa Engecer

Por fim, a parceria com a empresa Engecer buscou o desenvolvimento de cerâmicas covalentes para uso em aceleradores de partículas. Os Monitores de Posição de Feixe do Sirius (Beam Position Monitor - BPM) são constituídos por componentes metálicos com coeficientes de expansão térmicos controlados para que sejam unidos a cerâmicas através de processos especiais de soldagem (brasagem sob alto vácuo). O elemento cerâmico atua como um isolador mecânico (entre vácuo e atmosfera) e elétrico (entre o pino cônico central e a carcaça), mas deve possibilitar troca de calor entre o pino central e a carcaça metálica

Esta parceria, inserida na primeira Chamada Pública FAPESP e Finep de apoio ao Sirius, teve seu prazo estendido e foi concluída em agosto de 2018. Foram obtidos resultados bastante significativos, embora não tenha cumprido totalmente os objetivos propostos. Inicialmente, o projeto previa o desenvolvimento de uma cerâmica hBN, com propriedades elétricas otimizadas para uso nos BPM (*Beam Position Monitor*) do Sirius. Ao longo do processo de desenvolvimento, constatou-se que o material é extremamente complexo de ser manufaturado e foram produzidas algumas amostras para ensaios de estanqueidade e brasagem. Estas amostras foram submetidas a ensaios de molhabilidade, brasagem e estanqueidade a vácuo – os resultados de molhabilidade e brasagem foram adequados, mas todas as amostras falharam na estanqueidade a vácuo em função da própria estrutura da cerâmica. Em paralelo, foi desenvolvida uma nova cerâmica covalente, o AlN, que apresenta elevada condutividade térmica e elevada resistividade elétrica. A nova cerâmica apresentou ótimos resultados de brasagem e estanqueidade, e o material foi aprovado para uso, não a tempo de aplicação nos BPM, mas em componentes para instrumentação.

1.5 Treinamento, Educação e Extensão

Segue abaixo um resumo das informações sobre os seminários, palestras, eventos de capacitação e eventos científicos realizados em 2018.

1.5.1 Seminários e Palestras

Em 2018, o LNLS promoveu 41 palestras com temas desde atualizações sobre o projeto e produção de componentes do Sirius a aplicações de luz síncrotron em diversos contextos.

1.5.2 Eventos Científicos

Sirius Scientific Computing Workshop – S²C

O *"1st Sirius Scientific Computing Workshop – S²C"*[1] foi realizado nos dias 7 e 8 de março de 2018 e contou com 72 participantes – 59 externos e 13 internos. O objetivo foi promover a discussão a respeito de aspectos matemáticos e computacionais relacionados ao processamento de imagens e a sua computação, já em uso em nos laboratórios. O evento contou com palestrantes convidados e deu ênfase as pesquisas em áreas relacionadas a reconstrução, segmentação e alta performance computacional de imagens, dentre outras técnicas de processamento. Panoramas teóricos e tutoriais práticos em diversos algoritmos numéricos também foram oferecidos no decorrer da programação.

28ª Reunião Anual de Usuários

A 28ª edição da *"Reunião Anual de Usuários do LNLS"*[2] foi realizada entre os dias 7 e 9 de novembro de 2018 e foi sediada pela primeira vez nas facilidades do Sirius. A reunião contou com a presença de 180 participantes – 141 externos e 39 internos.

Adicionalmente, nos dias 6 e 7 de setembro, foram realizados 3 eventos satélites da 28ª RAU designados por "*Computational Processing for Users (CPU)*", "*Workshop On Synchrotron Multi-scale Infrared Spectroscopy for Chemical Analyses (MIRCA)*" e "*MX at Sirius and Emerging Tools for Drug Discovery (SMX)*". A programação destes eventos contou com a participação de diversos palestrantes convidados, nacionais e internacionais.

1.5.3 Orientação e Supervisão

Durante o ano de 2018, o LNLS contou com 86 bolsistas, destes, 24 foram da modalidade de Iniciação Científica, 18 foram da modalidade de pós-doutorado, 19 de doutorado, 17 de mestrado, 2 de PCI e 8 de outras modalidades. O número total de estagiários

[1] Website: https://pages.cnpem.br/ssc/
[2] Website: https://pages.cnpem.br/rau/

supervisionados ao longo do ano foi de 57, sendo 41 de nível superior e 16 de nível médio.

1.5.3 Ações de Capacitação

Sirius BPM Workshop

A primeira edição do *"Sirius BPM Worskhop"* foi realizada de 19 a 22 de março de 2018. O evento contou com apresentações orais, estudos dirigidos, atividades *"hands-on"* e mesas redondas acerca do desenvolvimento de eletrônicas de monitoramento de posição de feixe *(Beam Position Monitoring - BPM*) para aceleradores síncrotron. Foram abordadas as estratégias de desenvolvimento de *hardware, gateware* FPGA e *software* de controle para BPMs adotadas no projeto BPM do Sirius, tendo como público-alvo laboratórios síncrotron que demonstraram interesse em adotar a eletrônica desenvolvida pelo LNLS em suas instalações.

2ª Escola Brasileira de Síncrotron: Fundamentos e Aplicações

A segunda edição da "Escola Brasileira de Síncrotron: Fundamentos e Aplicações"[3] foi realizada entre os dias 10 e 20 de julho de 2018. O evento reuniu 111 participantes, sendo 104 brasileiros e 7 estrangeiros. A Escola, voltada para a capacitação na área de técnicas de luz síncrotron, recebeu desde graduandos a docentes e profissionais de diversas áreas de pesquisa e atuação. Planejada para acontecer anualmente, a EBS busca ampliar a capacitação da atual comunidade de usuários do LNLS e impulsionar a formação e treinamento de novos usuários, potencialmente aptos a utilizar técnicas de luz síncrotron em suas pesquisas.

Na primeira semana de evento, foram apresentados aos alunos conceitos básicos da produção de luz síncrotron e suas principais propriedades, além de um quadro geral das técnicas de difração e espalhamento de raios X, espectroscopias de raios X e técnicas de imagem e tomografia de raios X.

Na segunda semana de evento, foram trabalhados conceitos específicos e avançados sobre as técnicas de utilização da luz síncrotron em laboratórios de pesquisa. Durante essa semana, os alunos também tiveram a oportunidade de conhecer, através de aulas práticas, como os pesquisadores do LNLS utilizam a fonte de luz síncrotron em experimentos de diferentes áreas de pesquisa.

[3] Website: http://pages.cnpem.br/ebs/

1.5.4 Outros eventos

Workshop on Advanced Nanomagnetism Characterization

O *''Workshop on Advanced Nanomagnetism Characterization''*[4] foi realizado nos dias 30 e 31 de agosto de 2018 e contou com 48 participantes – 42 externos e 6 internos. O workshop foi um evento satélite do *''16th International Conference on Molecule-Based Magnets''*, ocorrido entre 1 e 5 de setembro na cidade do Rio de Janeiro. O objetivo deste evento foi reunir especialistas internacionais em diversas técnicas utilizadas nos estudos de magnetismo em nano escalas a fim de proporcionar a todos algumas abordagens de caracterização, que não estão normalmente nos portfólios de técnicas utilizadas.

6th Workshop in Power Converters for Particle Accelerators (POCPA)

A sexta edição do *''Workshop in Power Converters for Particle Accelerators (POCPA)''*[5] foi realizada entre os dias 24 e 26 de setembro de 2018 e contou com 46 participantes – 35 externos e 11 internos. O evento, que ocorre a cada dois anos, tem como principal objetivo reunir especialistas da área, provenientes de diversos laboratórios de aceleradores de partículas do mundo, para a discussão em mesas redondas dos tópicos selecionados e para o compartilhamento de informação dos status dos respectivos laboratórios.

1.6 Infraestrutura, Operação e Melhorias técnicas

1.6.1 Operação da Fonte de Luz Síncrotron

Em 2018, foram programadas 4.025 horas de feixe para usuários. Os turnos de feixe para usuários foram programados com pequenas paradas mensais para manutenção e estudos de máquina. A programação de operação da fonte de luz reservou 50% das segundas-feiras para a preparação das linhas de luz, que puderam ser utilizadas também para manutenções corretivas emergenciais dos aceleradores. Dessa forma, as semanas de operação para usuários estenderam-se rotineiramente de segunda ou terça-feira a sábado pela manhã, com o feixe sendo disponibilizado no regime de operação 24 horas por dia, com injeções programadas para 08:00h e 19:00h. Dentro do horário programado para os usuários foram realizadas 3.959 horas de feixe, resultando em uma confiabilidade de 98.4% no ano, a mais elevada já atingida pela fonte. Incluindo os períodos de feixe extra, a fonte de luz operou para usuários por um total de 4.122 horas.

Destaca-se que a operação para usuários transcorreu sem grandes contratempos, com uma confiabilidade excelente no comparativo com os demais anos de operação da

[4] Website: https://pages.cnpem.br/wanc/
[5] Website: https://pages.cnpem.br/pocpa6/

fonte, ficando acima da média dos últimos anos. O aumento da confiabilidade é reflexo da redução do número de falhas causadas por perda do feixe de elétrons durante o turno de usuários e dos atrasos na entrega do feixe nos horários de injeção. Foram 44 eventos de queda do feixe no semestre, respondendo por 60% do total do tempo de falha da fonte durante os turnos de usuários. As principais causas de eventos de queda do feixe foram falhas no fornecimento de energia elétrica, que responderam por 40% das quedas de feixe, e falhas em fontes de corrente que alimentam ímãs da rede magnética dos aceleradores, com 30% dos eventos. As falhas no fornecimento de energia são devidas tanto a piscas na rede da concessionária quanto a falhas nas instalações internas do campus. Com relação ao tempo total de máquina parada nos horários de feixe programado, as falhas relacionadas ao fornecimento de energia responderam por 50% do tempo parado. Falhas nas fontes de corrente responderam por cerca de 25% do tempo parado.

Não foram realizadas novas instalações na fonte de luz UVX em 2018. Com as equipes de engenharia empenhadas na construção da nova fonte de luz Sirius, as programações de manutenção deram mais ênfase às atividades preventivas nas fontes de corrente e no sistema de controle. O impacto sobre a operação foi positivo, tendo em vista que o tempo médio entre quedas de feixe em turnos para usuários ficou acima de 90 horas, cerca de 15 horas acima da média dos últimos anos. Em janeiro foi realizada uma manutenção preventiva para a troca de elementos do sistema criogênico do *wiggler* supercondutor que deixou a máquina inoperante por duas semanas. Assim como nos anos anteriores, a fonte de luz vem sendo parcialmente desligada nos finais de semana, correspondendo a mais de 2/3 do período considerado como de condicionamento da fonte. São desligados parte dos circuitos hidráulicos, as fontes de corrente e os sistemas de radiofrequência, que respondem pela maior parte do consumo de energia elétrica na operação da fonte de luz.

Quadro 1. Parâmetros de desempenho da fonte de luz síncrotron em 2018

	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	2018	
Corrente Inicial Média	252,2	252,7	252,0	250,7	252,1	251,7	249,8	249,3	251,1	251,8	252,1	251,1	251,3	mA
Corrente Média	180,5	171,3	173,2	172,9	177,3	179,8	179,7	177,5	183,0	177,8	176,3	179,9	177,5	mA
Tempo de Vida Médio	14,9	14,9	14,9	14,6	15,9	15,8	15,7	15,5	14,9	15,3	15,6	15,6	15,3	h
Corrente Integrada	28,5	53,0	69,7	61,4	66,4	70,1	43,5	77,8	75,5	71,2	46,5	52,5	731,5	A.h
Tempo de Feixe Programado	153,0	299,0	399,0	345,0	368,0	368,0	245,0	437,0	376,0	406,0	261,0	284,0	4025,0	h
Tempo de Feixe no Horário Programado	145,5	297,3	395,7	342,4	362,0	362,4	238,7	427,9	372,7	393,9	258,6	280,3	3959,6	h
Tempo Total de Feixe	157,9	309,4	402,4	355,2	374,4	389,8	242,1	438,0	412,9	400,3	263,8	291,8	4122,1	h
Confiabilidade	95,1	99,4	99,2	99,3	98,4	98,5	97,4	97,9	99,1	97,0	99,1	98,7	98,4	%

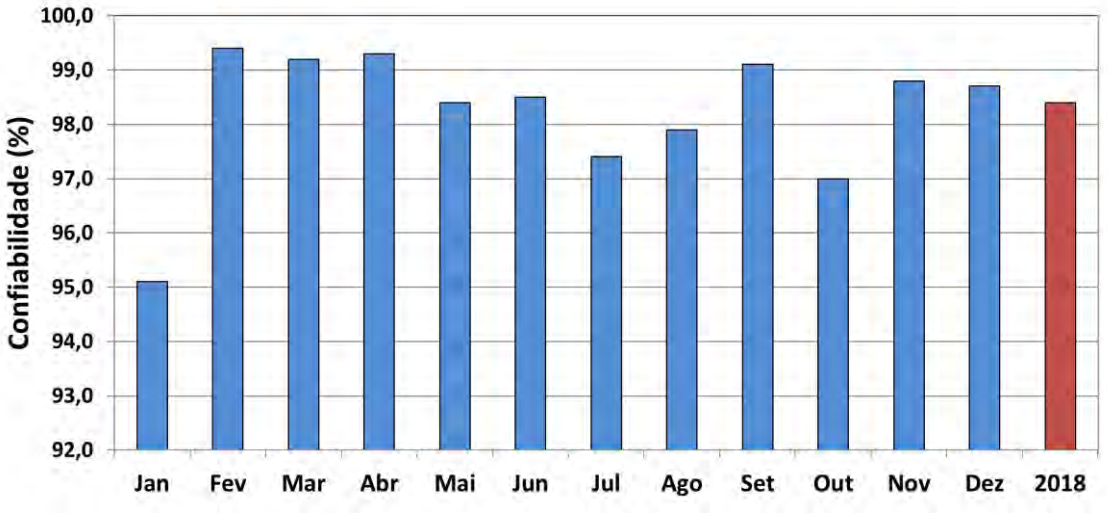


Figura 24. Confiabilidade da fonte de luz síncrotron UVX ao longo de 2018

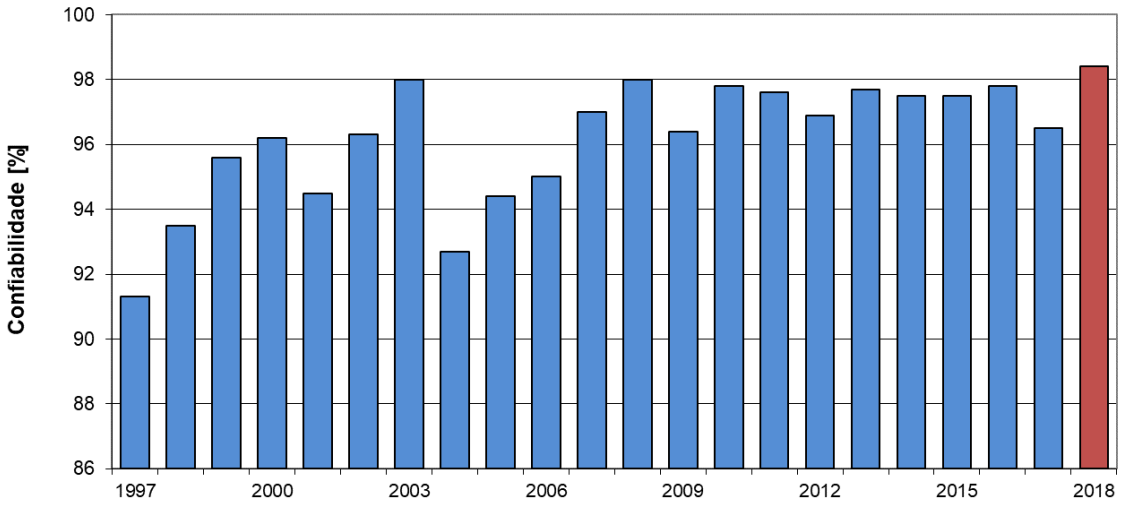


Figura 25. Confiabilidade anual da fonte UVX desde o início das operações para usuários

1.7 Projeto Sirius

1.7.1 Aceleradores

Em 2018, deu-se início a montagem dos aceleradores, o que representa um marco crítico no projeto Sirius. Em março, o Linac começou a ser montado com a vinda da equipe chinesa, que trabalhou intensivamente por 2 meses, junto com a equipe do LNLS. O Linac foi instalado e comissionado, com o primeiro feixe sendo detectado em 8 de maio.

Em junho teve início a instalação de componentes do *Booster*, Anel de Armazenamento e da linha de transporte Linac-*Booster*, em um processo que culminou com o primeiro feixe na entrada do *Booster* no dia 11 de novembro. A montagem do Anel de Armazenamento atingiu cerca de 70% de sua instalação, e a primeira volta de elétrons está prevista para o segundo trimestre de 2019.

Os principais avanços obtidos em 2018 e o *status* de cada área de Divisão de Engenharia são descritos a seguir.

Ótica da máquina

Em 2018, as atividades relacionadas à ótica da máquina abrangeram principalmente o desenvolvimento do Sistema de Controle de Alto-Nível do Sirius; o comissionamento do Linac de 150MeV, que foi uma tarefa conjunta das equipes do LNLS e do *Shanghai Institute of Applied Physics (SINAP);* o comissionamento da Linha de Transporte Linac-*Booster* (LTB); e as simulações de comissionamento do *Booster*, com ajustes nos parâmetros do feixe injetado e correções para primeira volta do feixe, milhares de voltas, até obter feixe estocado com parâmetros de RF ajustados.

Aplicativos de Alto-Nível

Em 2018, o desenvolvimento do Sistema de Controle de Alto-Nível do Sirius avançou significativamente. Foi desenvolvida uma versão inicial com as funcionalidades básicas que permitem comissionar e operar todo sistema de aceleradores. Grande parte das interfaces do sistema de controle com os equipamentos foram testados, depurados e aperfeiçoados. Vários serviços de suporte foram definidos e desenvolvidos, como o de nomenclatura de equipamentos e cabos, servidores de banco de dados de configurações, de arquivamento de parâmetros, de anotações (livro de bordo), etc. Além disso, foram desenvolvidas diversas bibliotecas para tratamento e manipulação dos parâmetros dos equipamentos dos aceleradores, além das interfaces gráficas para interação com o operador.

Comissionamento do Linac de 150MeV do Sirius

No primeiro semestre de 2018, o Linac de 150MeV do Sirius, fabricado pelo SINAP, foi instalado e comissionado, em uma colaboração das equipes do SINAP e do LNLS/CNPEM. O Linac atingiu todas as especificações de projeto e foi, portanto, aprovado nos Testes de Aceitação Final.

A produção do Linac foi finalizada em Shanghai no início de 2016, após aproximadamente 2 anos de projeto e desenvolvimento. Em setembro de 2017, os equipamentos chegaram ao campus do CNPEM, após ficarem estocados no SSRF em função de uma revisão do cronograma do Sirius. Em março de 2018, uma equipe de instalação e comissionamento do SINAP chegou para dar início às atividades de montagem dos equipamentos no local definitivo no túnel do Linac e galeria de *klystrons*

(Figura 26). A instalação dos equipamentos foi completada no final de abril, e no início de maio começaram a ser ligados para condicionamento e *debug* do sistema. No dia 8 de maio foi obtido o primeiro feixe de elétrons ao final do Linac e, após 10 dias de ajustes e otimização dos parâmetros, todos os indicadores atingiram os parâmetros de desempenho requeridos em 18 de maio.

Tabela 1. Especificações do Linac

Energia	≥ 150MeV	
Emitância normalizada (rms)	≤ 50 mm.mrad	
Dispersão relativa de energia (rms)	≤ 0.5 %	
Variação de energia pulso a pulso	≤ 0.25 %	
Variação temporal pulso a pulso	≤ 100 ps	
Variação de posição pulso a pulso	≤ 0.2 mm	
Frequência	2997.948 MHz, 499.658 MHz	
Taxa de repetição	2 Hz a 10 Hz	
	Modo de pulso único	Modo de múltiplos pulsos
Carga	≥ 1 nC	≥ 3 nC
Duração	≤ 1 ns	150 – 300 ns

Figura 26. Fotos do Linac e galeria de *klystrons* montados

Comissionamento da Linha de Transporte de baixa energia Linac-Booster (LTB)

A Linha de Transporte Linac-*Booster* (LTB) é responsável por levar o feixe de 150MeV produzido no Linac até o ponto de injeção após o *septum* no *Booster*. Um desenho esquemático da linha é mostrado na Figura 27 e fotos com a montagem no túnel são mostradas na Figura 28. As eficiências de transporte e injeção do feixe no *Booster*

dependem diretamente dos ajustes de ótica e correção de trajetória do feixe na LTB. Assim, o comissionamento correto e as correções de ótica e trajetória do feixe são essenciais para mantermos uma alta eficiência de injeção no *Booster*. A correção de trajetória inicial foi realizada com auxílio de telas fluorescentes que, quando abaixadas, interceptam e produzem uma imagem direta do feixe. A correção de trajetória propriamente dita é feita através de corretoras de órbita horizontais e verticais, distribuídas ao longo da linha. O comissionamento da linha de transporte LTB foi iniciado em novembro de 2018 após o recondicionamento do Linac do Sirius. O Linac precisou ser recondicionado após ter ficado vários meses desligado para conclusão das instalações definitivas no prédio do Sirius relativas ao túnel dos aceleradores. O feixe foi obtido novamente ao final do Linac em 9 de novembro, mas com os parâmetros ainda não otimizados - por exemplo, o espectrômetro indicava energia de 140MeV. Ainda assim, foi decidido tentar transportar o feixe nessas condições pela LTB. Foram realizados ajustes nas corretoras e dipolos para centralizar o feixe nas telas fluorescentes da LTB sucessivamente, até que o feixe chegou com sucesso à primeira tela do Booster, após o *kicker* de injeção, às 19h do dia 11 de novembro de 2018, conforme mostra a Figura 29. Como a instalação do *Booster* ainda não estava concluída, não foi possível prosseguir com o comissionamento em baixa energia do *Booster*. Cabe ressaltar que os dipolos da LTB foram ajustados para a energia de 124MeV, portanto incompatível com a energia medida no espectrômetro. Este problema ainda está sendo analisado.

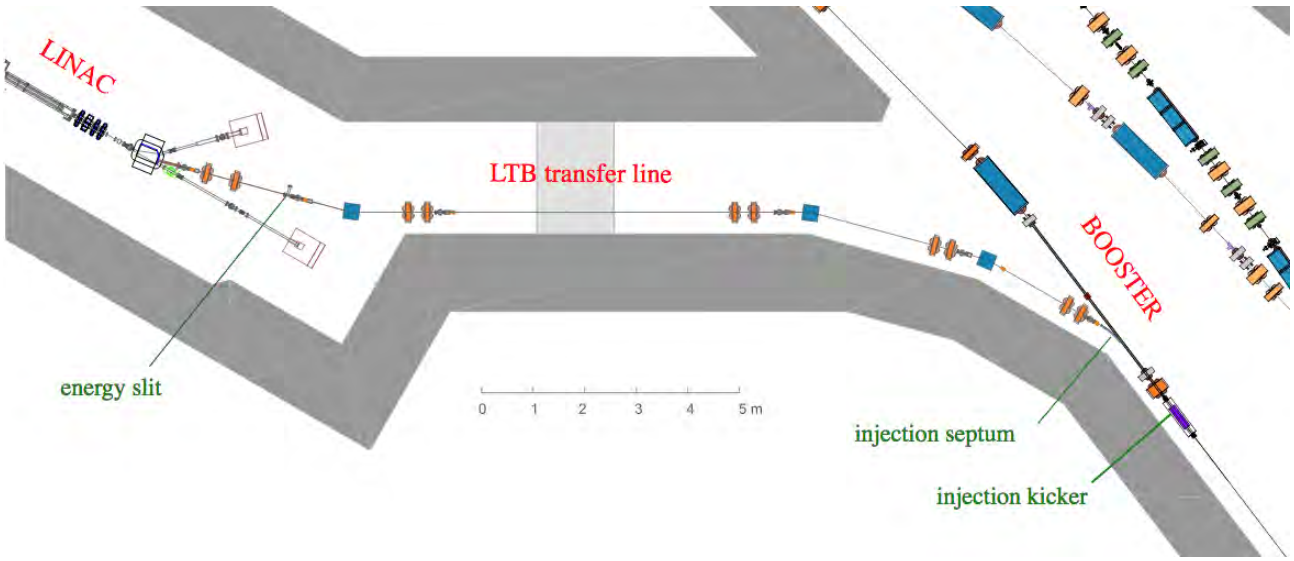


Figura 27. Desenho esquemático da Linha de Transporte Linac-*Booster* (LTB)

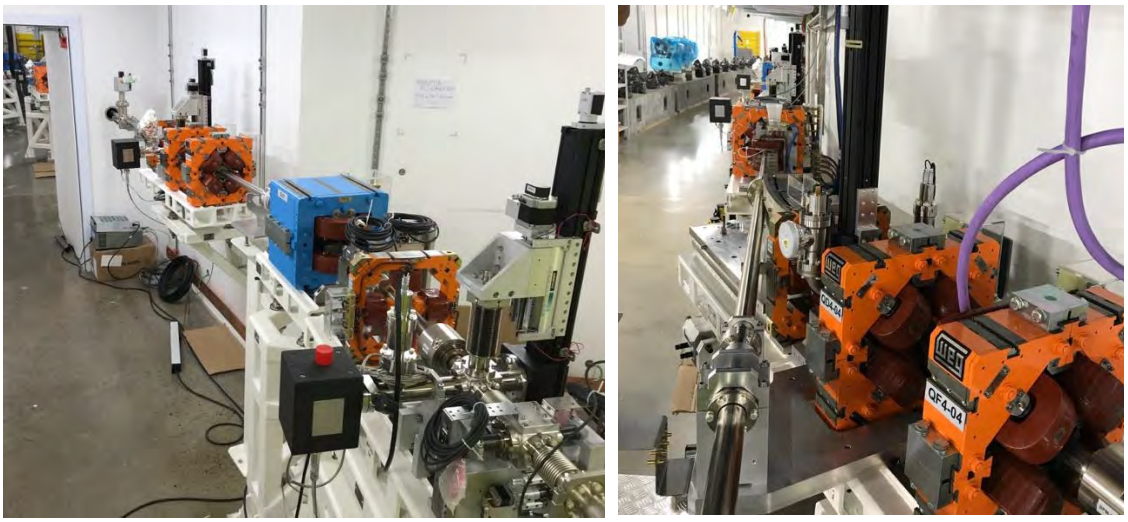


Figura 28. Montagem da linha de transporte do feixe de 150MeV do Linac ao *Booster* (LTB)

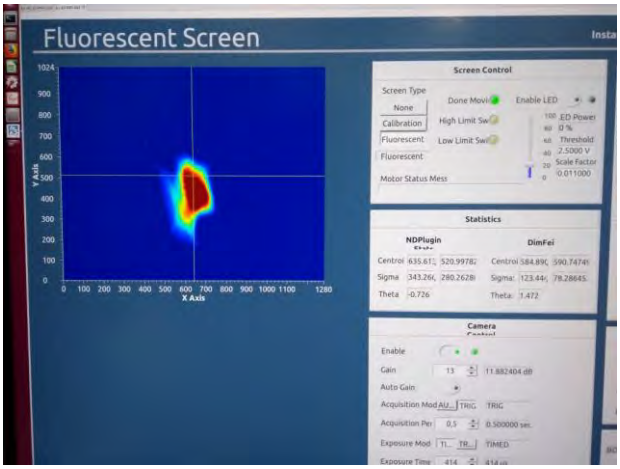


Figura 29. À esquerda, a primeira visualização do feixe de elétrons na primeira tela do *Booster*, após o *kicker* de injeção. O feixe foi produzido no Linac e transportado pela LTB. À direta, parte da equipe do Sirius

Simulações de Comissionamento do Booster em baixa energia

Foram realizadas simulações de comissionamento do *Booster* em baixa energia, desde o ajuste dos parâmetros de injeção *on-axis* do feixe como posição e ângulo de injeção e energia do *Booster*, seguida da obtenção da primeira volta dos elétrons, correção para muitas voltas e, finalmente, captura do feixe com ajuste dos parâmetros da RF. As simulações mostraram que a estratégia de ajustes utilizando as telas fluorescentes para os parâmetros de injeção do feixe e dos pulsados (*septum* e *kicker*) e os BPMs em modo *single-pass* e *multi-turn* para a primeira volta e múltiplas voltas, permitem obter feixe estocado em baixa energia no *Booster* de maneira semiautomática. Em todo o processo foram utilizados erros de acurácia realistas dos elementos de diagnóstico, além dos erros sistemáticos e aleatórios de alinhamento, excitação e multipolos dos ímãs do *Booster*.

Sistema de vácuo

Todos os modelos de câmaras de vácuo fabricados em larga escala estão prontos e armazenados aguardando o momento de instalação no túnel dos aceleradores, o que requer um ambiente limpo e a instalação de todos os eletroímãs. As câmaras e componentes especiais (componentes de diagnóstico de feixe e trecho de injeção), que totalizam 20 unidades, estão com os processos de fabricação avançados e em fase de conclusão. Esses componentes têm elevado nível de complexidade e especificações apertadas. Sendo assim, a sua fabricação e instalação foram previstas para a fase final do processo de montagem.

A montagem do sistema de vácuo do *Booster* e da linha de transporte Linac-*Booster* foi concluída e entregue no dia 19 de outubro. Na primeira semana de novembro, as pressões médias de vácuo no *Booster e* linha de transporte Linac-*Booster* estavam inferiores a $1x10^{-8}$mbar, o que é suficientemente adequado para o início dos testes de injeção do feixe de elétrons.

A seguir, é apresentada uma descrição mais detalhada do status atual dos principais componentes que compõem o sistema de vácuo do Sirius.

Anel de Armazenamento

Todas as câmaras de vácuo localizadas no caminho do feixe de elétrons estão prontas, com exceção das câmaras do trecho de injeção. No total são 520 câmaras de vácuo de 38 modelos diferentes e diversos níveis de complexidade. Somam-se a essas câmaras, os 385 *bellows* especiais com blindagem para rádio frequência de 4 modelos diferentes, sendo 5 *bellows* especiais projetados exclusivamente para o trecho de injeção. Esses 5 *bellows* especiais estão em fase de fabricação juntamente com os outros componentes especiais que fazem parte do trecho de injeção (Figura 31). Metade das câmaras e componentes do trecho de injeção já está em fase final de fabricação, faltando apenas o processo de limpeza e deposição NEG. Essas câmaras têm elevado nível de complexidade e especificações bastante rígidas, e sua fabricação e instalação estão previstas para a fase final do projeto. O trecho de injeção será o último trecho a ser montado no Anel.

Figura 30. Estações de bombeamento/*crotch absorber* (esq.) e câmaras de dipolo com saída de luz para os dipolos de alto campo (dir.)

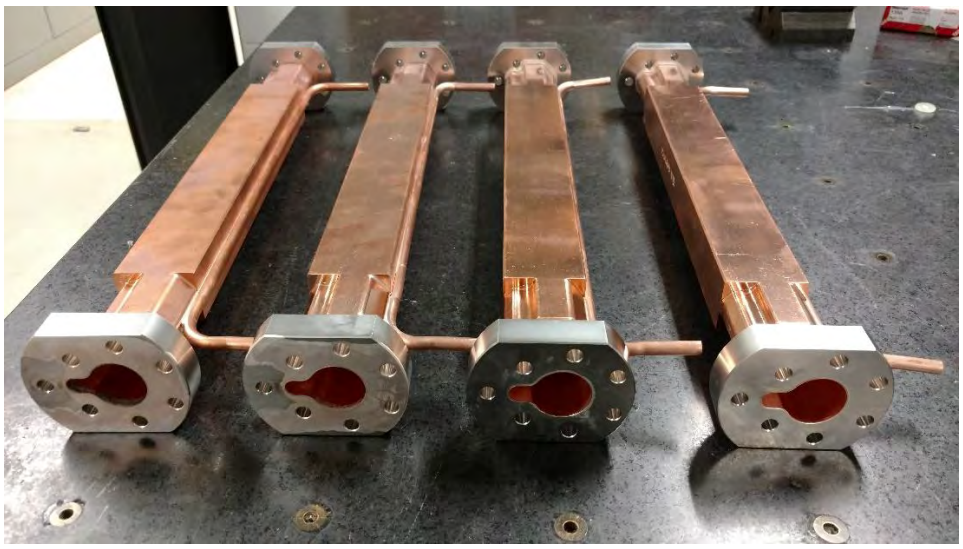


Figura 31. Exemplos de câmaras de vácuo do trecho de injeção do Anel. Modelo "Pinóquio", responsáveis por receber o feixe de elétrons da linha de transporte *Booster*-Anel

Sistema de aquecimento das câmaras de vácuo

Para a ativação dos filmes NEG que estão depositados no interior das câmaras de vácuo é necessário um aquecimento de aproximadamente 200°C por 24 horas. Para isso, foi necessário o desenvolvimento e fabricação de sistemas de aquecimento especiais que respeitam as diferentes condições de contorno de cada câmara de vácuo. O principal

desafio foi fabricar uma fita de aquecimento que se encaixasse no espaço disponível de apenas 1 mm entre as câmaras de vácuo e os eletroímãs. O LNLS projetou e desenvolveu junto à empresa brasileira Higher (com sede em São José dos Campos, SP) uma fita fina de aquecimento que satisfaz as necessidades do sistema de vácuo do Sirius (Figura 32). As fitas de aquecimento desenvolvidas têm espessura máxima de 0,4mm, tensão de operação inferior a 50V e são compatíveis com uma temperatura máxima de operação de 230°C. Para o aquecimento de todas as câmaras de vácuo do Anel foram necessárias mais de 1.600 fitas de 8 diferentes modelos, todas fabricadas e entregues.

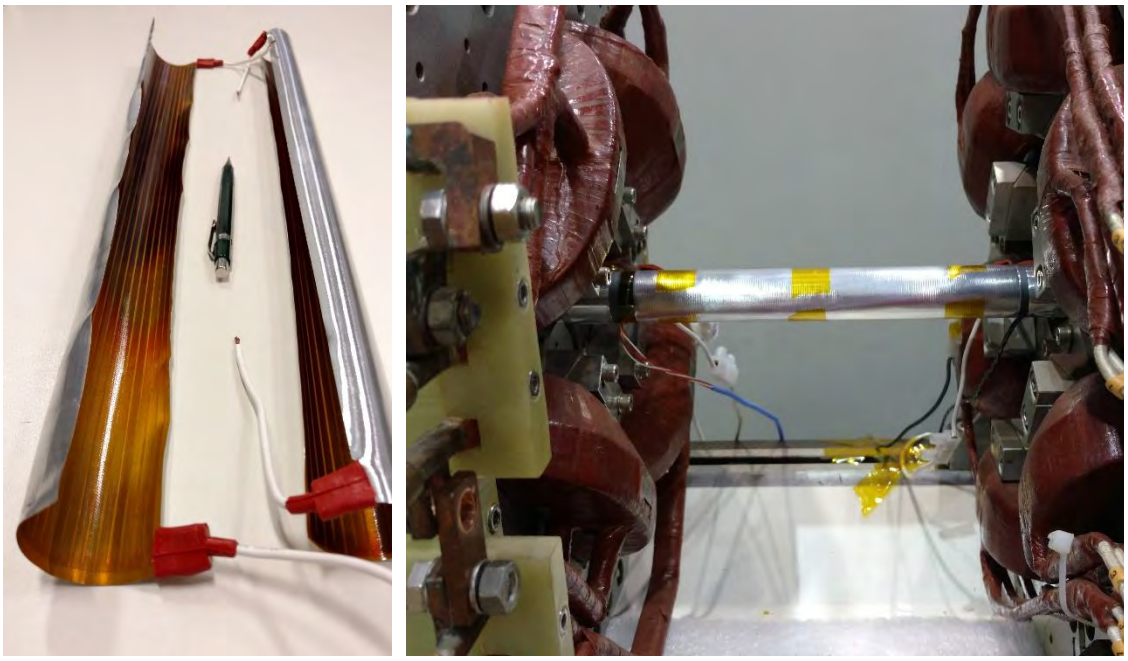


Figura 32. Fita de aquecimento desenvolvida para o Sirius, modelo padrão de 530 mm (esq.) e fita de aquecimento em testes em uma montagem real contendo diferentes modelos de eletroímãs (dir.)

Booster

A montagem de todo o sistema de vácuo do *Booste*r foi concluída e entregue no dia 19 de outubro, processo que levou aproximadamente 15 dias. A montagem deste sistema exigiu cuidados especiais com o nível de limpeza do ambiente, que devia apresentar concentração de partículas em suspensão no ar seguindo, no mínimo, a classificação de sala limpa ISO 7. Assim, todas as montagens de vácuo do *Booster* foram realizadas dentro de cabines de fluxo laminar com a classificação mencionada e as equipes de montagem tiveram que utilizar trajes de acordo com o ambiente limpo de montagem (Figura 33). Além disso, o tempo entre o início da montagem de cada trecho e o início do processo de bombeamento de vácuo teve que ser controlado de forma a ser o menor possível. Como as câmaras de vácuo do *Booster* foram condicionadas previamente e não iriam passar por condicionamento após a montagem, o tempo de exposição do interior das câmaras à atmosfera teve que ser o menor possível para minimizar a adsorção de gases e permitir atingir os níveis de vácuo especificados para o *Booster*.

Atingiu-se a pressão média nos 500 metros de câmaras de vácuo do *Booster* de $2x10^{-9}$mbar. O adequado funcionamento do *Booster* requer uma pressão média, sem feixe, inferior a $5x10^{-9}$mbar. Portanto, do ponto de vista de pressão de vácuo, o *Booster* já atingiu as especificações de projeto.

Figura 33. Montagem do sistema de vácuo do *Booster*: (esq.) frente de trabalho durante as montagens; (dir.) setor montado e com carrinhos de bombeamento conectados para bombeamento inicial do setor

Linhas de Transportes

As câmaras das linhas de transporte Linac-*Booster* e *Booster*-Anel foram finalizadas, e o sistema de vácuo da linha de transporte Linac-*Booster* foi montado e entregue no dia 19 de outubro (Figura 35), juntamente com o sistema de vácuo do *Booster*. Destaca-se que a montagem do sistema de vácuo da linha de transporte Linac-*Booster* usou os mesmos cuidados com limpeza do ambiente e critérios adotados para o Booster, ainda que não exigissem cuidados especiais tão rígidos (Figura 34).

Foi atingida a pressão média de vácuo na linha de transporte Linac-*Booster* de $3,3x10^{-9}$ mbar, sem feixe, o que já supera as especificações de projeto, que previam uma pressão média da ordem de $5x10^{-9}$ mbar. A linhas de transporte *Booster*-Anel deverá ser montada após a conclusão das montagens do Anel.

Figura 34. Montagem de vácuo da linha de transporte Linac-*Booster*

Figura 35. Esq.: Linha de transporte Linac-*Booster* montada, trecho de saída do Linac. Dir.: linha de transporte Linac-*Booster* montada, trecho de entrada no *Booster*

Câmaras de vácuo e máscaras primárias para as saídas de luz

As câmaras de vácuo responsáveis por extrair e conduzir a luz sincrotron gerada para as linhas de luz, nos primeiros metros a partir do Anel, estão em fase de deposição NEG. Estas câmaras e máscaras pertencem ao sistema de vácuo do Anel, pois não há válvulas de isolação entre as mesmas e o Anel, e devem obedecer aos mesmos critérios e níveis de exigências estipulados para o sistema de vácuo do Anel. Dessa forma, a deposição do filme NEG é necessária visando a obtenção das baixas pressões de vácuo requeridas. Ressalta-se que a maior parte dessas câmaras tem grandes variações de geometria e as suas tolerâncias dimensionais são muito apertadas para que, por um lado, elas possam ser instaladas nos espaços limitados disponíveis e, por outro, o feixe de luz não as atinja já que não são refrigeradas (Figura 37).

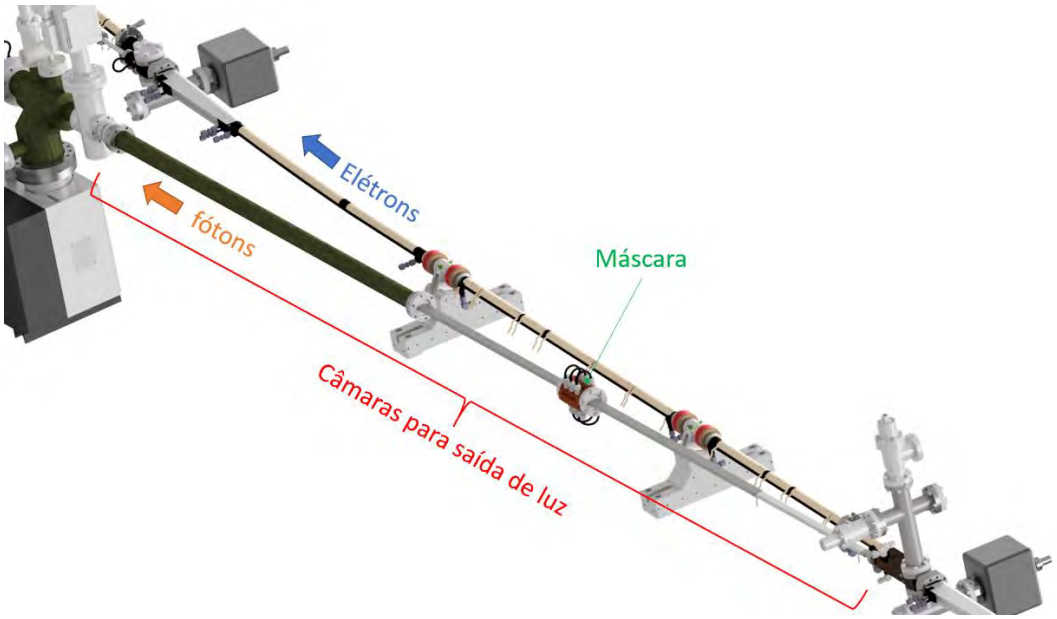


Figura 36. Ilustração de um trecho com câmaras de vácuo para saída de luz

Figura 37. Diferentes modelos das câmaras de vácuo para as saídas de luz

Estas câmaras foram fabricadas pela empresa FCA Brasil, mas não atingiram o nível de limpeza necessário para receberem a deposição NEG no LNLS. Foi preciso realizar um novo processo de limpeza criterioso e moroso para a remoção das contaminações identificadas. Por exemplo, as câmaras têm que ser submetidas a um processo de desengraxe eficiente e, posteriormente, um processo de decapagem química para a preparação das superfícies para receber o recobrimento com o filme NEG. Destaca-se que o processo de deposição NEG dessas câmaras é impactado pelas variações de geometria e dimensões transversais reduzidas.

As máscaras primárias, responsáveis por definir as dimensões do feixe de fótons que serão destinados às linhas de luz, estão prontas (Figura 38). Ao total, foram fabricadas 50 máscaras de 3 diferentes modelos feitas com uma liga especial de cobre (C18150 – CuCrZr), que tem uma maior resistência mecânica em temperaturas ambiente e altas. Isso permite a elas boa resistência mecânica a uma temperatura de 300°C, o que é importante para absorver as altas densidades de potência geradas pelo feixe de fótons.

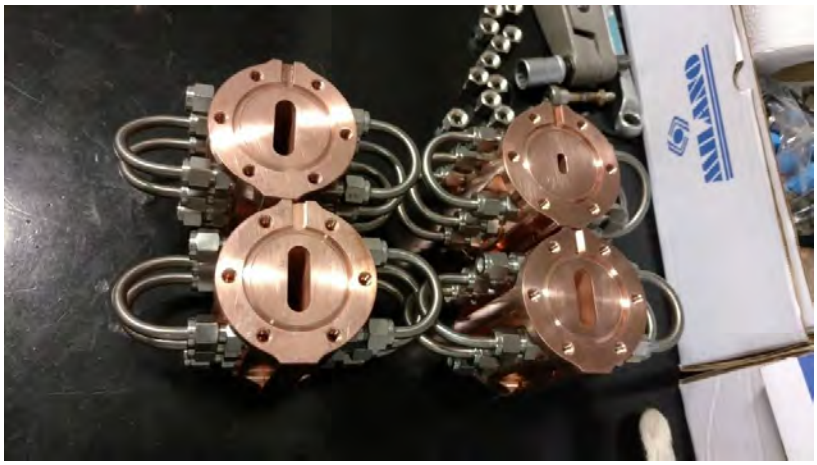


Figura 38. Máscaras primárias delimitadoras das dimensões do feixe de fótons que será entregue para as linhas de luz

A fabricação do sistema de vácuo do Anel caminhou relativamente bem e deverá ser finalizada no início de 2019, o atraso é consequência da necessidade de nova limpeza das câmaras para as saídas de luz para que recebam a deposição de filme NEG. Em resposta a isso, foram intensificados esforços para a limpeza e deposição NEG dessas câmaras – cuja grande maioria tem dimensões transversais reduzidas, tornando a deposição NEG mais difícil. O início das montagens de vácuo do Anel de Armazenamento para o primeiro trimestre de 2019, quando as câmaras para as saídas de luz estiverem prontas e todos os eletroímãs estiverem instalados.

No caso dos sistemas de vácuo do sistema de injeção do Sirius – formado pelo *Booster* e linhas de transporte –, todas as câmaras e componentes foram entregues e estão prontos para início dos testes de injeção do feixe de elétrons. Destaca-se que as pressões médias de vácuo nesses trechos atingiram ou superaram as especificações de projeto. Ainda no que se refere ao sistema de injeção do Sirius, espera-se montar o sistema de vácuo da linha de transporte *Booster*-Anel após o término das montagens do Anel.

Soldas especiais

BPM´s do Booster

Em 2018, todos os sensores dos BPM´s do *Booster* foram brasados, testados e instalados. O grupo de Vácuo foi responsável pela solda TIG dos sensores nos corpos dos BPM´s, que foram usinados por empresas qualificadas pelo grupo de Materiais.

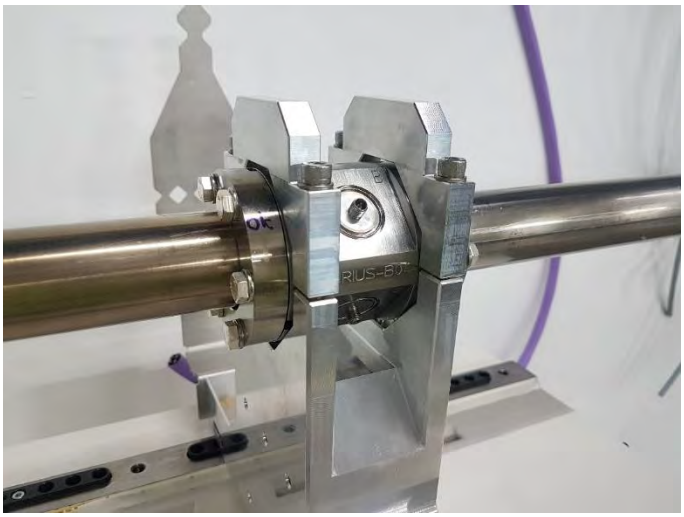


Figura 39. Monitor de posição do feixe (BPM) do *Booster* já instalado e sob vácuo. O cabeamento é feito na última etapa

Câmara de interrupção elétrica

Em 2018, foram projetadas e brasadas 4 câmaras de interrupção elétrica para o *Booster,* sendo uma já instalada e três unidades reservas (Figura 40).

Figura 40. Câmara de cerâmica com a função de interromper a corrente elétrica que percorre as câmaras metálicas, já instalada no *Booster*

BPM´s do Anel

Foi concluída a brasagem dos sensores dos BPM´s do Anel, incluindo as peças reservas, totalizando a produção de 1.000 sensores brasados e aprovados. O grupo de Vácuo foi responsável pela solda dos sensores nos corpos e o grupo de Diagnóstico foi responsável pela caracterização elétrica.

Além disso, foram concluídos o projeto e usinagem de todos corpos para os BPM´s do Anel. Os corpos foram usinados pela empresa Plustech e inspecionados em máquina tridimensional.

Por fim, concluiu-se o projeto e usinagem de todos os suportes para os BPM´s do Anel. Os suportes utilizados para fixação dos corpos dos BPM´s foram produzidos pela empresa Grupo Metal e a usinagem feita pela RDB. Ao longo do ano, todos os suportes foram entregues e submetidos à inspeção utilizando a máquina tridimensional.

Figura 41. Monitor do feixe de elétrons (BPM) no Anel, montado sobre o suporte, mostrando os *bellows* a montante e à jusante

Tratamentos térmicos de diversos componentes

Foi realizado o tratamento térmico (recozimento) a vácuo seguindo condições especificadas (200°C-2h) em diversas peças e componentes. Este processo foi executado, antes da usinagem e brasagem, nas câmaras de dipolo, estações de bombeamento e outras câmaras especais, totalizando 130 peças.

Os anéis de cobre utilizados para as montagens das câmaras de vácuo, *kicker* e outras câmaras também passaram por processo de tratamento térmico (recozimento) a vácuo. O processo foi realizado em aproximadamente 800 anéis e seguiu as seguintes condições 430°C-15min.

Desenvolvimento e aplicação de banho de ródio

Em 2018, foi concluída a eletrodeposição de ródio em 480 peças (Figura 42). O processo, desenvolvido e realizado pelo grupo de materiais, visa a melhoria de funcionamento dos *bellows* que serão instalados ao longo da circunferência do Anel.

Figura 42. uma das peças que formam o *bellows* com proteção para rádio frequência, que recebe uma camada eletro-depositada de Ródio, em um procedimento realizado no LNLS

Conclusão de brasagens

Em 2018, foi iniciado e concluído o processo de brasagem das câmaras de dipolo BC. Ao todo, 25 câmaras foram brasadas, aprovadas e entregues ao grupo de VAC.

Também foram finalizadas as brasagens em baixa temperatura (270°C) dos tubos de refrigeração nas câmaras modelo VCB1.00.1A, em um total de 25 peças.

As brasagens das estações de bombeamento (modelos VPSC1, VPSC2, VPSC3) foram concluídas, somando um total de 60 peças. Destaca-se que a geometria das estações e a quantidade de partes em cada uma exigiram quatorze (14) brasagens simultâneas.

Por fim, também foram concluídas as brasagens em alta temperatura (entre 800°C e 905°C) das câmaras SI25SW, DCCT, VCINJ, VCBBC e outras câmaras especiais.

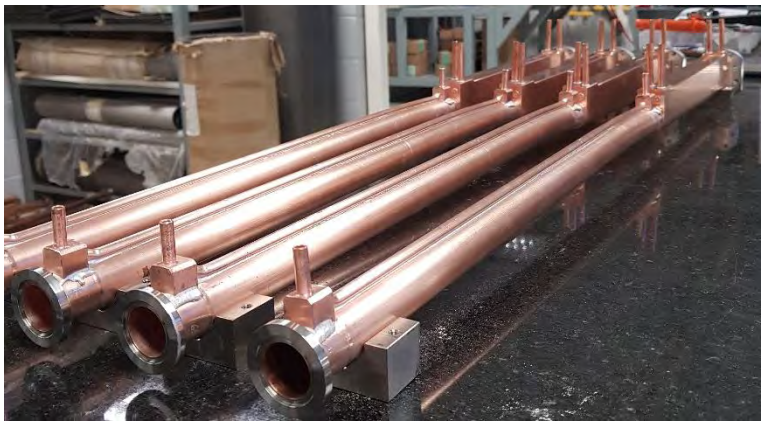


Figura 43. Últimas unidades das câmaras de vácuo modelo VCB, nas quais foram brasados os tubos de refrigeração, em um processo realizado a baixa temperatura (270°C)

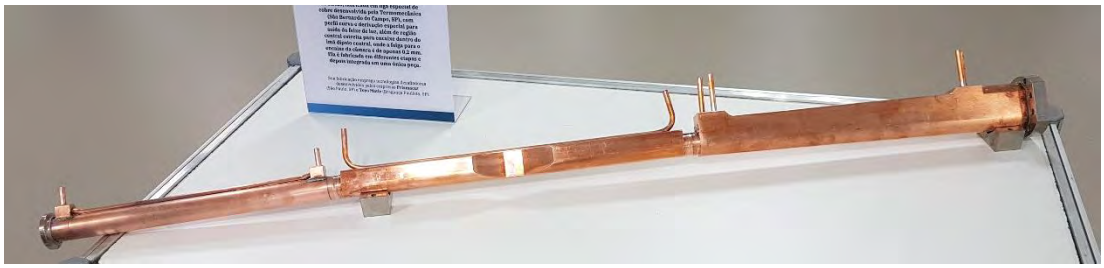


Figura 44. Câmara de vácuo do dipolo central, mostrando os tubos de refrigeração brasados na lateral e a região central com a espessura reduzida

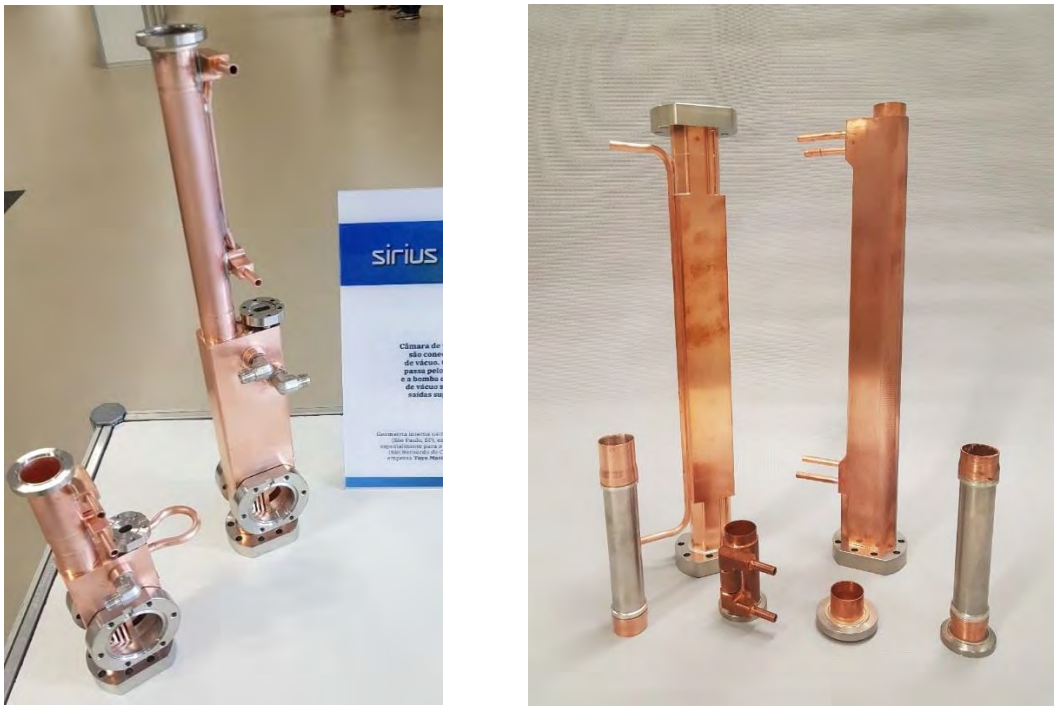


Figura 45. Estações de bombeamento do Sirius, formadas por grande quantidade de peças, que demandaram 14 brasagens simultâneas em cada uma das estações (esq.). Conjunto de câmaras de vácuo especiais do Sirius mostrando os diferentes tipos de brasagens (dir.)

Kicker Booster

Foi executado o projeto, brasagem e desenvolvimento da deposição do filme de Ti por *magnetron sputtering* nas câmaras cerâmicas do *kicker* do *Booste*r, totalizando oito (8) câmaras produzidas e aprovadas. Destas, duas câmaras foram instaladas no *Booster* como ilustrado na Figura 46.

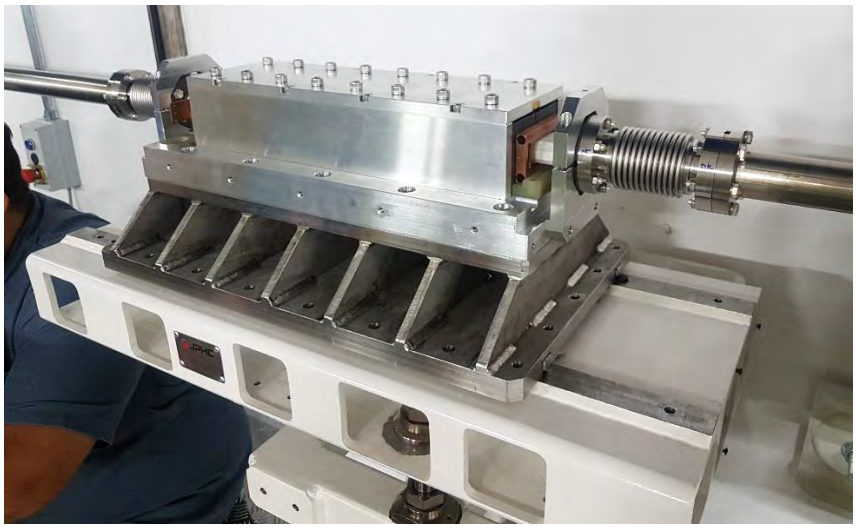


Figura 46. Magneto pulsado do tipo *kicker* finalizado e instalado no Booster

Câmara dos Kickers on-axis e não-linear

Em 2018, teve início a execução do projeto, brasagem e deposição do filme de Ti por *magnetron sputtering* nas câmaras cerâmicas do kicker on-axis do Anel. Ao todo, serão produzidas 4 câmaras, sendo uma principal e três reservas, e a instalação está prevista para o primeiro trimestre de 2019 (Figura 47).

Além disso, foi realizado o projeto, brasagem e deposição do filme de Ti por *magnetron sputtering* nas câmaras cerâmicas do *kicker* não-linear do Anel (Figura 47). Ao todo, serão produzidas 4 câmaras. As peças cerâmicas estão em processo de fabricação na Engecer, em São Carlos, e a instalação deste *kicker* está prevista para o primeiro semestre de 2019.

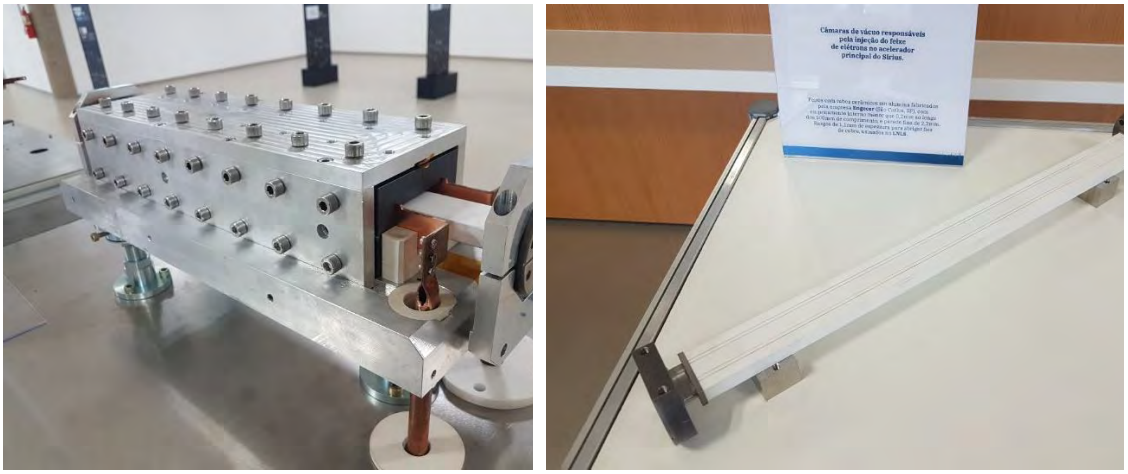


Figura 47. Magneto pulsado do tipo *kicker on-axis* em fase final de montagem, com instalação prevista para março 2019 (esq.). Câmara de cerâmica do *kicker* não-linear já com as flanges brasadas (dir.)

Magnetos

Magnetos do Booster

A rede magnética do Booster é composta por 211 magnetos, sendo 50 dipolos, 50 quadrupolos focalizadores, 25 Quadrupolos defocalizadores, 1 Quadrupolo skew, 25 Sextupolos focalizadores, 10 Sextupolos defocalizadores, 25 Corretoras Verticais e 25 Corretoras Horizontais. Em 2018, todos os 211 magnetos foram instalados em seus respectivos berços, posicionados com altíssima precisão e em local otimizado no *Booster* baseados nos resultados das medições magnéticas realizadas.

Os magnetos multipolares (quadrupolos e sextupolos) foram abertos um a um para instalação das câmaras de vácuo, que, sequencialmente, foram conectadas em ambiente apropriado e limpo para que pudesse atingir as pressões de vácuo especificadas.

Além disso, foi concluída a montagem do sistema hidráulico do *Booster* para que as válvulas de esfera, válvulas de balanceamento hidráulico e as mangueiras dos magnetos fossem conectadas. Também nesta operação, os cabos elétricos foram identificados, crimpados em suas cordoalhas flexíveis e conectados aos ímãs.

Em resumo, destaca-se que no segundo semestre de 2018 todos os magnetos do *Booster* foram ordenados, instalados, alinhados com precisão, conectados hidráulica e eletricamente, se encontram prontos para energização das fontes e *startup* final do *Booster*.

Figura 48. Berço de Quadrupolo e Sextupolo com trecho da câmara de vácuo instalada (esq.). Magneto do *Booster* em fase de conexão das mangueiras hidráulicas, cabos elétricos e sinais de intertravamento (dir.)

Figura 49. Preparação das conexões elétricas dos dipolos do *Booster*. São necessários 16 cabos de 240 mm2 cada por dipolo

Anel de Armazenamento

O ano de 2018 foi marcado pela produção de magnetos do Anel e preparações para a montagem dos aceleradores. No primeiro semestre, foi realizada a validação da pré-série dos Sextupolos do Anel e a aprovação dos protótipos dos Dipolos do Anel (B80 e B120), que tiveram sua produção liberada. Durante o período de produção dos 280 Sextupolos (S15), todos os 270 Quadrupolos (Q14, Q20, Q30) foram caracterizados magneticamente e seus dados compilados para otimização de instalação entre as famílias de fontes. Em agosto de 2018, foram concluídas as medições dos 280 sextupolos e realizadas as análises de otimização, o que permitiu o início das montagens dos berços de magnetos do Anel de Armazenamento.

Na sequência, os dipolos do Anel B120 e B80 foram recebidos e decidiu-se pela instalação e alinhamento do conjunto que compõe os dipolos no berço definitivo, o que já considera nos resultados os efeitos e interação da massa de aço carbono com o campo de borda dos dipolos. A grande vantagem desta operação é a certeza de que o campo magnético atende as especificações, além de não requerer a remontagem dos dipolos sobre o berço, restando apenas o transporte cuidadoso para o local de instalação. Destaca-se que os dipolos B120 foram todos caracterizados e transportados ao prédio do Sirius, onde serão instalados em posições otimizadas para a máquina (Figura 50).

Seguindo o mesmo conceito, os dipolos B80 estão em fase de medição magnética e também serão transferidos ao Sirius para instalação sobre os berços definitivos em posições otimizadas.

Figura 50. Início das montagens e alinhamento dos magnetos do Anel sobre os berços (esq.). Dipolo B120 sobre o berço definitivo em processo de mapeamento com sensor *hall* (dir.)

Ainda no primeiro semestre de 2018, foi finalizado o projeto do dipolo central de 3.2 T de magneto permanente, e o primeiro item da pré-série foi entregue em agosto. Após a realização de pequenos ajustes, a produção das peças críticas foi retomada e a entregue em novembro (Figura 51). As montagens dos 20 dipolos BC estão em andamento. Por questão de segurança, os dipolos BC também serão medidos em seu berço final e serão instalados quando forem iniciadas as operações de instalação das câmaras de vácuo em 2019.

Figura 51. Produção das peças para os dipolos BC (esq.). Pré-série do dipolo BC de 3.2T em caracterização magnética de validação (dir.)

Sistemas de Medição

Em 2018, também foram realizadas todas as atualizações previstas e a duplicação do sistema de bobina girante. Este processo garantiu a obtenção de um sistema completamente redundante, que permite grande agilidade e segurança nas medições.

Além disso, o sistema de medição da bancada *hall* foi otimizado. O objetivo foi permitir a medição ágil dos dipolos, otimizando o sistema de coleta, armazenamento de dados, análise de dados e verificação precisa de alinhamento.

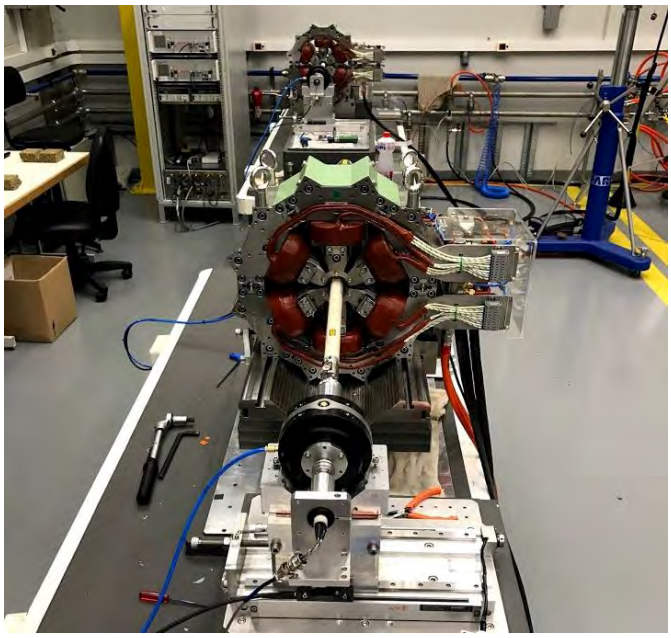


Figura 52. A bancada de bobina girante foi duplicada e as duas unidades posicionadas para otimização do processo de caracterização

Magnetos pulsados

O ano de 2018 marcou o início das instalações dos pulsados no prédio do Sirius. Foram instalados os magnetos pulsados *septum* e *kicker*, que compõem o sistema de injeção do Booster, e permitem transferir os elétrons do acelerador linear-Linac para o Booster injetor. Ademais, destaca-se a caracterização magnética do terceiro protótipo do *septum* de injeção no Anel, incorporadas as modificações na blindagem magnética que visam diminuir o campo de fuga para a especificação de projeto.

Septum e kicker de injeção no Booster

O *septum* de injeção do *Booster* é o primeiro magneto pulsado que o feixe encontra no seu longo percurso até o Anel de Armazenamento. Seu núcleo magnético de FeSi é composto por 1.000 lâminas de 0,5 mm de espessura, fornecidas pela empresa brasileira WEG. Em operação, pode produzir correntes *"full-sine"* de até 6,5 kA, com largura de pulso de aprox. 100 µs e campo magnético de 0,41 Tesla. O segundo magneto pulsado que o feixe encontra é o *kicker* que produz pulsos mais rápidos que o *septum*. Por isso, seu magneto é fabricado com ferrite especial, modelo CMD 5005 com aplicação para alta frequência. Em operação, pode produzir correntes *"half-sine"* de até 1 kA, com largura de 2,9 µs e campo magnético de 240 Gauss.

A Figura 53 ilustra a montagem do sistema de injeção no *Booster* injetor, processo que envolveu a participação de diferentes grupos do projeto (Projeto, Vácuo, Alinhamento, Diagnóstico e Controle).

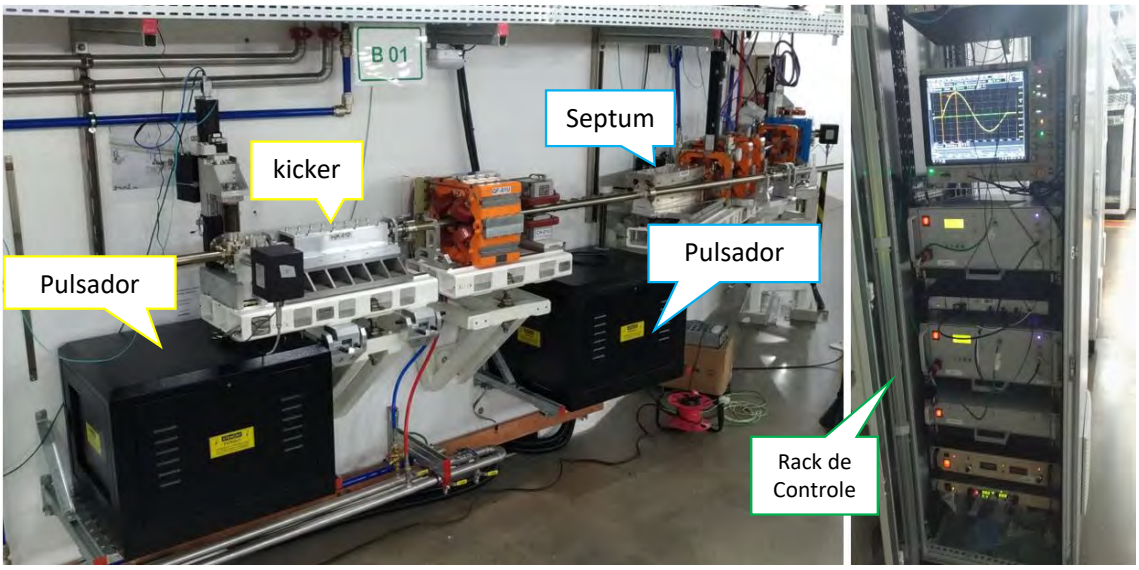


Figura 53. Magnetos *septum* e *kicker* do *Booster* injetor e eletrônicas de potência pulsadas montadas no túnel do Sirius (esq.) e *rack* de controle e monitoração instalados na sala de apoio (dir.)

Septum fino de injeção no Anel

Em 2018, o terceiro protótipo do *septum* fino foi desenvolvido e montado com melhorias na blindagem magnética com o objetivo de reduzir o campo de fuga, conforme exibido na Figura 54. A estratégia utilizada foi espaçar as camadas de FeSi da camisa que reveste a câmara de vácuo do Anel e adicionar chapas de cobre nos *"end plates"* do ímã.

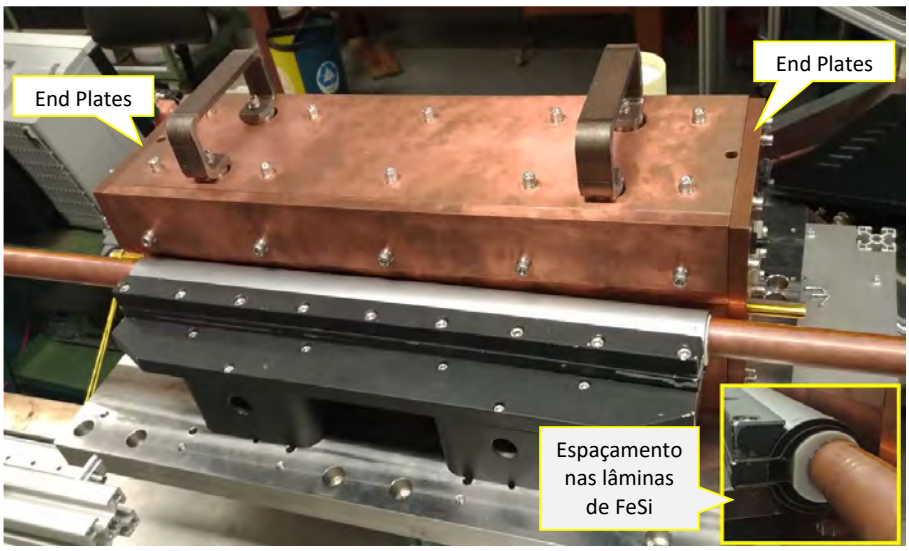


Figura 54. Versão final do *septum* fino de injeção com as melhorias na blindagem magnética.

Destaca-se que as medidas feitas na bancada de caracterização mostraram que o campo no *gap* permaneceu dentro das especificações de projeto, ou seja, 1,2 Tesla sem apresentar saturação durante a varredura Ipk x Bint (conforme Figura 55).

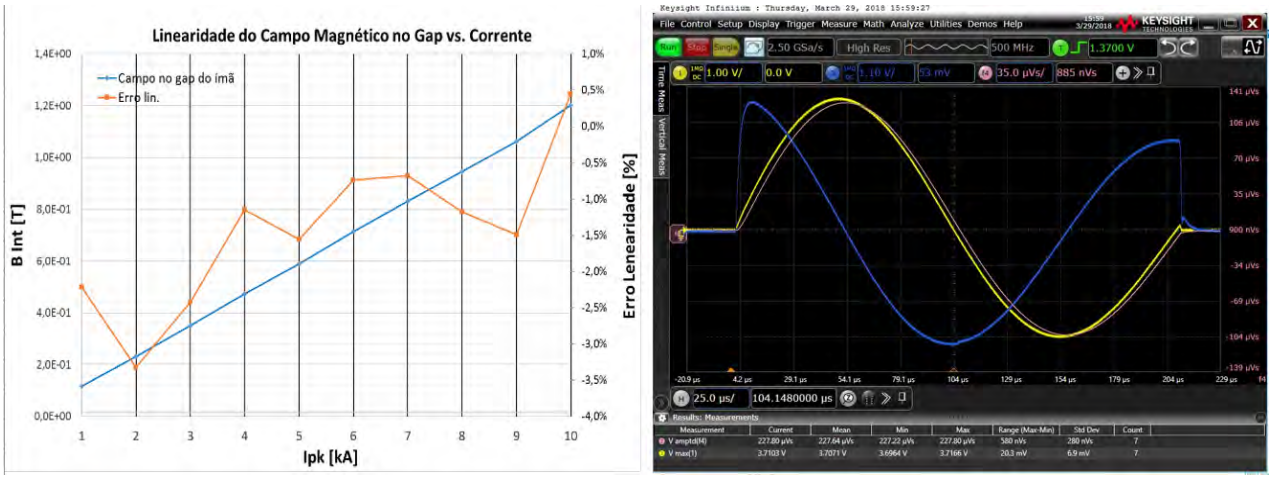


Figura 55. Gráfico da linearidade do campo no gap do ímã (esq.) e sinais obtidos na bancada de caracterização magnética (dir.). A linha amarela representa o pulso de corrente na bobina do *septum*, a linha azul representa a tensão induzida na bobina de medição

O campo de fuga medido nesta versão foi de 0,13G, o que representa uma queda de mais de 20% quando comparada a versão anterior. Entretanto, ainda não foi atingido o valor a ser alcançado para o projeto de 0,074 Gauss. A blindagem magnética adicional será feita após a montagem do magneto no túnel do acelerador. A Figura 56 apresenta a evolução da eficiência da blindagem nas três versões de projeto.

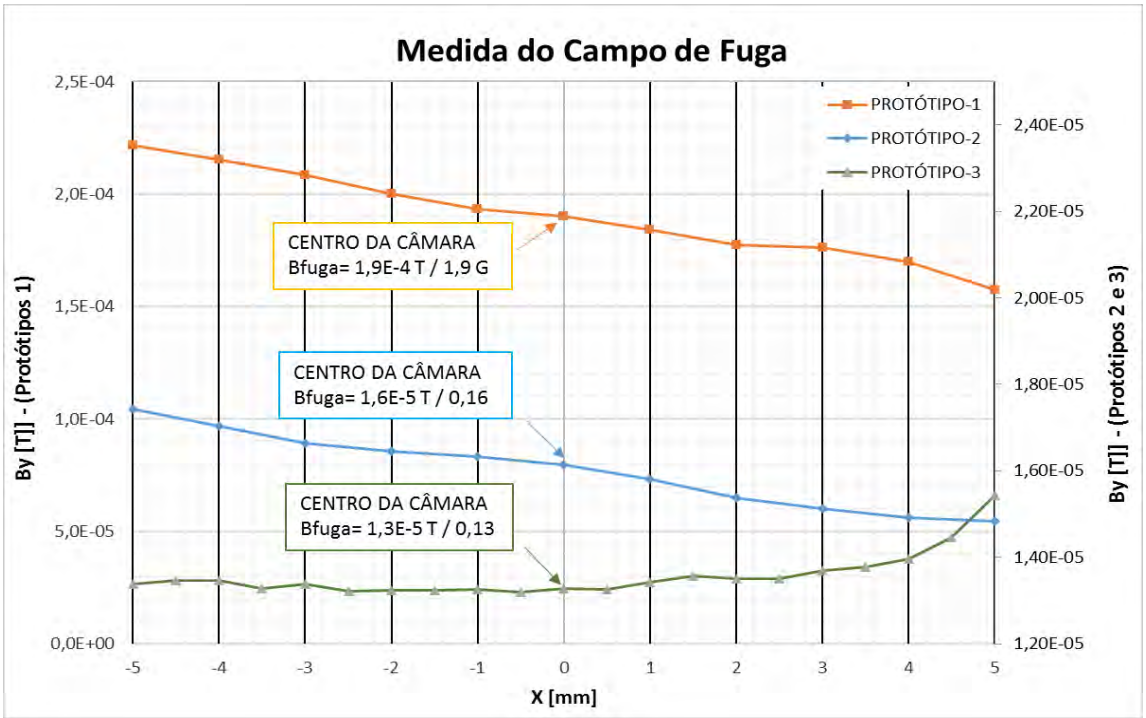


Figura 56. Gráfico das medidas do campo de fuga para os três protótipos do septum de injeção no Anel

Alinhamento

Em 2018, o Grupo de Alinhamento e Metrologia esteve envolvido principalmente na instalação dos aceleradores do Sirius, juntamente com o Grupo de Projetos Mecânicos. A instalação compreende desde etapas de preparação de infraestrutura, como rede de referência para alinhamento e furações para a fixação de *suportações* diversas, quanto a montagem de conjuntos de berços e magnetos e seu posicionamento no Anel de Armazenamento.

No primeiro trimestre deste ano, foi realizado o levantamento topográfico da rede de pontos de referência do túnel, e o resultado dessa campanha de medição pode ser visto na Figura 57.

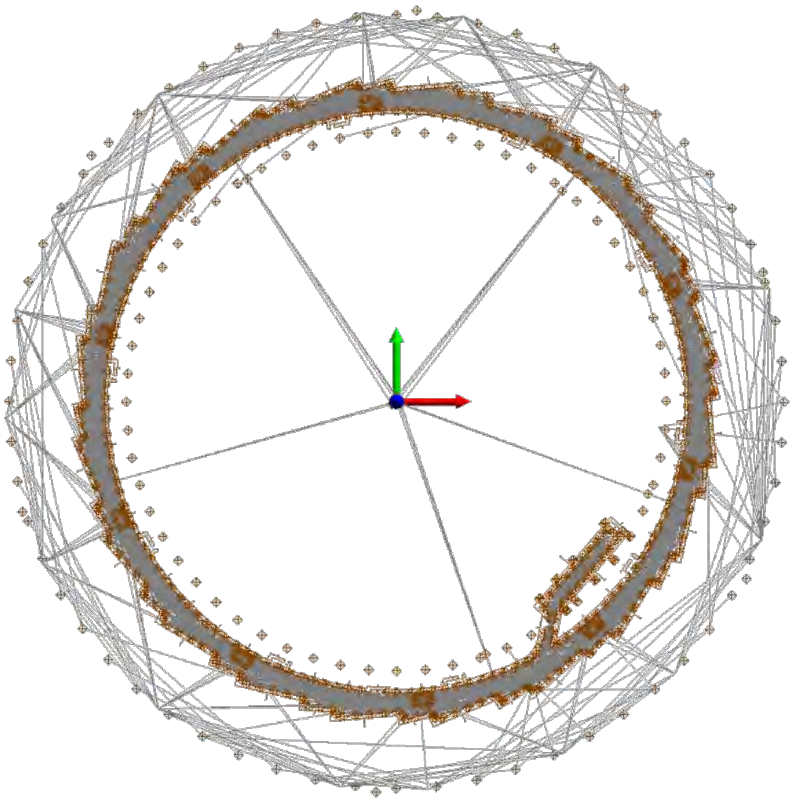


Figura 57. Rede de pontos conectando as referências externas às referências do túnel. Como referências externas foram usadas as pilastras de sustentação do Anel externo do prédio do Sirius e a transferência de coordenadas para a parte interna do túnel foi realizada através das 10 aberturas no teto do túnel

O mapeamento desta rede permitiu realizar a instalação, no seu devido lugar, de bases de concreto do Anel e de todos os componentes que compõem a estrutura que suporta os magnetos, como sapatas metálicas e niveladores mecânicos.

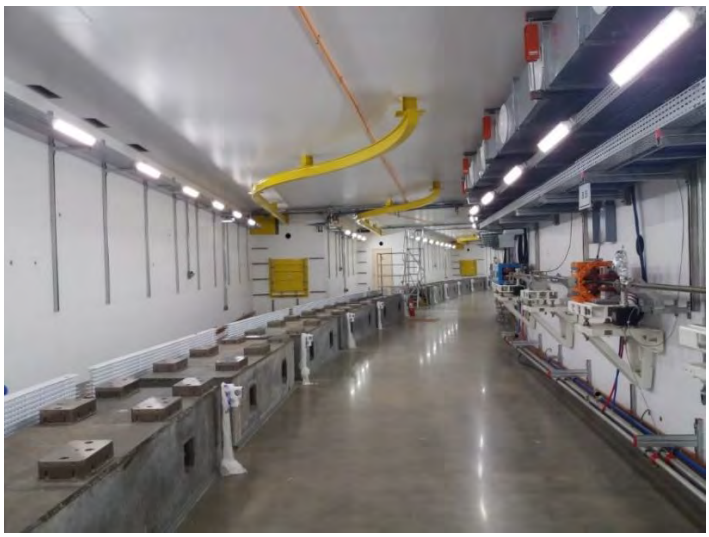


Figura 58. Imagem do interior do túnel mostrando os blocos de concreto que serão usados para suporte dos magnetos do Anel (início à esquerda) e o *Booster* montado na parede interna (dir.). Diversos pontos de referência foram instalados nas paredes, no piso, e em torno das aberturas no teto para a montagem da rede de alinhamento interna e referenciamento à rede externa

Após a instalação das mãos-francesas na parede interna do túnel, os berços e magnetos do *Booster* foram instalados e alinhados no início do segundo semestre de 2018, além da linha de transporte Linac-*Booster*. Destaca-se que todos os componentes se encontram dentro de 0,2mm de suas posições nominais.

Figura 59. Processo de alinhamento de componentes do *Booster*, mostrando o *Laser Tracker* montado sobre o tripé laranja (dir.) e o colaborador medindo a posição da cavidade de RF (centro)

No último trimestre de 2018, os esforços foram direcionados para a montagem dos berços do Anel de Armazenamento, mais especificamente os berços de multipolos. Foram utilizados dispositivos desenvolvidos internamente no LNLS para a montagem de precisão, usando a estratégia de alinhamento por construção (através da definição dimensional e geométrica dos magnetos e berços). Foram montados cerca de 50% dos diferentes modelos de berços de quadrupolos e sextupolos que constituem a rede magnética do Sirius, com desvios de posicionamento entre magnetos de +-0,010mm dentro de cada berço (Figura 60).

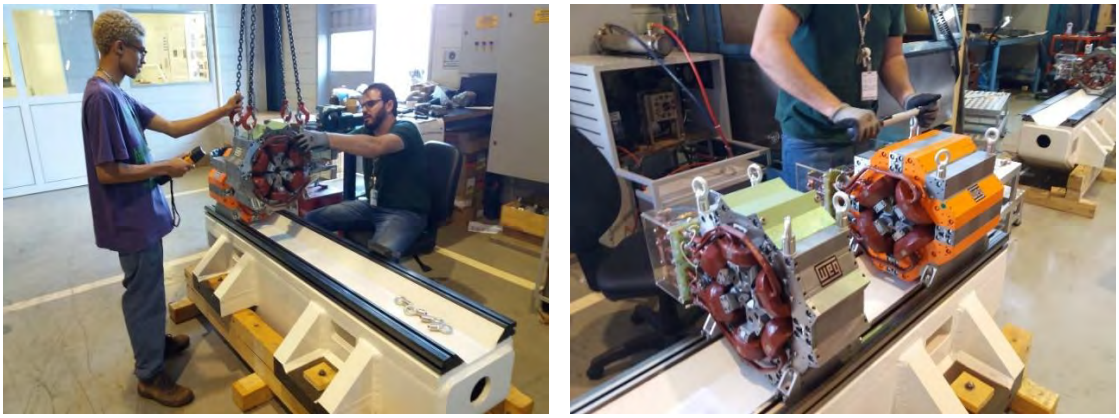


Figura 60. Processo de instalação dos magnetos multipolares sobre os berços (esq.). Detalhe da fixação do quadrupolo no berço no berço de multipolos, mostrando o uso de torquímetro para o correto aperto dos parafusos. O erro final entre magnetos vizinhos em cada berço é menor que 20 micrometros (dir.)

Os berços já montados encontram-se instalados no túnel do Sirius para dar início ao alinhamento no Anel.

Figura 61. Situação do túnel do Sirius no final de novembro de 2018, com o *Booster* completamente montado (dir.) e diversos berços de magnetos multipolares instalados no Anel (esq.)

Sistema de controle

Em 2018, as atividades do Grupo de Controle focaram na industrialização de projetos de *hardware* e desenvolvimentos de *software* para o sistema de controle do acelerador Sirius. Além disso, destaca-se o acompanhamento da equipe chinesa durante a instalação e comissionamento do Linac e início da montagem dos sistemas e testes na linha de transporte LTB e *Booster*.

SERIALxxCON

Em 2018, foram fabricadas 550 unidades do projeto SERIALxxCON, um conversor serial/ethernet de alta velocidade baseado no computador embarcado Beaglebone Black (Figura 62). Estas unidades serão distribuídas ao longo da estrutura do Sistema de Controle do Sirius, fazendo interface com sistemas comerciais e proprietários, sendo a principal aplicação as fontes de corrente dos magnetos. Também será usada para os sistemas de Vácuo, Temperatura, RF, Pulsados e Proteção Radiológica. Algumas unidades do lote piloto foram colocadas para testes no UVX e unidades finais

começaram a ser instaladas, testadas e colocadas em operação no Sirius em novembro de 2018, conforme mostrado na Figura 63.

Figura 62. Unidade finalizada da eletrônica SERIALxxCON pronta para instalação no Sirius

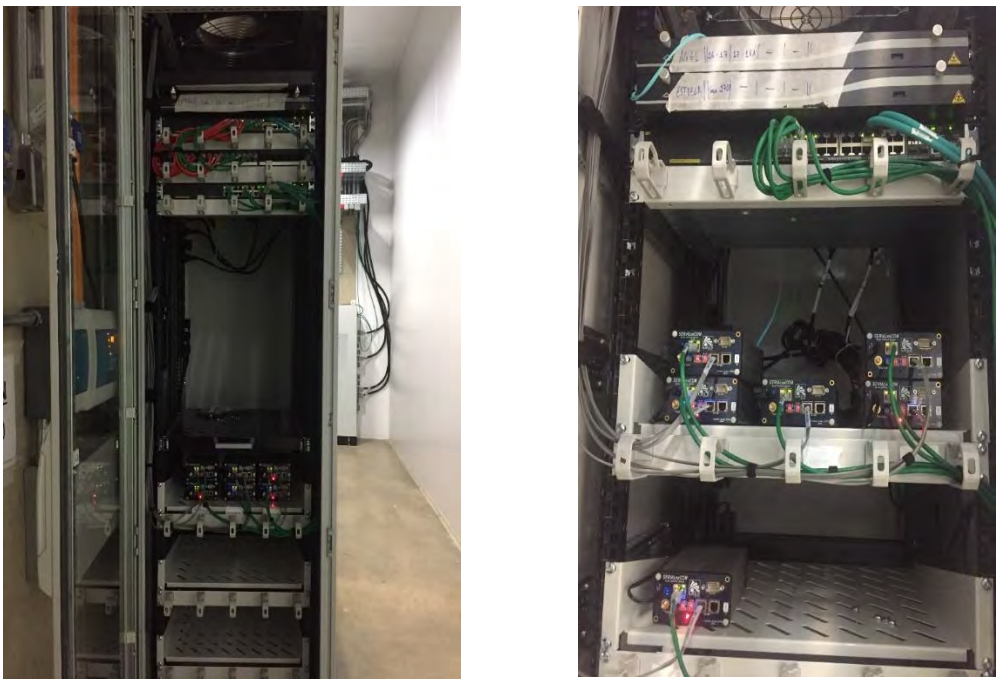


Figura 63. Racks instalados nas salas de racks 01 e 17, no Sirius, contendo caixas da eletrônica SERIALxxCON para controle de fontes, medição de temperatura e monitoramento do sistema de vácuo

SPIxCONV

Em 2018, foi consolidado o projeto da placa de interface analógica de 18 bits e diversos canais digitais, denominada SPIxCONV. Foram produzidas unidades desta placa para uso no Sistema de Controle do Sirius. Baseada no barramento SPIxxCON, a placa está

presente dentro dos bastidores de controle da Eletrônica de Potência Pulsada e seu funcionamento foi validado em conjunto com os pulsados, e os módulos se encontram instalados nas dependências do Sirius.

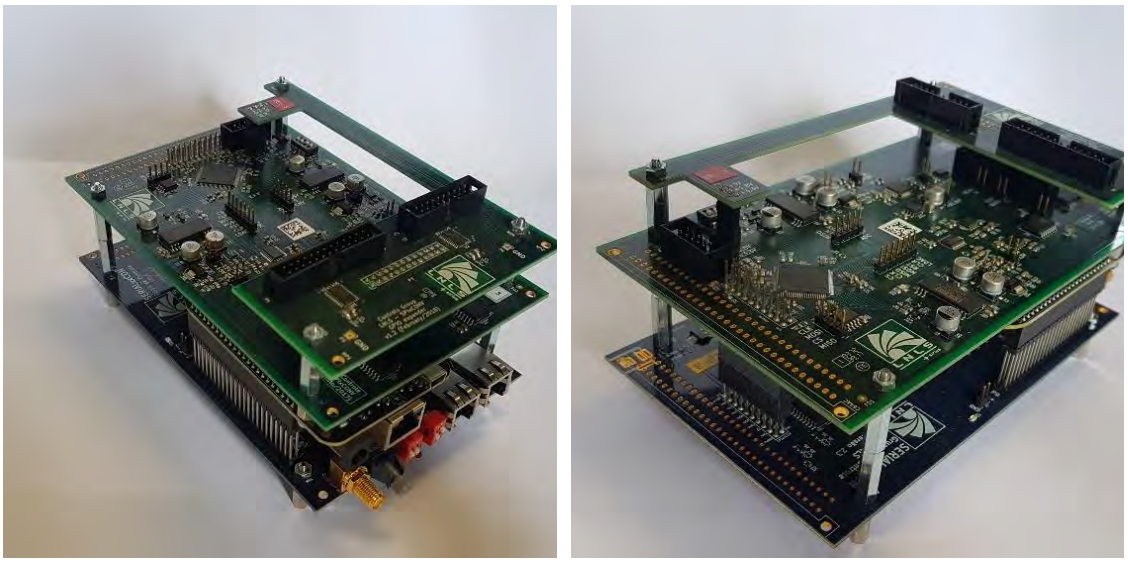


Figura 64. Placa SPIxCONV agrupada à placa SERIALxxCON, para serem instaladas no sistema de eletrônica pulsada

MBTemp

Em 2018, o projeto MBTemp foi finalizado e 400 unidades foram produzidas (*Figura 65*) para serem utilizadas em conjunto com a SERIALxxCON. Trata-se de um dispositivo para aquisição de dados de até oito sensores de temperatura Pt100 com comunicação serial RS-485. O dispositivo será utilizado para medição de temperatura em pontos estratégicos ao longo as estruturas aceleradoras (Linac, *Booster* e Anel) e nas linhas de transporte. Todas as unidades estão com o firmware gravado e calibradas.

Figura 65. Unidade finalizada da eletrônica MBTEMP pronta para instalação no Sirius

CountingPRU

A CountingPRU é uma placa para a contagem de pulsos, que pode ser utilizada para as mais diversas aplicações e possui alimentação via PoE (*Power over Ethernet*). A motivação para este desenvolvimento é a interface com dois tipos de sensores que serão utilizados no Sirius: monitores de perdas de feixa (BLMs) comerciais, que serão instalados por tempo determinado conforme necessidade pontual; detectores de gama desenvolvidos no CNPEM, presentes ao longo do Anel e instalados de forma permanente. A placa conta com oito canais (dois para BLMs e seis para sensores de gama), podendo acompanhar contagens de até 14.29MHz. Ao longo de 2018, foi realizada a finalização de projeto, protótipos e testes da placa no UVX, e 150 unidades foram fabricadas e estão disponíveis para instalação no Sirius (Figura 66).

Figura 66. Unidade finalizada da eletrônica CountingPRU pronta para instalação no Sirius

Vacuum Beaglebone Controller (VBC)

Diante da necessidade de automatizar o processo de bombeamento (com ou sem aeração com nitrogênio) das câmaras de vácuo do Sirius, o Grupo de Vácuo desenvolveu em 2018 o hardware, software e interface gráfica do *Vacuum Beaglebone Controller* (VBC). Baseada na Beaglebone Black, a interface controla válvulas, bombas e sensores através do EPICS, otimizando as etapas realizadas durante o bombeamento. Foram produzidas 10 unidades do sistema, uma para cada carrinho, que já estão em uso.

Figura 67. Unidade finalizada da eletrônica do VBC pronta para instalação nos carrinhos de bombeamento

Sistema de Baking para o Anel

Em 2018, foi finalizado o projeto das gavetas de *baking* para as câmaras de vácuo do Anel de Armazenamento do Sirius (Figura 68). Neste sistema, cada gaveta contempla oito canais de controle que deverão medir a temperatura das fitas de aquecimento indiretamente, através de medidas de resistência das mesmas. Foram produzidas dez unidades, sendo que uma delas já está em uso para testes gerais no laboratório do grupo de Vácuo. Além disso, estão em andamento ensaios colaborativos (com os grupos VAC e IMA) no hall do prédio IMAS II. O objetivo destes ensaios é a obtenção de um valor ideal do coeficiente de variação da resistividade da fita em função da temperatura.

Figura 68. Gaveta de *baking* em processo de calibração (esq.) e bancada de testes com diferentes fitas de aquecimento montadas nos magnetos e duas gavetas operadas simultaneamente

Monitores de radiação

Em 2018, foi finalizado o sistema de aquisição de dados das estações móveis para monitoração de radiação gama e nêutrons, realizado em colaboração com o Grupo de Proteção Radiológica do Sirius. Destaca-se que cinco estações móveis estão em operação e desempenharam um papel importante nos períodos de comissionamento do Linac e da linha de transporte LTB, atestando, através de suas medições, a segurança dos locais de livre circulação no prédio do Sirius.

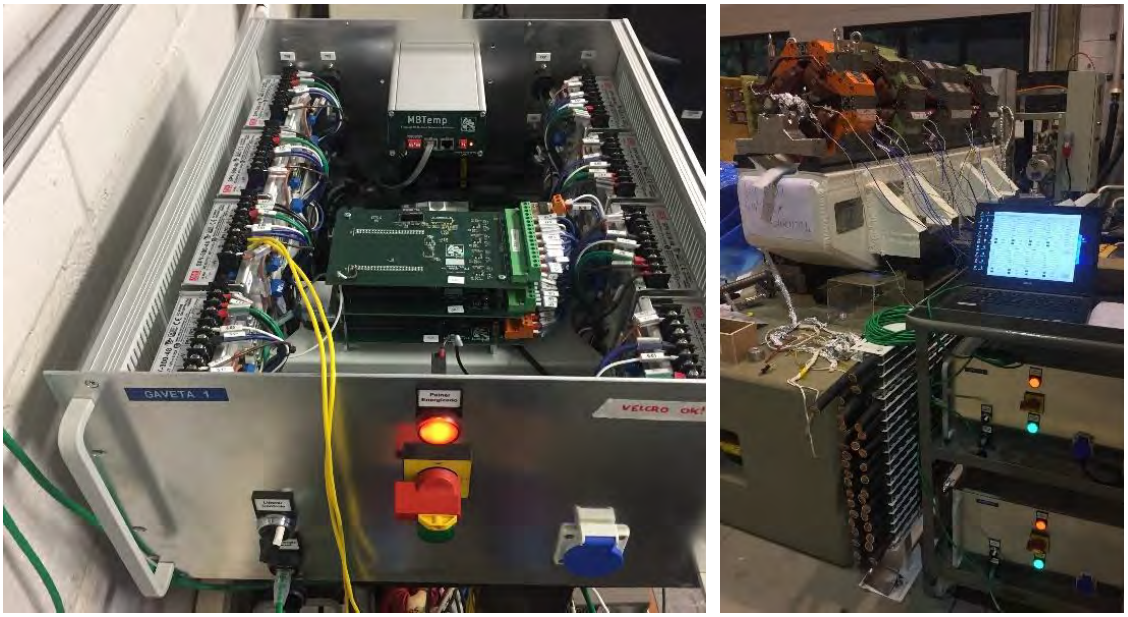


Figura 69. Carrinho de bombeamento equipado com a eletrônica VBC (esq.) e tela de operação do sistema (dir.)

IOCs e supervisórios para sistemas diversos

Ao longo de 2018, foi realizado o refinamento de vários IOCs (*Input/Output Controllers*) EPICS, componentes de software que possibilitam a comunicação com os diversos equipamentos da máquina a partir da sala de controle. Além disso, também foram desenvolvidas várias telas para supervisão e controle de equipamentos, por exemplo para as fontes de bomba iônica dos sistemas de vácuo do Sirius.

Conectividade e servidores

Os *switches* e o material para cabeamento metálico e de fibra óptica da rede de computadores do sistema de controle do Sirius foram recebidos dos fornecedores. A instalação da rede teve um bom avanço ao longo do ano, com o lançamento e conectorização de cabos e *switches* entrando em operação. Parte da rede já está funcional, tendo sido fundamental para o comissionamento do Linac e da linha LTB. A

instalação da rede de controle do Sirius continua em andamento e deverá ser finalizada no primeiro trimestre de 2019.

Ademais, os servidores que executam aplicações de suporte ao sistema de controle da máquina tiveram seu processo de configuração concluído. Estes equipamentos estão em operação em um local provisório, enquanto aguardam a finalização da infraestrutura de cabeamento para serem instalados em seus locais definitivos no novo prédio, o que irá ocorrer em breve.

Sistema de Rádio Frequência

Em 2018, foram realizados os preparativos para a instalação dos sistemas de radiofrequência (RF) da primeira fase de operação do Sirius. Foi desenhado e adquirido todo o sistema de suporte dos guias de onda, desde a cavidade até o amplificador de RF, assim como os leitos de suportes de cabos conectando a cavidade aos *racks* de controle do sistema de RF. Também foi realizada a instalação dos mezaninos que suportarão os circuladores e cargas das linhas de transmissão que conectam os amplificadores às cavidades de RF, localizados na sala onde serão instalados amplificadores de alta potência e os sistemas de controle. Os componentes de guia de onda para as linhas de transmissão que conectam os amplificadores às cavidades de RF foram recebidos e estão armazenados aguardando a instalação no Sirius. Além disso, os circuladores e cargas de alta potência para os dois sistemas foram recebidos e devem ser testados na instalação definitiva na sala de RF do Sirius.

No primeiro semestre foram finalizados os testes dos componentes do sistema de RF do *Booster* no laboratório de RF. O amplificador de 50 kW e a cavidade haviam sido testados e comissionados em 2017 e, em 2018, foram testadas as eletrônicas do sistema de RF de baixa potência. Também foram finalizados os programas de controle de alto nível dos amplificadores e do sistema de baixa potência.

A cavidade de RF do Anel de Armazenamento foi recebida e colocada em vácuo. Trata-se de uma cavidade de 7 células que operou por muitos anos no Anel colisor PETRA do laboratório DESY, na Alemanha, de quem ela foi adquirida. A cavidade foi testada em até 100 kW de potência nas instalações do DESY antes de ser enviada para o CNPEM, e será utilizada para o comissionamento e primeiros testes do Sirius, até que as cavidades supercondutoras definitivas sejam instaladas. Em 2018, foi assinado o contrato para a aquisição das cavidades supercondutoras e foram realizadas as reuniões técnicas para a definição do projeto dos módulos criogênicos das cavidades. Estas cavidades foram desenvolvidas para o colisor CESR da Universidade de Cornell, nos Estados Unidos, sendo utilizadas em várias fontes de luz, mas o projeto tem que ser adaptado para cada instalação. A previsão é de que as cavidades sejam instaladas no Anel de Armazenamento no primeiro semestre de 2020. A escolha por cavidades supercondutoras se deu tanto porque serão necessárias apenas duas para manter o feixe na corrente nominal de operação, quanto por questões relacionadas com a estabilidade do feixe de elétrons.

Ao longo do ano foram montadas as duas torres amplificadoras que alimentarão a cavidade do Anel. As torres têm uma topologia diferente da torre do *Booster*, que segue um projeto muito similar às torres amplificadoras em operação no Anel UVX. A nova arquitetura substitui a fonte de alta potência, que alimenta os módulos amplificadores, por uma combinação de fontes de baixa potência, agregando mais modularidade e redundância ao sistema. As torres operam em 500 MHz e têm potência nominal de saída de 60 kW cada uma. Como resultado das modificações, a área ocupada pelo amplificador foi reduzida em mais de 50% quando comparada à área necessária para a instalação do amplificador do *Booster*. Em 2018, uma das torres foi completamente testada, operando na potência nominal por algumas semanas sem apresentar problemas. A segunda torre está em testes de alta potência. A versão final do sistema de intertravamento dos circuitos de RF, baseado no mesmo CLP adotado para o sistema de proteção do Sirius, está sendo testada com a segunda torre. O sistema de RF de baixa potência do Anel de Armazenamento está sendo montado em uma versão modificada que otimiza a distribuição de componentes e conexão entre os vários bastidores do sistema.

De forma geral, destaca-se que os sistemas de RF do Sirius estão quase prontos para instalação e testes. Falta finalizar os testes do segundo amplificador, a montagem de alguns bastidores do sistema de baixa potência do Anel de Armazenamento e a finalização da central de intertravamento do sistema de RF do Anel.

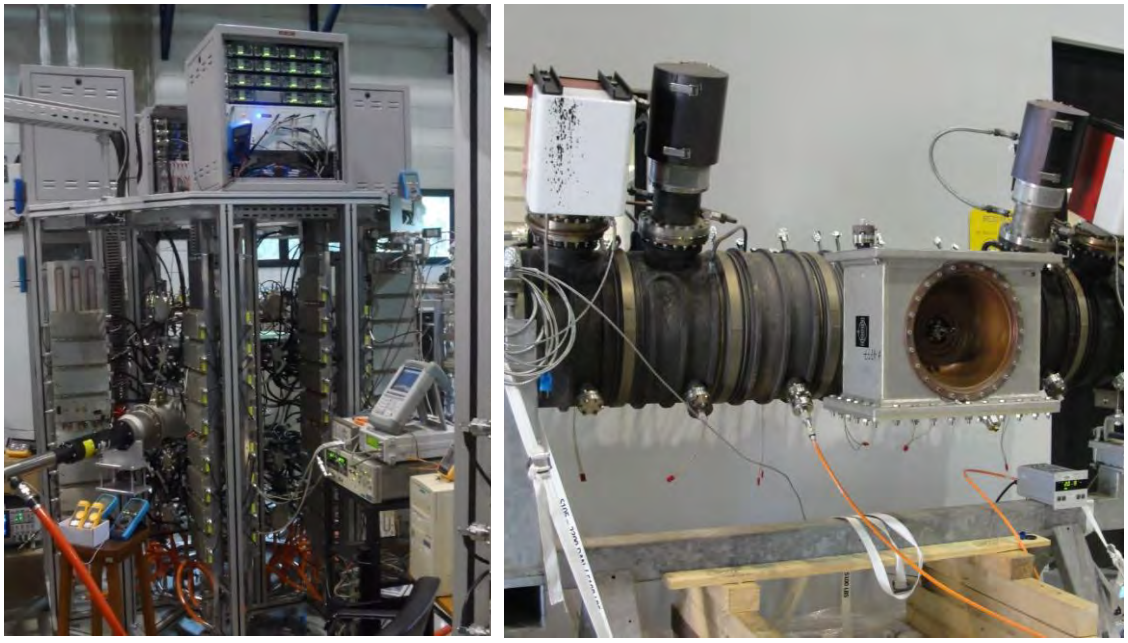


Figura 70. Torre do amplificador de 60kW do Anel de Armazenamento em comissionamento na área de RF (esq.). Cavidade de RF do Anel de Armazenamento, em vácuo, pronta para ser instalada (dir.)

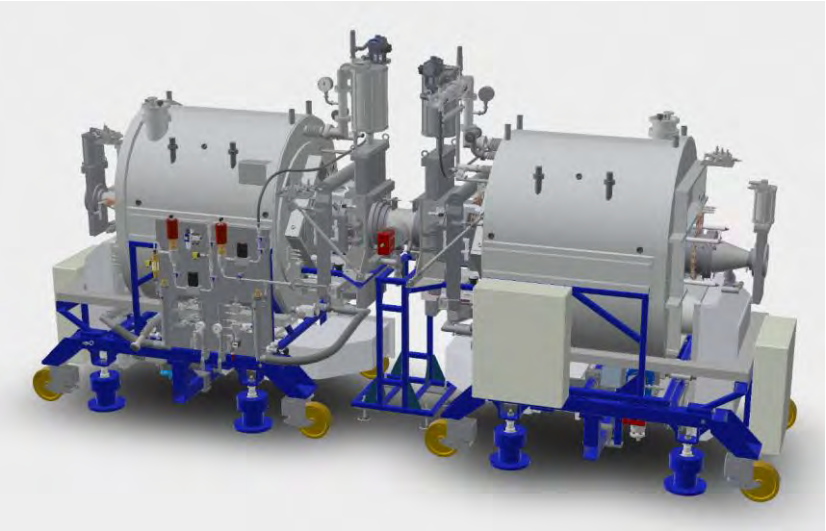


Figura 71. Projeto final das cavidades supercondutoras do Sirius, adequado para que possam ser instaladas no espaço disponível no trecho reto do Anel de Armazenamento

Diagnóstico de feixe

O sistema de diagnóstico de feixe é composto por centenas de sensores e tem a função de medir e registrar características do feixe – como posição, intensidade, sintonia e perfis transversais e longitudinais dos feixes de elétrons e de fótons. Em 2018, foram realizadas as montagens finais dos 27 *racks* de eletrônicas para diagnóstico de feixe – dos quais 22 são dedicados para monitores de posição de feixe (BPM) e sistema de correção de órbita rápida. Além disso, foram produzidos 11 monitores fluorescentes para monitoramento de perfil transversal do feixe, 6 *striplines* para *Booster* e Anel, 1 *scraper* e 2 fendas.

Os 22 racks de eletrônicas de BPM foram recebidos da empresa contratada (ATMOS Sistemas) para fazer a integração das diversas eletrônicas que compõem o sistema e testados no LNLS para aceitação final. O *setup* de testes pode ser visto na Figura 72. No total, 249 eletrônicas de BPM foram testadas e atingiram as especificações de projeto. As taxas de falha dos componentes individuais do sistema foram inferiores a 2,5%, e as unidades em falha foram substituídas por reservas.

Figura 72. *Racks* de eletrônicas de BPM sendo testados antes de serem enviados para instalação no Sirius (esq.) e *rack* de eletrônica de BPM já instalado na sala de instrumentação 18

Os demais *racks* de Diagnóstico, dedicados para a medição da corrente do feixe de elétrons em diversos pontos dos aceleradores e em diversas escalas de tempo (de horas a poucos nanossegundos), medida das frequências de oscilação betatron dos aceleradores circulares (sintonia) e sistema de *feedback* pacote-a-pacote, foram montados e testados pela equipe do LNLS e se encontram prontos para instalação no Sirius.

Além disso, foi realizada a instalação completa dos elementos de diagnóstico e dos respectivos cabeamentos ao longo da linha de transporte LTB e do *Booster*. Alguns exemplos podem ser vistos na Figura 73.

Figura 73. Monitor fluorescente e *pick-up stripline* instalados na linha de transporte LTB (esq.). *Pick-up stripline* instalado no *Booster* (cen.) e sensores ICT e FCT instalados na linha de transporte LTB (dir.)

Por fim, foi finalizada a versão base (*baseline*) dos softwares responsáveis por controlar os instrumentos de diagnóstico remotamente via supervisório EPICS e automatizar os processos de medida. Este desenvolvimento permitirá comissionar os aceleradores (Figura 74).

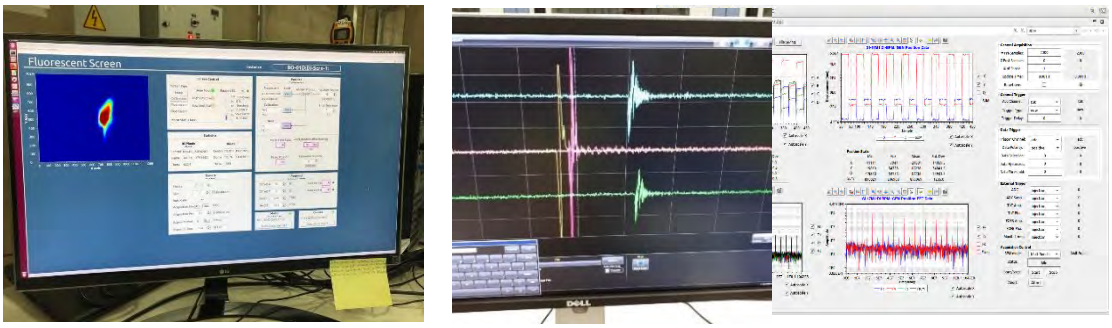


Figura 74. Interface gráfica de um dos monitores fluorescentes durante o comissionamento da linha de transporte LTB (esq.); Tela do osciloscópio conectado à striplines da linha de transporte (cen.) e interface gráfica para leitura dos BPMs (dir.)

Fontes de corrente

Fonte de Baixa Potência (FBP)

No início de 2018, foram concluídos os testes com o lote piloto das fontes FBP, que foi considerado aprovado. Assim, deu-se início a produção final destas fontes pela empresa WEG.

No entanto, quando as primeiras placas de DCCTs começaram a ser testadas foi observado um alto índice de falhas, da ordem de 5%. Após a análise das falhas, concluiu-se que 3 dos 5 lotes de DCCTs produzidos pela empresa LEM estavam com problemas de fabricação. As unidades destes lotes foram retornadas para a empresa para reparo e/ou substituição. As unidades dos demais lotes foram usadas na fabricação da quantidade de fontes FBP necessárias para o início da operação do Sirius, as quais foram entregues até julho de 2018. A partir de então estas fontes começaram a ser testadas, e em novembro as primeiras unidades foram instaladas na linha de transporte Linac-Booster (fontes de corretoras e quadrupolos) e já estão em operação. As fontes FBP que alimentarão as corretoras do *Booster* estão em fase de instalação.

Fonte de Alta Potência (FAP)

No início de 2018, foram finalizados os testes com as 5 unidades do módulo de potência do lote piloto FAP, que teve resultados satisfatórios. Dessa forma, teve início a produção do lote final de 55 unidades, realizada pela empresa Hensys. Em maio as últimas unidades foram entregues e testadas.

Entre setembro e outubro de 2018, 13 unidades destes módulos de potência foram integradas aos demais componentes para formar as fontes de dipolos das duas linhas de transporte e dos quadrupolos da linha de transporte Booster-Anel. A fonte dos dipolos da linha de transporte Linac-Booster entrou em operação em novembro de 2018, já as fontes de quadrupolos estão instaladas e aguardam a instalação de seus respectivos magnetos. Por fim, a fonte dos dipolos da linha de transporte Booster-Anel terão seus testes finalizados e as demais fontes FAP, que serão usadas para alimentar os magnetos do Anel de Armazenamento, devem começar a ser integradas no início de 2019.

Fonte Ciclantes (FAC)

Em janeiro de 2018, foram finalizados os testes com o lote piloto dos estágios FAC que foram aprovados para produção e entregues ao LNLS em maio deste ano. Os estágios de entrada, saída, e banco de capacitores foram montados pela empresa UPSYN, e o estágio retificador foi montado pela empresa HENSYS. Entre junho e novembro, foram iniciados e finalizados os testes de cada estágio individualmente. A medida que os estágios foram testados, foi realizada a integração deles, formando os módulos FAC que foram novamente testados.

Os 8 primeiros módulos foram integrados de forma a montar uma das fontes dos dipolos do *Booster*, que foi testada ao longo dos meses de setembro e outubro. Após os testes, esta fonte foi desmontada e transportada para o Sirius, juntamente com a segunda unidade. As próximas atividades são a instalação e comissionamento da fonte.

Além disso, a integração e testes das fontes de quadrupolos e sextupolos do *Booster* está em fase de finalização.

Figura 75. Primeira das duas fontes de dipolos do *Booster* já instalada na sala de fontes do Sirius

Proteção de máquina e proteção pessoal – sistema de intertravamento

O sistema de intertravamento do Sirius baseia-se em *hardware,* da Rockwell, tanto para a proteção da máquina - MPS (*Machine Protection System*), quanto para o a proteção pessoal - PPS (*Personal Protection System*).

Em 2018, foram desenvolvidos 25 painéis, que estão distribuídos ao redor do acelerador com as rotinas de controle e os módulos de visualização das IHMS. Estes painéis estão em fase de *startup* e otimizações.

Além disso, todos os sinais do sistema de proteção de máquina do *Booster* foram conectados e, com o *startup* dos painéis, serão incluídos nas rotinas de operação. Para tanto, as caixas de passagens do *Booster* e salas de *racks* foram instaladas e conectadas. A rede *ethernet* se encontra em fase inicial de configuração de IPs e avança com a liberação de infraestrutura de redes.

Destaca-se que todo o sistema de intertravamento está pronto, restando a inclusão de sinais e validação das lógicas, o que será feito de acordo com a instalação do Anel.

Figura 76. Painel para as conexões remotas do sistema de intertravamento pronto para ser instalado (esq.). Painel central do sistema de intertravamento (dir.)

Proteção Radiológica

Em 2018, foram concluídas todas as simulações necessárias para os projetos de blindagens radiológicas do Sirius, contando com o uso intensivo do supercomputador Santos Dumont, do Laboratório Nacional de Computação Científica (LNCC), em Petrópolis, RJ. Alguns resultados das simulações são mostrados na Figura 77 e Figura 78.

Além disso, praticamente todas as blindagens localizadas do Anel para a primeira fase de operação (corrente até 50mA) foram projetadas, fabricadas e instaladas.

Foram adquiridos monitores de radiação e desenvolvido o sistema de comunicação com os monitores. Mais da metade de todas as sondas de monitoramento de radiação, gama e nêutron, previstas para todo o projeto já estão no Sirius. Conta-se com 8 estações móveis (*trolleys*), operando e ligados ao supervisório, este último em versão preliminar.

Também já está no Sirius um leitor de dosímetros OSL (luminescência estimulada opticamente), última tecnologia em dosímetros de leitura indireta. Ao todo, são 200 dosímetros.

Por fim, com o recebimento de feixe no Linac e linha de transporte LTB, foi constatada a necessidade de inclusão de mais um anteparo de blindagem ao lado do espectrômetro, que foi instalado em 2018.

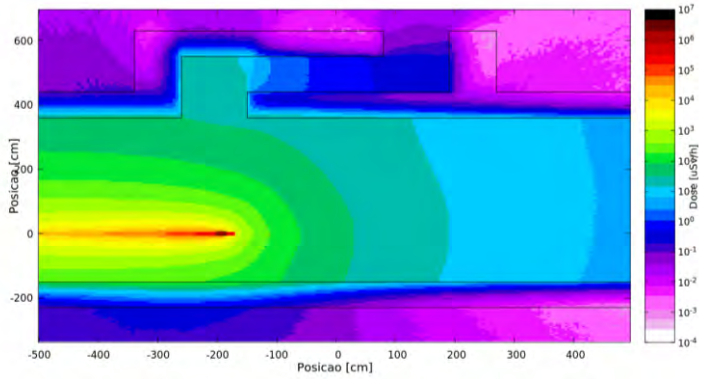


Figura 77. Simulação de perda de feixe próximo à chicane de entrada no túnel mostrando as doses de radiação (uSv/h) em diferentes regiões

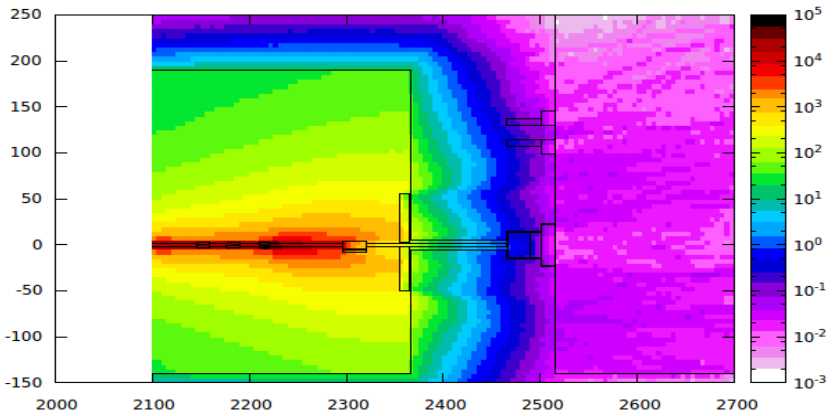


Figura 78. Simulação da eficiência de blindagem do bloqueador de radiação em frente à abertura de saída para a linha de luz, mostrando a dose de radiação (uSv/h) dentro do túnel, na parede de concreto e no entorno

Figura 79. Sondas de monitoramento de radiação, gamma e neutros, montadas em seus respectivos *trolleys*, em testes na galeria de *klystrons* do Linac

Instalação

Com o término das instalações do Linac e a entrega do túnel do acelerador pela construtora, foram iniciados os trabalhos de instalações do *Booster* e Anel de Armazenamento. Para tanto, teve início as passagens de cabos de potência do *Booster* sobre os leitos verticais, que posteriormente foram cortados para crimpagem das cordoalhas.

Além disso, para evitar instalações de ímãs e vácuo em ambiente com poeira, foram realizados os blocos de concreto do Anel e as furações dos leitos verticais e base dos niveladores.

Após a entrega do túnel dos aceleradores, um conjunto gigante de atividades tomou conta do espaço e permitiu avanços significativos na instalação do *Booster* e componentes doa aceleradores. Os blocos de concreto foram fixados ao chão (*grout*) e as bases e niveladores foram instalados, permitindo a instalação dos primeiros berços de multipolos do Anel de Armazenamento.

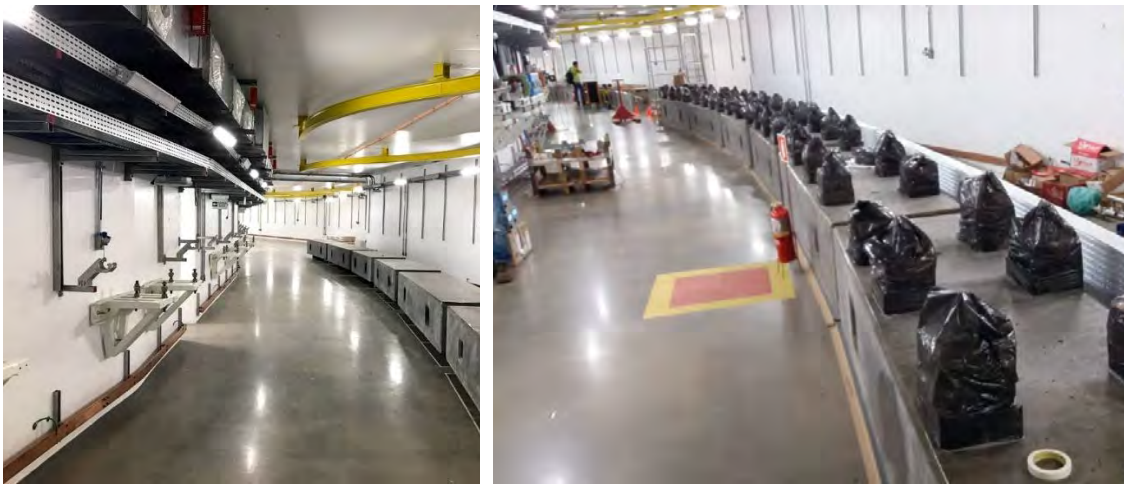


Figura 80. Início da instalação dos aceleradores em junho de 2018 (esq.). Bases de concreto do Anel grouteadas ao piso e com os niveladores (protegidos pelo plástico) instalados (dir.)

Figura 81. Primeiro berço multipolar instalado no Anel de Armazenamento (esq.). Interior do túnel do Sirius em novembro mostrando as eletro-calhas brancas verticais já instaladas ao lado dos blocos de concreto que suportarão os magnetos (dir.)

O mesmo ocorreu ao lado de fora do túnel com as áreas destinadas às eletrônicas de controle dos componentes. No primeiro semestre de 2018, o projeto das salas de racks foi concluído e iniciaram-se as aquisições de materiais. Ao todo são 20 salas de *rack* que circundam o acelerador em suas paredes internas e abrigam os mais de 200 *racks* de eletrônicas que controlam os componentes dos aceleradores. Com placas customizados em Isopainel®, centenas de quilômetros de eletro-calhas e cabos, quadros elétricos com alimentadores distintos e um conjunto enorme de compatibilizações e conflitos, as salas de *racks* foram construídas em tempo recorde. Este esforço permite o *startup* de componentes de controle para o transporte do feixe de elétrons do Linac ao *Booster* através da LTB e comissionamento de componentes do Booster.

1.7.2 Linhas de Luz

O ano de 2018 foi marcado pelo comissionamento de diversos protótipos de componentes de linhas de luz e o início da instalação dos primeiros componentes de infraestrutura e *front-ends* das 6 linhas de luz que compõem a fase 1A do Sirius. As atividades de instalação dos componentes produzidos estão ocorrendo concomitantemente com a instalação e comissionamento do Anel de Armazenamento.

Em 2018, foi priorizada a construção de duas linhas de luz, MANACÁ e CATERETÊ, dando prosseguimento às compras dos itens mais críticos para as outras 4 linhas.

Os principais destaques para este semestre foram:

- Início da instalação das cabanas óticas das primeiras 6 linhas de luz;
- Início da instalação dos primeiros 6 *front-ends* no túnel do Sirius;
- Metrologia dos primeiros espelhos finais das linhas de ondulador, incluindo aferição das deformações mecânicas devidas a fixação, como previstas em simulações;
- Conclusão do HD-DCM com resultados dinâmicos, em vácuo, melhores do que a expectativa;
- Montagem e comissionamento de componentes da estação experimental da linha CATERETÊ, com sistema criogênico, sistema para simulações de condições operando e sistema para termografia das amostras;
- Conclusão dos projetos mecânicos e encomenda dos sistemas de vácuo e mecânica dos espelhos das primeiras 6 linhas;
- Construção de componentes do espectrômetro da linha IPÊ;
- Construção do protótipo do detector de área ??M3GA

Infraestrutura e componentes comuns às linhas de ondulador

Cabanas óticas e experimentais

Em 2016, o LNLS iniciou o desenvolvimento de cabanas de proteção radiológica em parceria com empresas locais com o objetivo de adotar aço em substituição ao chumbo como material de proteção contra radiação para todos os tipos de cabanas, devido ao custo de produção favorável no mercado local. Posteriormente, uma melhoria na rede óptica do Anel de Armazenamento aumentou o campo de *superbends* para 3.2T e energia crítica de emissão de 20keV. Isso tornou o uso de chumbo mais competitivo para este tipo de linha de luz, considerando as paredes significativamente mais finas necessárias para parar fótons de alta energia (além de 100 keV). Até agora, as empresas locais foram contratadas para montar cinco linhas de luz de Fase IA, com o sexto e último contrato desta fase sendo negociado no fim de 2018.

Para permitir a alta estabilidade termo-mecânica exigida em toda a instalação, o controle ambiental padrão das cabanas é projetado para fornecer (22-25 ± 0.1)°C em um período de 8 horas. As estações experimentais também preveem a capacidade de controle de umidade. Requisitos específicos como controle de estabilidade de temperatura mais fino, velocidade do ar e controle de partículas estão sendo abordados caso a caso. As soluções propostas baseiam-se na experiência adquirida durante a concepção, construção e comissionamento de uma instalação de metrologia dedicada ao desenvolvimento de instrumentação de linhas de luz e na cabana protótipo desenvolvida no UVX.

Utilidades mecânicas e elétricas - água deionizada e fria, ar comprimido, nitrogênio líquido e gasoso, exaustão e distribuição de gases, além de sistemas convencionais e ininterruptos - fazem uso intensivo de automação e estão integradas ao Sistema de Proteção de Equipamentos (EPS) da linha de luz para aumentar a segurança, rastreabilidade e facilidade de manutenção. Máquinas rotativas e tubulações de água utilizam isoladores de vibração para minimizar a deterioração dos níveis de vibração do piso local.

Destaca-se que as cabanas ótica e experimental e a sala de controle linha MANACÁ estão em fase final de instalação e a cabana ótica das linhas CATERETÊ e CARNAÚBA estão sendo instaladas. As demais cabanas das 6 primeiras linhas estão em fase de construção, com previsão de entrega da infraestrutura de cabanas das 6 primeiras linhas completas para o primeiro semestre de 2019, a partir de maio. A instalação das cabanas da MANACÁ e a primeira cabana da CATERETÊ é mostrada na Figura 82.

Figura 82. Primeira cabana ótica da linha de luz CATERETÊ e cabanas da linha MANACÁ com boa parte das utilidades instalada no Sirius

Front-ends

O *Front-End* compreende o grupo de componentes que conectam o Anel de Armazenamento (SR) à linha de luz. Eles são responsáveis por definir a abertura final, absorver o excesso de potência do feixe e fornecer proteção contra radiação, proteção contra vácuo do Anel de Armazenamento e diagnóstico de feixe de fótons.

Esses componentes da linha de luz foram projetados e totalmente prototipados pela equipe de engenharia de linha de luz da divisão científica e foram licenciados para uma empresa local para produção. Atualmente, os *front-ends* das linhas de luz da Fase 1A estão em fase final de instalação no Anel de Armazenamento Sirius, conforme mostrado na Figura 83.

Figura 83. Componentes do *front-end* da linha MOGNO já em vácuo e da linha MANACÁ sendo instalados no Anel de Armazenamento Sirius

O protótipo de *front-end* (FE) foi importante para testar várias características de segurança e estabilidade dos elementos finais. Testes funcionais de estabilidade, investigações de vibração induzida por fluxo (FIV) foram realizadas nos componentes resfriados a água, e análises modais foram feitas no suporte *X-Ray Beam Position Monitor* (XBPM). Quanto ao sistema de vácuo, foram investigados os níveis de pressão final e provocou-se intencionalmente uma violação do vácuo para verificar o desempenho do sistema de proteção do equipamento (EPS). Também foram realizados testes de ciclagem dos obturadores Photon e Gamma para verificar a confiabilidade do FE. Além disso, o sistema de proteção de três camadas, desenvolvido para limitar a abertura máxima para as fendas de alta potência, foi avaliado funcionalmente. Finalmente, os resultados foram utilizados para melhorar o projeto final de fabricação do FE.

Um acelerômetro 3D da Kistler (8726A) foi usado para medir o nível de vibração em cada componente com e sem um fluxo de água de 3 m / s. Com os dados, foi possível investigar o deslocamento do RMS no plano transversal do feixe. Os resultados de cada componente são compilados na Tabela 2.

Tabela 2. Amplitudes de vibração (RMS) dos componentes do FE

Component	*Flow on [nm]*		*Flow off [nm]*		*Variation (%)*	
	X	Y	X	Y	X	Y
Mask	22	48	20	40	10	20
Photon	607	44	80	23	658	91
Slit 1	203	28	53	19	283	47
Slit 2	173	31	54	23	220	35
XBPM	15	52	15	36	0	30

A grande influência do sistema de resfriamento no *Photon Shutter* pode ser justificada pelo fato de seu mecanismo de acionamento não ter uma alta rigidez na direção X. Como a entrada de água está na mesma direção, as perturbações são intensificadas. Mesmo assim, todas as contribuições estão abaixo de 1% do tamanho do feixe.

Para investigar se o FE protegeria efetivamente o Anel de Armazenamento no caso de um influxo súbito de ar na linha de luz, um acidente a vácuo foi provocado de forma monitorada no protótipo FE. Este estudo foi realizado para validar três aspectos do projeto do FE: a baixa condutância devido ao diâmetro reduzido da seção reta nos tubos de vácuo; o efeito *pinhole* devido às pequenas aberturas dos componentes; e a velocidade do ar em caso de um acidente de vácuo.

Para determinar a pior condição possível para o acidente (maior abertura na janela com velocidade máxima do SW), a experiência foi repetida quatro vezes, variando o material da janela: folhas de CuAg (100µm e 50µm) e lâminas de Kapton (50µm e 25µm). Depois, foi repetido mais duas vezes considerando a pior condição. A Figura 84 exibe o intervalo de tempo que o SW gastou para alcançar cada um dos VGs. A linha tracejada vermelha representa o tempo de fechamento do FS fornecido pelo fabricante (16ms). O FS está localizado próximo ao manômetro de vácuo VG3, a aproximadamente 5,6m da região de influxo de ar. Considerando o pior caso, o SW atingiu o VG3 em 61ms, resultando em uma margem de segurança de 3,8, comparado a 16ms do tempo de fechamento do FS.

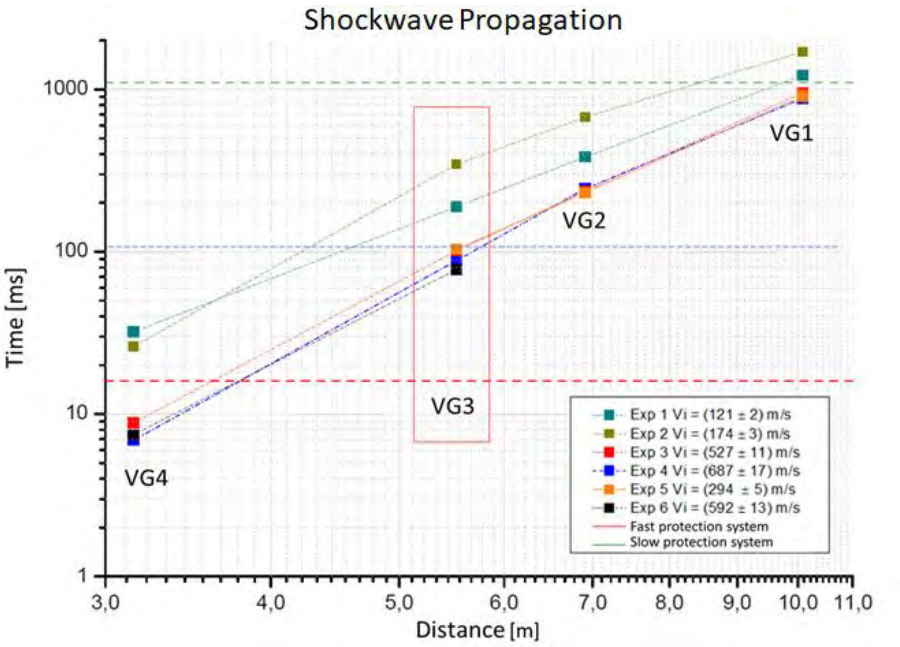


Figura 84. Testes de quebra de vácuo mostrando que os sensores rápidos atuam com folga de tempo para evitar propagação da onda de choque e consequente quebra de vácuo do Anel (posição VG1), mesmo no pior cenário. Os tempos de atuação do sistema rápido (posição VG3) foram bastante inferiores ao tempo de propagação da onda de choque. Tempo de fechamento do *fast shutter* (16 ms – linha vermelha) tempo de fechamento da válvula *gate* (1 s – linha verde).

A instalação dos 6 primeiros *front-ends* está sendo realizada respeitando a prioridade de montagem dos demais componentes dos aceleradores (Figura 84). O prazo final de instalação está atrasado em relação ao previsto originalmente, principalmente por atrasos na montagem dos aceleradores, que impediram as montagens de vácuo do *front-end* prosseguissem. Não obstante, isso não afetará o prazo de conclusão das linhas.

Monocromadores

Protótipo do Monocromador de Duplo Cristal de alta performance dinâmica (HD-DCM)

O LNLS desenvolveu um conceito inovador de um DCM vertical de alta resposta dinâmica (Monocromador de Cristal Duplo) com faixa angular entre 3 e 60 graus (equivalente a 2,3 a 38keV com Si (111)). A primeira premissa nesse desenvolvimento foi restringir o número de graus de liberdade (DoF). Portanto, o suporte do duplo cristal apresenta apenas ajustes de *pitch, roll e gap*, e todos eles estão associados ao movimento do segundo cristal. De fato, em todos os desenvolvimentos modernos do DCM, o principal gargalo provou ser a estabilidade do paralelismo entre os cristais, pois afeta a posição e/ou o tamanho efetivo da fonte virtual e, consequentemente, o tamanho do ponto e/ou a posição do feixe na amostra. Para fontes de alguns micrometros a dezenas de metros da fonte, ele deve ser mantido dentro de alguns nrad, o que nunca poderia ser alcançado em DCMs existentes. Logo, ficou claro que tais números de estabilidade não

poderiam ser alcançados sem um controle servo de malha fechada de alta largura de banda, através do qual as perturbações podem ser atenuadas para níveis aceitáveis.

O Sirius HD-DCM possui seu próprio sistema interno de metrologia para realimentação do servo para controlar a folga, inclinação e rotação entre os cristais com uma largura de banda de *loop* fechado de 250 Hz, para a qual são usados atuadores de força e uma massa de reação. Alta estabilidade e resolução são obtidas usando interferômetros de medição de distância (DMIs) e componentes mecânicos projetados para alcançar alta estabilidade e autofrequências. Finalmente, as vibrações induzidas pelo resfriamento foram consideradas como o principal item de risco, de modo que alternativas à tecnologia de resfriamento foram investigadas, para minimizar perturbações e restrições mecânicas. A Tabela 3 apresenta os principais parâmetros do sistema.

Um sistema dinâmico altamente repetível, com largura de banda de controle de 250Hz, foi alcançado e será instalado nas linhas de luz Sirius.

A caracterização *offline* do HD-DCM provou a operação criogênica e mostrou desempenho em torno de 15nrad RMS2.5kHz para estabilidade de *pitch* em posição. Notavelmente foi demostrado que mesmo varreduras de energia de 1keV em até 1keV/s podem ser feitas com o mesmo desempenho. A plataforma de controle está sendo migrada do xPC da Speedgoat para o cRio da *National Instruments*. Além disso, espera-se que o *feedforward* e o controle térmico otimizado sejam implementados em breve. A unidade está pronta e será instalada na linha de luz MANACÁ, dando início ao comissionamento *online*. Uma segunda unidade está em produção e deve ser instalada logo pós a linha de luz do EMA. Por fim, uma atualização foi projetada para os próximos exemplares com o objetivo de permitir a varredura de alto desempenho em toda a faixa de energia.

Tabela 3. Parâmetros Principais do HD-DCM

Parâmetro	Valor
Beam Offset	18 mm
Angular Range	3 to 60°
Angular Resolution	50 nrad
Bragg Angle Stability (up to 2.5 kHz)	25 nrad RMS (In-position) < 500 nrad RMS (Scanning)
Pitch/Roll Stability (up to 2.5 kHz)	12 nrad RMS (In-position) < 35 nrad RMS (Scanning)
Cooling	1st Crystal: Indirect LN2 (80 K) 2nd Crystal: Copper Straps (155 K)
Crystal DoF	1st Crystal: Fixed at Rotation Axis, 2nd Crystal: Gap, Pitch, Roll
Beam Size	1.7 x 1.7 mm^2
Power Load	150 W
Base Pressure	< 5 x 10^{-8} mbar

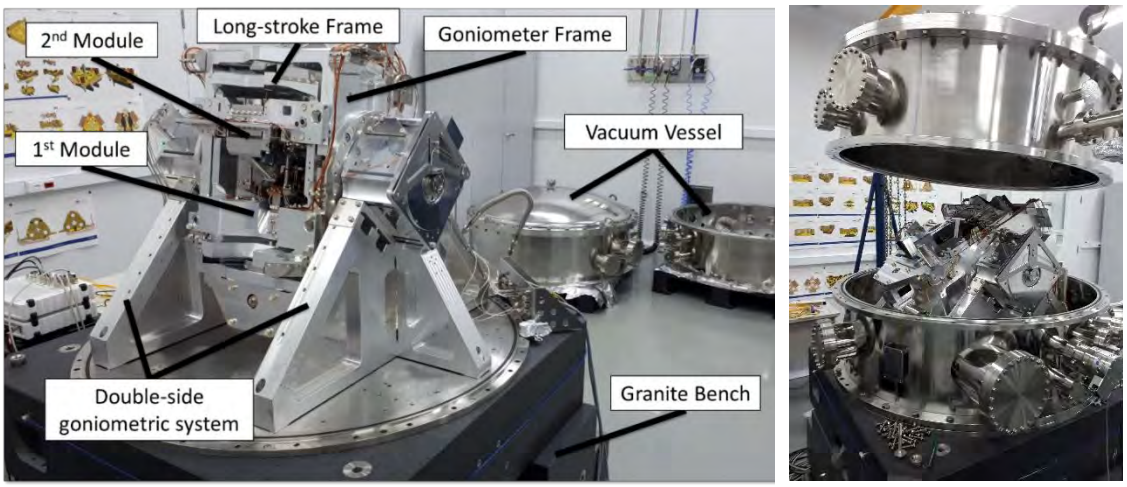


Figura 85. Vista geral do HD-DCM completo, com todos seus componentes montados

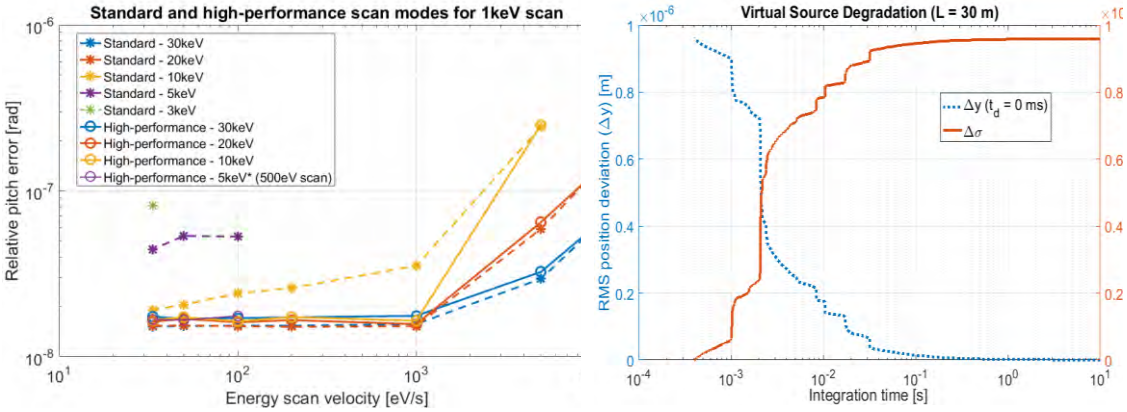


Figura 86. Resultados de testes de estabilidade do HD-DCM com todos os componentes, incluindo as perturbações geradas pelo fluxo de nitrogênio líquido. Mesmo para varreduras de energia de 1 keV/s (o que permitiria um espectro de XAFS inteiro em fração de segundo) o HD-DCM mantem estabilidades da ordem de 10 nrad (esquerda). O estado da arte comercial é cerca de 100 vezes pior que isso. Os erros introduzidos com a estabilidade do HD-DCM permitem variações de menos de 1 micrometro no tamanho da fonte virtual durante varreduras de energia, tanto em variação de posição quanto em variação de tamanho efetivo. Esses erros são praticamente imperceptíveis nos experimentos do Sirius, cumprindo o objetivo do protótipo.

Espelhos e metrologia

Prédio de Metrologia

Esta instalação inclui uma área de montagem de 100 m², um laboratório de metrologia mecânica de alta precisão e um laboratório de metrologia óptica (OML), ambos de 50 m², e proporcionam melhores condições ambientais e instrumentais. Todos os três laboratórios estão em blocos inerciais com fundações especiais originalmente desenvolvidas e testadas como protótipo para o piso do túnel Sirius. Os blocos inerciais funcionam muito bem na atenuação de vibrações externas. A OML é uma sala limpa ISO7 e tem estabilidade de temperatura melhor que ± 0,1 K. Medidas da superfície sob teste (SUT) usando NOM, Interferômetro de Fizeau (FI), Microinterferômetro (MI) e AFM como os quatro instrumentos dentro da OML cobrir toda a gama necessária de

frequências espaciais. Por enquanto, o laboratório de metrologia óptica (OML) tem apenas um perfilador de inclinação (NOM) e um interferômetro Fizeau. A questão crítica para as linhas de luz da primeira fase no Sirius é a metrologia do erro de figura de superfície, relacionado a baixas frequências espaciais. Com esses dois instrumentos, conseguimos calibrar as dobradeiras mecânicas, fixando e polindo os erros de figura dos espelhos já entregues nas linhas de luz da fase 1A.

Durante 2018, foram concluídas melhorias de sistema de ar condicionado, chegando agora a estabilidades térmicas de 45mK (pico a pico) e com flutuação RMS < 8mK. Estas melhorias permitiram maior estabilidade nas medidas dos espelhos, chegando hoje a marcas recorde de precisão em LTP como nos exemplos mostrados na Figura 87.

Equipamentos da metrologia óptica

As primeiras medidas dos espelhos polidos pelas empresas Zeiss (Alemanha) e JTEC (Japão) demonstraram que eles estão dentro do padrão estabelecido aos fabricantes para cada espelho e que os pontos de apoio na mecânica são realmente fundamentais para garantir os erros em relação a figura elíptica ideal dentro das tolerâncias estabelecidas pelas simulações de cada espelho de cada linha Figura 87.

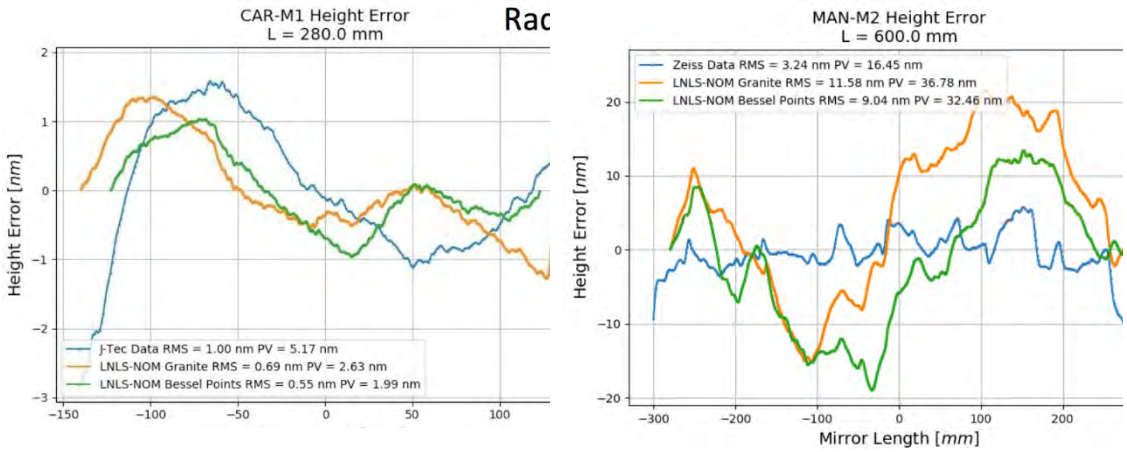


Figura 87. Erros nos perfis elípticos dos espelhos das linhas MANACÁ e CARNAÚBA medidos no laboratório de metrologia ótica. O sistema de metrologia já é capaz de detectar as deformações causadas pela gravidade quando o espelho é apoiado diretamente no granito ou nos chamados pontos de Bessel

Mecânica dos espelhos

O *design* dos sistemas de espelho é um dos tópicos mais revisados nos projetos de linhas de luz, uma vez que os requisitos crescentes de gerenciamento de energia e erro de figura impulsionam continuamente conceitos inovadores ou otimizados.

Para atender a erros introduzidos pelo processo de polimento na distribuição de alturas e inclinação de superfície tão baixos quanto alguns nanômetros e dezenas de nanorradianos, respectivamente, os espelhos de raios X do Sirius foram padronizados na configuração de figura fixa por polimento, evitando assim o uso de curvatura por força mecânica. Buscando uma estabilidade mecânica passiva superior, uma padronização de deflexão lateral para maior parte dos espelhos também foi feita. Essas duas condições, juntamente com níveis de potência geralmente baixos, ou seja, abaixo de 50 W, criaram a oportunidade para o desenvolvimento de um projeto padrão alternativo para sistemas de reflexão total. Um conceito de projeto comum para os sistemas de espelhos Sirius emergiu e foi aplicado às primeiras linhas de luz com foco em minimizar as distorções mecânicas e térmicas nos espelhos enquanto maximizavam as estabilidades mecânicas e térmicas. Neste esquema, um suporte de espelho baseado em flexão com alta resolução permite modos de ajuste de *pitch* fino e ressonâncias altas, enquanto trata dos efeitos de fixação e expansão térmica. A estratégia de resfriamento adotada foi a criogênica indireta através de criostatos, minimizando drasticamente os gradientes térmicos e as distorções nos espelhos, desacoplando as fontes de vibração e simplificando os circuitos de resfriamento.

A partir da experiência adquirida com o Monocromador de Duplo Cristal Duplo de Alta Dinâmica (HD-DCM), os conceitos de projeto determinístico foram aplicados para buscar soluções termomecânicas simples, porém precisas e altamente estáveis.

O conceito dos sistemas de espelho foi, desde o início, baseado em algumas diretrizes de *design* determinista. Do piso para cima, os espelhos devem ser construídos em bancadas de granito altamente estáveis, tendo apenas tantos graus de liberdade (DoF) quanto os necessários para posicionamento e alinhamento na linha de luz. Então, conforme abordado no HD-DCM, a câmara de vácuo deve ser tratada como uma interface entre o espelho e a bancada, e de forma alguma como uma estrutura de montagem confiável e estável. As especificações resumidas estão reunidas na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros do HD-DCM

Description	*Spec*
Ry range:	> 1 mrad
Ry resolution:	< 100 nrad
Ry stability:	< 30 nrad RMS2.5kHz
Resonances:	> 150 Hz
Thermo-mechanically induced slope errors:	< 50 nrad
Power load:	< 50 W
Cooling scheme:	indirect cryocooling via copper braid and cryostat
Beam Offset	18 mm
Angular Range	3 to 60°
Angular Resolution	50 nrad
Bragg Angle Stability (up to 2.5 kHz)	25 nrad RMS (In-position) < 500 nrad RMS (Scanning)
Pitch/Roll Stability (up to 2.5 kHz)	12 nrad RMS (In-position) < 35 nrad RMS (Scanning)
Cooling	1st Crystal: Indirect LN2 (80 K) 2nd Crystal: Copper Straps (155 K)
Crystal DoF	1st Crystal: Fixed at Rotation Axis, 2nd Crystal: Gap, Pitch, Roll
Beam Size	1.7 x 1.7 mm2
Power Load	150 W
Base Pressure	< 5 x 10-8 mbar

Para alcançar alta estabilidade sem estabilização dinâmica ativa, duas abordagens básicas foram empregadas para atenuar as fontes de perturbação e elevar as frequências de ressonâncias. A primeira foi atingida pelo desacoplamento da fonte de refrigeração através de tranças de cobre condutoras; enquanto a segunda depende de materiais e *design.* Limitações práticas são dadas pelo compromisso entre altas forças de fixação para alta rigidez de contato e as tensões e deformações introduzidas, que podem deteriorar a curvatura da superfície de focalização.

O sistema mecânico do espelho de focalização vertical da linha CATERETÊ (CAT-1-VFM) foi construído e caracterizado no ar em uma mesa óptica e está sendo caracterizado em metrologia de alta precisão também para averiguar os efeitos da mecânica de suporte e fixação na qualidade ótica da superfície do espelho (Figura 88). Vale notar, que este último passo é onde todos os desenvolvimentos de ótica convergem, desde simulações, metrologia e projetos mecânicos. Começando com os resultados da análise modal, a Tabela 5 lista seus primeiros modos normais, mostrando concordância notável entre simulações de FEA e dados experimentais, que não apenas valida o conceito com relação às metas de alta frequência, mas também prova que o processo de design foi consistente.

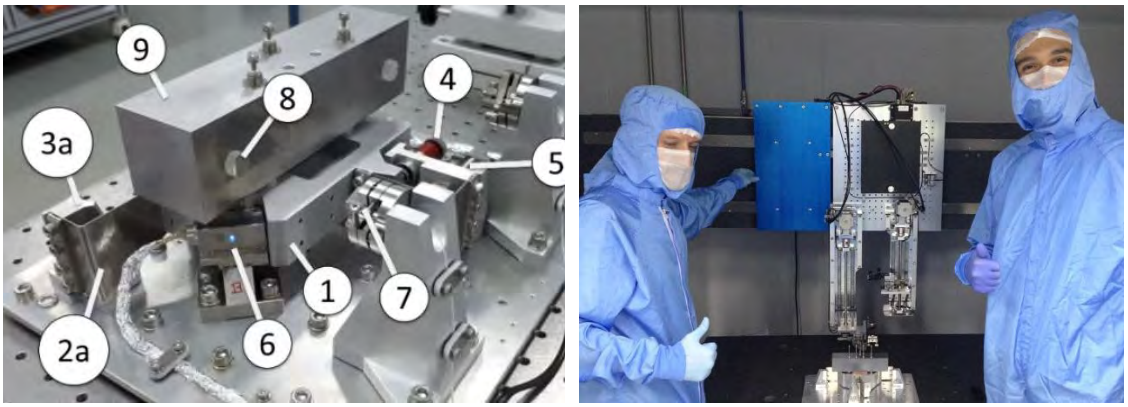


Figura 88. Esq.: Protótipo CAT-1-VFM: (1) *frame* de suporte; (2a) FLS vertical (2); (3a) suporte FLS vertical; (4) atuador piezoelétrico; (5) mola de pré-carga; (6) *encoder* ótico; (7) IFM; (8) espelho-alvo do IFM; (9) espelho fictício. Dir.: Sistema de espelho montado sendo aferido no equipamento NOM da metrologia ótica

Tabela 5. Análise Modal para o Protótipo CAT-1-VFM

Mode	*FEA [Hz]*	*Experimental [Hz]*
1 (T_x)	249,7	250
2 (R_y)	312,5	313
3 (T_z)	342,4	341
4 (T_y)	408,9	403
5 (R_z)	602,5	554
6 (R_x)	614,9	851

Em seguida, o desempenho do movimento foi avaliado para resolução, alcance, linearidade, erros de movimento parasitário e estabilidade de posição. O resultado mostra uma medição de resolução de malha aberta com um atuador de resolução de 22nm e o sinal médio de dois codificadores ópticos de resolução de 5nm. Com braços de alavanca de 0,1 e 0,08m, respectivamente, fica claro que o tamanho do degrau (Figura 89) é limitado pelo atuador e que o sinal de realimentação possui limitações significativas de ruído. Para os sistemas finais, uma melhor resolução é esperada tanto na atuação quanto na metrologia.

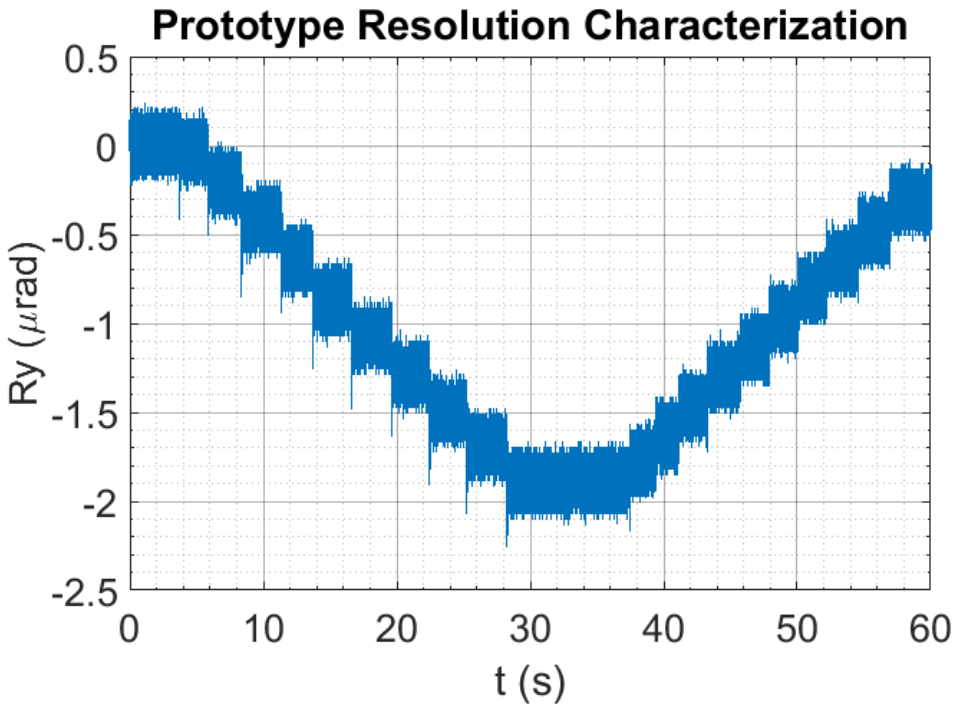


Figura 89. CAT-1-VFM prototype open-loop resolution characterization with preliminary piezo actuator and optical encoders

Por fim, destaca-se que os componentes necessários para construção dos sistemas mecânicos de espelhos estão sendo encomendados em conformidade com o cronograma de atividades das linhas de luz.

Espectrômetro de RIXS da linha IPÊ

Este espectrômetro é o principal componente da estação experimental da linha IPÊ. Ele permitirá estudar excitações coletivas em sólidos, como fônons e spinons, transferência de cargas em baterias e fotovoltaicos e dinâmica de dissociação de moléculas em líquidos e gases. Em 2018, foi iniciada a construção do espectrômetro, praticamente todos seus elementos estão em fabricação e sendo que alguns já foram entregues ao LNLS – por exemplo, a estrutura metálica do espectrômetro (Figura 90). Os testes de aceitação em fábrica foram realizados com sucesso na EM-CCD e o sistema já foi embarcado para entrega. A base de granito de suportação da câmara de amostra e a base circular em granito para movimentação dos *air pads* serão instalados assim que for finalizado o piso da área da IPÊ, que será uma das últimas entregas da construtora Racional.

Figura 90. Sup.: Espectrômetro de RIXS. Inf.: Substrato da grade do espectrômetro pronta para *rulling*, EM CCD em teste de aceitação em fábrica e suporte metálico do espectrômetro

Túnel de vácuo da câmara de espalhamento da linha CATERETÊ

Em 2018, foi concluído o túnel de vácuo de 30 metros da linha CATERETÊ (Figura 91), responsável por encaminhar o feixe coerente espalhado até o detector de área. Além disso, foram executados os testes de aceitação em fábrica e o sistema está sendo embarcado para o LNLS com instalação prevista para início de 2019.

Figura 91. Câmara de vácuo do túnel de espalhamento da linha CATERETÊ sendo embalado para embarque e detalhe no interior do tubo no sistema de trilhos de suportação do detector em vácuo

Microscópio de CDI da linha CATERETÊ

O microscópio de difração de raios X coerente da linha de luz CATERETÊ está montado e seu comissionamento em curso. Ele foi projetado para realizar imagens de difração coerente de ondas planas (pwCDI), mas também medidas de ptychografia e poderá ser duplicado para outras linhas de luz do Sirius. Além disso, um sistema de interferometria será acoplado ao microscópio para medidas em ptychografia, como versão atualizada.

O porta-amostras da linha consiste em uma pilha de estágios de alta precisão (Figura 92). A amostra é posicionada em um estágio piezo XZ (U-751.24, PI) permitindo o posicionamento preciso (resolução de 100nm) da amostra em ~ 30 x 30µm² feixe de raios X coerente. Abaixo, um rolamento de ar (UPR120, PI) permite medições tomográficas e o hexapode (Bora, Symétrie) é usado para o alinhamento do eixo de rotação com o feixe de raios X.

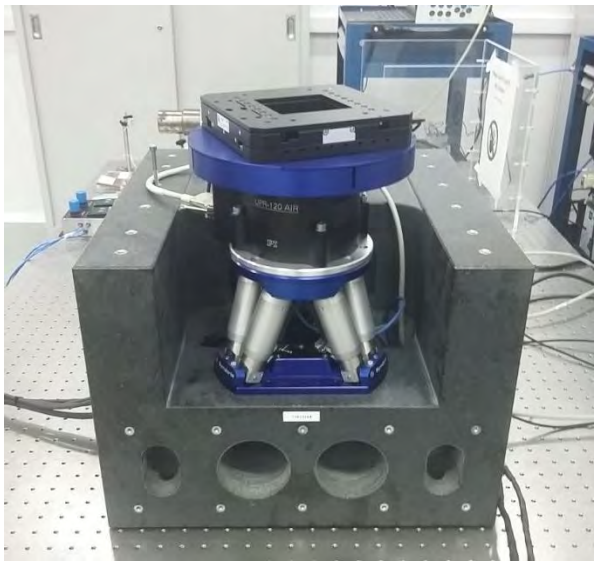


Figura 92. Estágios do microscópio da Caterete dedicado a imagens de difração coerente de ondas planas, com os estágios piezo XZ e hexapode sob comissionamento no laboratório de metrologia

Os estágios são configurados e operam sob o sistema EPICS de controle. A Figura 93 exibe a metrologia do estágio de rotação do rolamento de ar e os resultados da medição dos erros de movimento rotativo, com uma oscilação de 1,198µrad, excentricidade de 0,056 µm e um erro axial de 0,093µm.

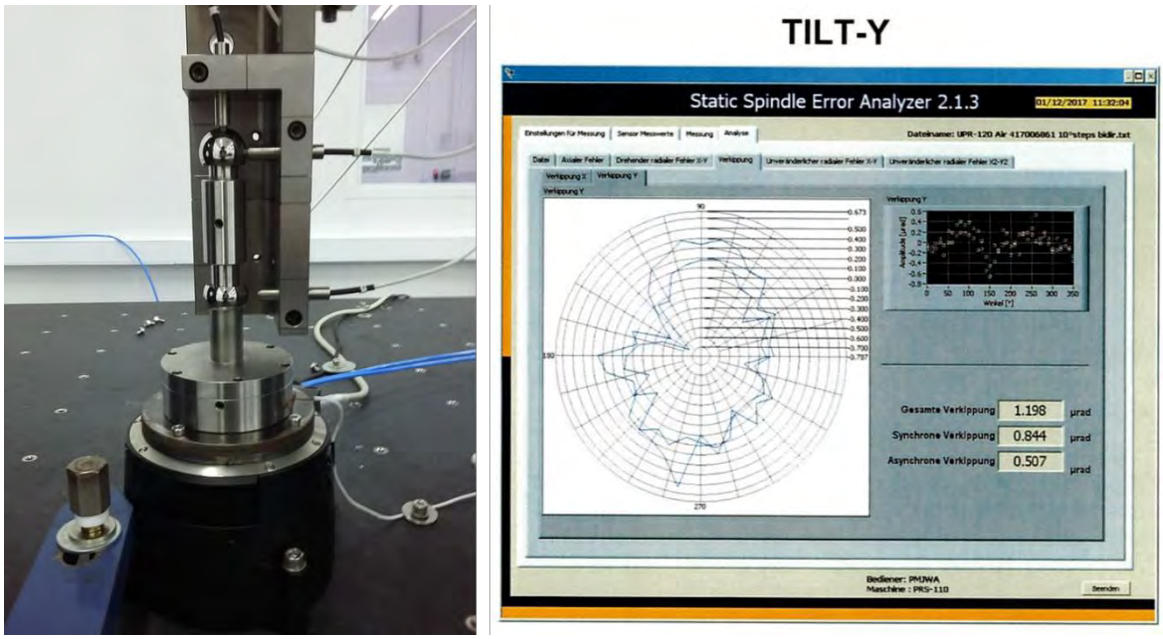


Figura 93. Estágio de rotação do rolamento de ar UPR120-AIR montado no laboratório de metrologia com a configuração de erro do fuso (esquerda). Medições fornecidas pelo *Physik Instrument* da medição de erro de oscilação

Para manter as amostras em temperaturas criogênicas (e evitar danos de radiação em amostras mais sensíveis) foi adquirido o sistema N-HeliX da *Oxford Cryosystems*, um dispositivo de fluxo duplo com dois fluxos coaxiais: o fluxo interno de He mantém a amostra em condições criogênicas, enquanto o fluxo externo atua como uma blindagem evitando congelamento e contaminação do ar. Ele permite alcançar um amplo intervalo de temperatura (28 a 353K) com um arranjo que reduz muito o fluxo de gás hélio necessário e os custos operacionais. Além disso, o uso de um fluxo baixo reduz drasticamente as instabilidades da amostra. O sistema foi montado e testado e agora serão realizados testes de estabilidade e mapeamento de temperatura ao redor do bocal. A Figura 94 mostra o sistema durante a primeira operação, atingindo 27,7K.

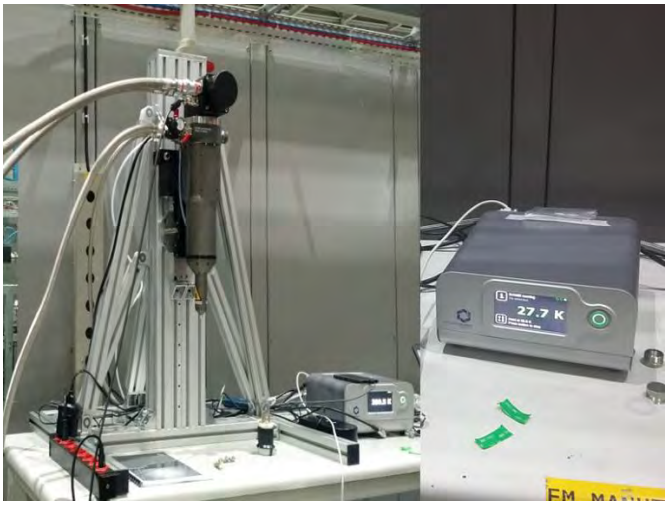


Figura 94. Primeiro teste do sistema N-HeliX da *Oxford Cryosystems* no LNLS, atingindo uma temperatura de 27,7K

Para experimentos de imagens *in situ* e operando está sendo desenvolvido um ambiente de amostra para executar o CDI sob ambiente de gás controlado e em altas temperaturas na linha CATERETÊ, que poderá também ser duplicado para outras linhas de imagem por raios X, como a CARNAÚBA e MOGNO. Os dispositivos serão baseados em blocos de aquecimento de cerâmica ou *chips* MEMs, desenvolvidos para microscopia eletrônica e possibilitando atingir os 1000°C. Os *chips* são compostos de uma membrana de nitreto de silício de 1mm², 30nm de espessura, aquecida com uma corrente de µA através de dois eletrodos. A temperatura é registrada com uma câmera de termografia em infravermelho (modelo ImageIR® 8300 HP da InfraTec GmbH, Dresden, Alemanha). A câmara está equipada com uma lente microscópica M = 1,0 ×, tem uma distância de trabalho de 20 cm e um campo de visão de 9,6 × 7,7 mm² e um tamanho de pixel de 15 µm, o que é suficiente para localizar a amostra e medir indiretamente sua temperatura no porta-amostras. A Figura 95 mostra a câmera e quatro imagens de termografia por infravermelho de MEMs (Temperatura = 21,75; 50,9; 87,2 e 196,25 ° C) com uma resolução espacial de 10 µm.

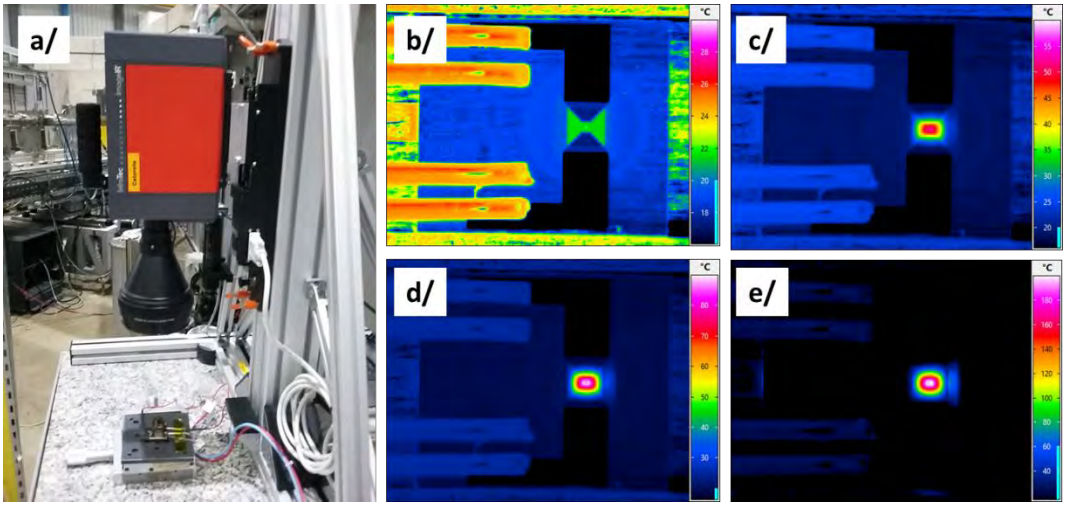


Figura 95. Câmera de termografia a/ Infravermelho (IR), chips b/ MEMs aquecidos a temperaturas de 21,75°C, 50,9°C, 87,2°C e 196,25°C, mostrados nas figuras b/, c/, d/ e e/, respectivamente, onde pode-se distinguir as diferenças de temperatura, a membrana de nitreto de silício no centro e os eletrodos à esquerda

Detectores

O grupo de detectores está desenvolvendo 4 modelos de detectores baseados no *chip* Medipix 3RX. Destes, 3 são variações do projeto π-MƎGA com diferentes números de pixels. O menor, com 800k pixels, chamado de modelo π-MƎGA 45D, é formado por duas fileiras de 6 chips, i.e., 1536x512 pixels. O modelo π-MƎGA 135D, que está sendo fabricado com a empresa πTEC (Figura 96), será usado nas linhas CARNAÚBA, EMA e MOGNO e tem 1536 x 1536 pixels. Já o modelo π-MƎGA 450D composto por 12 linhas de 12 chips (144 chips) será usado nas linhas MANACÁ e CATERETÊ. Além destes modelos do detector π-MƎGA está em desenvolvimento o detector Mobipix (256x256

pixels) (Figura 97) baseado em 4 módulos do Medipix 3RX, que possui um sistema de processamento de imagens integrado ao próprio detector.

Em 2018, vários desafios tecnológicos foram superados para o desenvolvimento dos detectores de área. Além de vários avanços em *firmware* e *hardware* do detector, foram identificados problemas na placa de circuito integrada flexível, produzida pela empresa Lauquem (em Sorocaba, no interior de São Paulo), e responsável pela ligação dos sensores e as placas de processamento de dados para envio por fibra ótica (MFB e TB). A produção e montagem desta placa com os sensores foi talvez o maior risco e maior desafio técnico de microeletrônica do projeto. As tecnologias envolvidas, apesar de bem estabelecidas em grandes empresas de microeletrônica, não eram dominadas no país, e precisaram ser desenvolvidas praticamente do zero. Os primeiros resultados foram insatisfatórios, porém a equipe conseguiu identificar os problemas, encontrar soluções e uma segunda versão fabricada pela Lauquem finalmente atendeu os quesitos de projeto. Vale notar que embora isso tenha acarretado em um atraso de vários meses no protótipo final, foi um desenvolvimento de nacionalização de um produto de alta tecnologia e alto valor agregado que trouxe grandes ganhos para a indústria nacional.

Figura 96. Detector π-MƎGA 135D em comissionamento e detalhe das placas internas

Figura 97. Detector MOBIPIX montado e em comissionamento

Em 2018, foi firmado um contrato para a produção de um módulo do detector π-MƎGA 450D que consiste em uma matriz integrada de 4 detectores π-MƎGA 135D (Figura 98). Este primeiro módulo será entregue para a linha CATRERETÊ (dentro do túnel de 30 m) e um segundo será encomendado para a linha MANACÁ quando houver uma maior liberação de recursos financeiros para as linhas de luz.

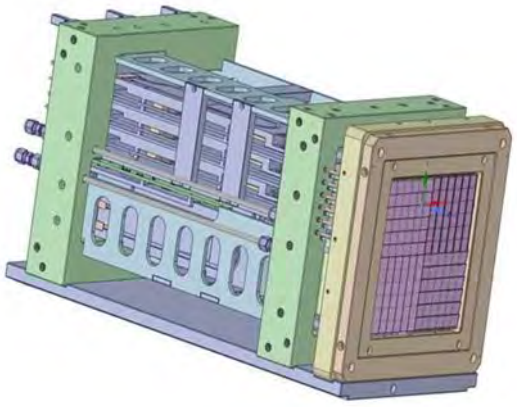


Figura 98. Projeto de agrupamento do módulo π-MƎGA 450D em produção para ser usado na linha CATERETÊ

1.7.3 Obras Civis

Durante o ano de 2018, foram realizadas as seguintes etapas relativas às obras civis:

- Término das alvenarias da edificação principal e pintura;
- Término da cobertura das linhas longas;
- Término de instalação de *pipe-racks* metálicos (interno e externos);
- Término, limpeza e comissionamento da infraestrutura enterrada (drenagem, esgoto, média tensão, dados);
- Término do arruamento, pavimentação e sinalização do sistema viário;
- Término, acabamento e pintura da Blindagens em concreto dos aceleradores;
- Instalação e ajuste de *breezes* (sombreamento);
- Instalação e testes da caixilharia, portas e janelas;
- Término da Construção da Subestação de Alta Tensão;
- Execução do revestimentos e pintura de pisos;
- Modificação do solo e execução dos novos pisos das seis linhas longas;
- Execução e acabamento da alvenaria e piso das linhas longas;
- Construção de 20 sala de *racks* anexas à blindagem;

- Plantio parcial de árvores de acordo com projeto de compensação ambiental.

As seguintes etapas referentes a instalações internas da edificação do Sirius foram executadas:

- Execução das instalações de utilidades nas blindagens;
- Remanejamento e instalação do ramal alimentador de AT (138 KV);
- Conexão, energização e comissionamento da subestação de AT;
- Energização e comissionamento da Subestação de Média Tensão (11,4kV) do Sirius;
- Execução da conexão e energização do ramal alimentador em média tensão do campus CNPEM;
- Energização e comissionamento do sistema elétrico em baixa tensão;
- Instalação, *startup* e comissionamento dos sete *chillers*;
- Instalação e início de comissionamento do sistema de ar condicionado e de águas de processo;
- Instalação e *startup* de duas pontes rolantes do *hall* experimental;
- Instalação e comissionamento do sistema de detecção e combate a incêndio;
- Instalação parcial do sistema de automação predial;
- Instalação e comissionamento do sistema de geração de energia elétrica de emergência;
- Término do sistema de drenagem;
- Construção, instalação e pré-teste da ETE (Estação de Tratamento de Esgoto).

Ainda, a conexão do Sirius às redes de água e esgoto foi executada por parte da SANASA, a concessionária da rede pública de abastecimento de água e de esgoto.

Com relação aos licenciamentos, foram obtidos: o Certificado de Conclusão de Obras (CCO) junto à SANASA; a Licença de Operação (LO) junto à Secretaria do Verde, Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável da Prefeitura Municipal de Campinas; o Auto de Vistoria do Corpo de Bombeiros; e o “Habite-se” junto à Secretaria Municipal de Urbanismo da Prefeitura Municipal de Campinas.

Figura 99. Vista aérea da entrada do edifício

Figura 100. Pátio Interno com *pipe-racks*, quatro *chillers* e tanques de termo-acumulação

Figura 101. Vista panorâmica do *hall* experimental e blindagem

Figura 102. *Hall* Experimental com uma das Pontes Rolantes e Passarela

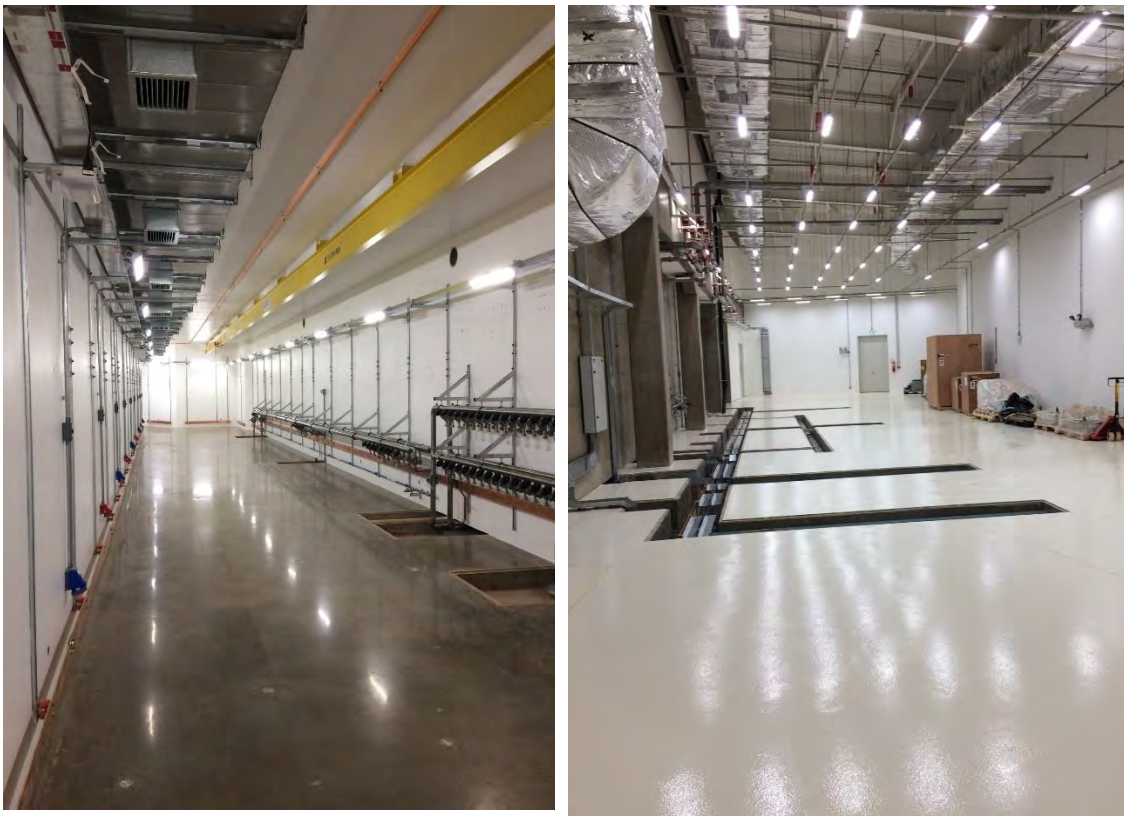


Figura 103. Visão interna da blindagem do Linac (esq.) e da área de moduladores deste acelerador (dir.)

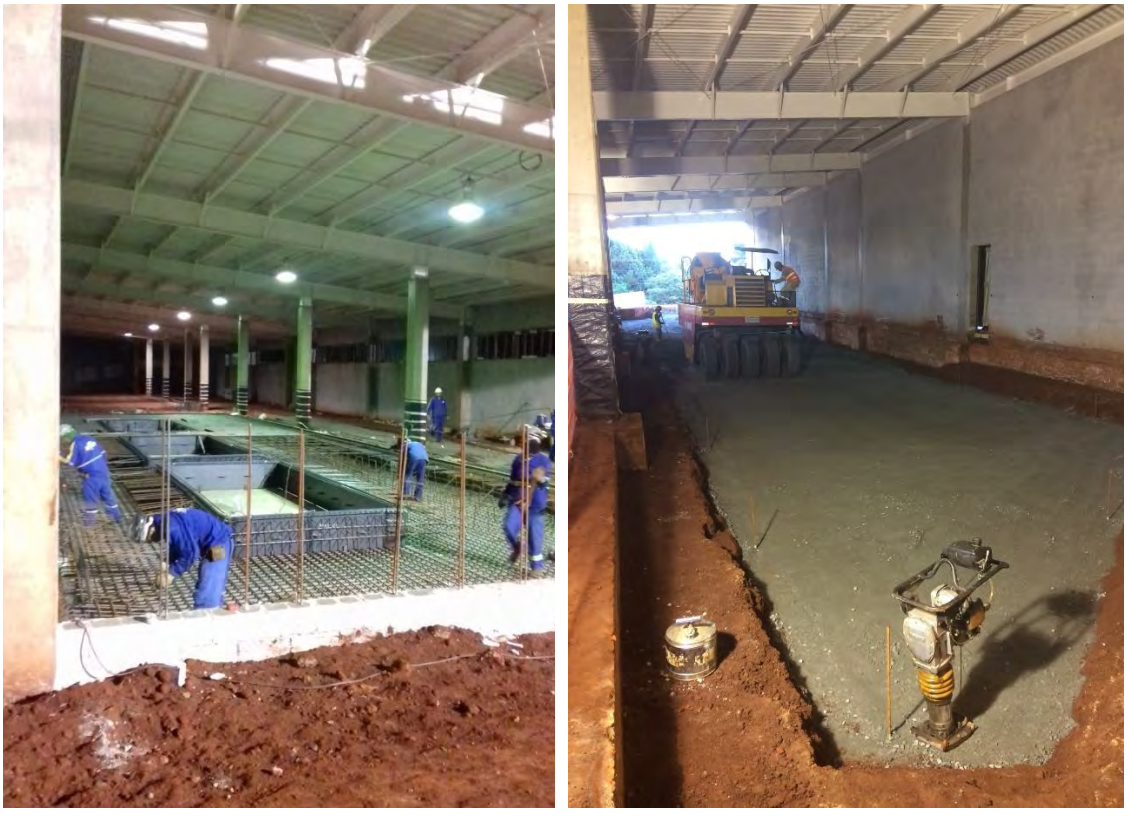


Figura 104. Armação (esq.) e preparação de CCR (dir.) do piso especial de uma das linhas longas

2. LABORATÓRIO NACIONAL DE BIOCIÊNCIAS

2.1 O LNBIO em 2018

Em 2018, o LNBio manteve sua trajetória de crescimento, tendo como referência: (i) a integração com os demais laboratórios do CNPEM; (ii) as oportunidades que se anunciam com os avanços na infraestrutura e capacidade científica do CNPEM; (iii) o comprometimento com iniciativas que visam o desenvolvimento de tecnologias aplicadas à saúde humana. Guiados por estas referências, foram priorizadas ações voltadas para a competitividade científica dos programas de pesquisa institucionais e para o desenvolvimento de instrumentação e métodos avançados, em apoio aos usuários da infraestrutura científica do CNPEM. No âmbito do apoio à inovação, estimulamos uma agenda de pesquisa em parcerias com a iniciativa privada, inspirada em demandas do sistema público de saúde. A apresentação de resultados no presente relatório procura refletir estas estratégias e ações.

O Programa de Mecanismos Moleculares de Doenças se destaca como área de grande contribuição científica do LNBio. São exemplos destas contribuições, o trabalho publicado na revista Nature Chemical Biology, fruto de colaboração com pesquisadores da Universidade de São Paulo e da Universidade de Washington. Os estudos apresentados neste trabalho permitiram compreender os efeitos químicos, estruturais e funcionais de mutação clínica encontrada em família brasileira que apresenta indivíduos com deficiência intelectual hereditária. Cabe ressaltar que os resultados do trabalho apontam para a potencial reversibilidade das alterações funcionais provocadas pela mutação, o que abre perspectivas de desenvolvimento de fármacos potencialmente úteis para a abordagem terapêutica dos pacientes. As conclusões foram derivadas de combinações de estudos utilizando cristalografia de proteínas, ressonância magnética nuclear, ensaios funcionais e cálculos *in silico*. Todos os dados foram obtidos nos Laboratórios Nacionais do CNPEM.

Outro trabalho de destaque científico do LNBio utilizou uma abordagem diferenciada de técnicas proteômicas, culminando na identificação de proteínas diferencialmente expressas em pacientes com distintos prognósticos de câncer oral. O trabalho foi publicado na revista *Nature Communications*, com aplicação ao desenvolvimento de kits diagnóstico para auxiliar o direcionamento terapêutico do câncer oral (patente provisional *US 627226837*, depósito em 04.09.2018). Estas perspectivas no campo da inovação envolvem também equipe do LNNano.

Além dos desenvolvimentos na pesquisa de fronteira, destacam-se também os esforços conjuntos de pesquisadores do LNBio e do LNLS para o desenvolvimento de métodos em imagens biológicas, especialmente os relacionados ao uso de microtomografia e fluorescência de raios X. Um dos métodos desenvolvidos consiste na preparação de amostras de cérebro, permitindo a detecção de neurônios individuais e suas conexões em cérebros saudáveis e lesionados por agente químico neurotóxico, com potencial

aplicação para a avaliação do desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. Este método foi publicado na revista *Scientific Reports* e já está disponível para os usuários da linha IMX, do LNLS.

Ainda no contexto de desenvolvimento de métodos de apoio a usuários do CNPEM, destacam-se o desenvolvimento de abordagens inovadoras de preparação de amostras biológicas (e.g. organismos vivos, organoides e sondas químicas tecido-específicas customizadas) para obtenção de imagens tridimensionais nas linhas de luz. Estas amostras serão exploradas pelo grande conjunto de ferramentas a serem disponibilizados nas linhas de luz do Sirius, sendo que alguns protótipos já estão disponíveis nas linhas IMX e XRF do LNLS. Os avanços compreendem também a instrumentação customizada das linhas de luz, e o desenvolvimento de algoritmos para o tratamento das imagens obtidas. O objetivo é viabilizar a análise das amostras biológicas com a maior precisão e resolução espacial, química e temporal nas linhas de luz do Sirius.

O LNBio também dedicou esforços à definição de uma plataforma para a preparação de proteínas de membrana, além de novas metodologias para a descoberta de fármacos utilizando microscopia eletrônica, cristalografia de proteínas e espectrometria de massas. As duas primeiras abordagens visam extrair ao máximo as novas tecnologias disponíveis no parque de microscopia do LNNano e na linha MANACA do Sirius, incluindo as perspectivas para *high throughput soaking* e de difração de micro e nano cristais na linha MANACA; e as novas tecnologias para a determinação de estruturas de proteínas por criomicroscopia eletrônica, em alta resolução, disponibilizadas pelo LNNano em 2018. Estas plataformas e metodologias têm aplicação direta no Programa de Mecanismos de Doenças e, em particular, nos projetos de descoberta de fármacos a partir de produtos naturais conduzidos no LNBio. Almeja-se, assim, expandir os alvos dos programas de descoberta de fármacos para alvos farmacológicos de ainda maior relevância para inovação farmacêutica, como as proteínas de membrana.

No que tange aos esforços dedicados à internacionalização do Centro, destaca-se a parceria do CNPEM com o programa britânico COMPARE (centro britânico para o estudo de proteínas e receptores de membrana, coordenado pelas Universidades de Birmingham e Nottingham), na área de proteínas de membrana. Em 2018, o programa avançou como decorrência de quatro visitas da equipe do COMPARE ao CNPEM, dando continuidade ao Programa CAPES *Drug Discovery* em andamento com a equipe da Universidade de Nottingham. O primeiro trabalho em parceria foi publicado na revista *Pharmacogenomics Journal* e, como derivação deste projeto conjunto, novas ferramentas para o estudo de proteínas de membrana foram implementadas, incluindo estudos funcionais, preparação de sondas químicas e a extração e purificação de receptores alvo. Um novo projeto em parceria com os colaboradores da Universidade de Nottingham foi submetido para o *Wellcome Trust* (Reino Unido), envolvendo pesquisadores do LNBio, LNLS e LNNano, na área de estrutura e descoberta de novos fármacos atuando sobre receptores de membrana GPCR. O estudo desses receptores é essencial para a compreensão das bases moleculares envolvidas na sinalização celular,

mecanismos de doenças, além de ser estratégico para a descoberta e o desenvolvimento de novos fármacos.

Ainda na esfera das parcerias internacionais, o programa internacional com o Centro de Biologia Estrutural (Grenoble, França), foi reforçado por meio da renovação do projeto SPEC-FAPESP. Como resultado deste programa tivemos mais duas publicações envolvendo a equipe do LNBio, ambas na revista *Scientific Reports*.

Na área de inovação, destaca-se os avanços significativos realizados pelo LNBio no Subprograma em Doenças Infecciosas, incluindo a descoberta de novas moléculas com ação em arbovirus emergentes e alvos para a doença de Chagas. Estes achados permitiram a obtenção de novos financiamentos, incluindo parcerias internacionais, o que deve viabilizar o desenvolvimento das moléculas encontradas em novos fármacos para estas doenças arbovirais emergentes, de suma importância no Brasil.

Também na área de inovação, foram iniciados e estão em execução dois projetos em parceria com a indústria farmacêutica Aché e apoio da EMBRAPII, referentes a contratos assinados em 2017. Os projetos se inserem na área de descoberta de fármacos e contemplam em sua execução a contratação de 3 cientistas diretamente envolvidos nos projetos e, mais recentemente, 6 bolsistas do Programa Talentos para a Inovação, junto ao programa de capacitação EMBRAPII-CAPES/CNPq.

Os esforços para desenvolvimento de dispositivos também marcaram a atuação do LNBio em 2018. Inserido neste contexto, o projeto *Human on a Chip* evoluiu em sua concepção e prototipagem em colaboração com a equipe de microfluídica do LNNano e contribuição de um projetista do LNLS. O protótipo, caracterizado por um dispositivo microfluídico para uso em testes ADMEtox, apresentou níveis de funcionalidade suficientes para a submissão de um pedido de patente provisional ao escritório americano USPTO, em novembro deste ano.

Ainda no âmbito de métodos e dispositivos, o LNBio adquiriu proficiência e capacitou outros laboratórios membros da RENAMA (Rede Nacional de Métodos Alternativos ao Uso de Animais) na execução dos métodos de toxicidade ocular OECD TG 491 e 492, atendendo as diretrizes do Programa PremaSul. Tais métodos focam na avaliação de toxicidade ocular de compostos químicos candidatos a fármacos e cosméticos, em modelos alternativos ao uso de animais. Os protocolos serão obrigatórios no Brasil a partir de 2020, sendo que as atividades desenvolvidas pelo LNBio têm papel importante para a viabilização da implementação destes métodos regulatórios no país.

Os investimentos em infraestrutura foram essenciais para apoiar os projetos de pesquisa, inovação e atendimento a usuários conduzidos pelo LNBio. Destaca-se a aquisição e instalação de um microscópio óptico de super-resolução Leica, modelo TCS SP8 STED 3X, capaz de resolver estruturas da ordem de 50 nanômetros, trazendo importantes contribuições para o Laboratório de Imagens Biológicas (LIB). A pesquisa em bioimagens, métodos e suas aplicações, está em crescente destaque no LNBio, principalmente devido ao alinhamento de projetos e novas estratégias na fronteira do conhecimento a serem exploradas pelo CNPEM, contando com o expertise em preparação de amostras e sondas químicas customizadas do LNBio e seu recém-

instalado parque de microscopia, e, principalmente, das perspectivas das novas linhas de luz do Sirius (caterete, carnaúba e mogno) a serem dedicadas ao imageamento de amostras, inclusive as biológicas.

Kleber Gomes Franchini

Diretor do LNBio

Instalações abertas a Usuários Externos

Instalações	Propostas	Beneficiários	Horas
MAS	37	90	1.399
LEC	18	46	1.018
ROBOLAB	78	43	625
RMN	27	80	4.200
Totais sem duplicatas	160	239	7.242

ABRANGÊNCIA DOS BENEFICIÁRIOS

Brasileiros | 97,5% (88,4% Sudeste)
Estrangeiros | 2,5%

ARTIGOS EXTERNOS

17 artigos que fizeram referência ao uso das instalações do LNBio em 2018

Apoio à geração de inovação nos setores AIS

Horas totais dedicadas ao apoio à geração de inovação	383
Acordos vigentes com empresas dos setores AIS	8

P&D in house

Horas totais dedicadas a Pesquisa e Desenvolvimento internos	8.520
Número de artigos publicados por pesquisadores internos	64
Mediana do Fator de Impacto das Revistas	3,520
Percentual de artigos classificados em Quartis Q1 e Q2	84%
Pós-doutores supervisonados	27
Novos auxílios contratados em 2018	6
Acordos vigentes com Instituições de P&D	5

Treinamento, Educação e Extensão

Eventos de Capacitação	VIII Proteomics Workshop Skyline
	Workshop em Técnicas Ortogonais para Caracterização de Biomoléculas
	PREMASUL: Métodos de avaliação do potencial de irritação e corrosão ocular que utilizam modelos in vitro de córnea
Bolsistas	
Doutorado	38
Mestrado	21
PCI	7
Iniciação científica	12
Outras Modalidades	6

2.2 Instalações Abertas a Usuários Externos

Em 2018, o LNBio manteve quatro de suas Instalações Laboratoriais abertas à comunidade científica, são elas: o Laboratório de Espectrometria de Massas (MAS); o Laboratório de Espectroscopia e Calorimetria (LEC); o Laboratório de Cristalização de Proteínas (ROBOLAB); e o Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). No total, foram atendidas 160 propostas de pesquisa que beneficiaram 239 pesquisadores provenientes de 14 Estados Brasileiros além de 6 pesquisadores vindos da Argentina, Chile, Colômbia, França e Grã-Bretanha. Das 26.175 horas totais de equipamentos disponibilizadas para uso em 2018, 7.242 (27,7%) foram utilizadas por usuários externos para realização de suas propostas científicas.

Além do atendimento a usuários externos, os laboratórios abertos do LNBio prestaram serviços a empresas e atenderam a demanda interna em apoio à pesquisa e desenvolvimento dos Programas Temáticos do LNBio e de outros Laboratórios Nacionais do CNPEM. Vale ressaltar ainda a contribuição destas instalações para o treinamento e a formação de alunos de pós-graduação.

2.2.1. Melhorias de infraestrutura e operação das Instalações Abertas

Laboratório de Espectrometria de Massas – MAS

O MAS atua no desenvolvimento da Proteômica baseada em Espectrometria de Massas para estudar sistemas biológicos complexos. As técnicas utilizadas abrangem análises de identificação de proteínas em misturas simples e complexas, identificação de proteínas em larga escala utilizando abordagens quantitativas, identificação de parceiros de interação, identificação de modificações pós-tradicionais e análises de complexos de proteínas voltados para o mapeamento de suas interações.

O MAS contempla três laboratórios: uma sala de apoio ao preparo de amostras, com equipamentos de pequeno porte; um Laboratório de Instrumentação, equipado com três espectrômetros de massas acoplados a sistemas de cromatografia líquida; um laboratório de análise de dados, que disponibiliza diversos softwares para os usuários.

Em 2018, o MAS atendeu a 37 propostas de pesquisa de usuários externos, beneficiando 90 pesquisadores. Neste ano, ao todo 8 artigos científicos foram publicados por usuários externos com apoio do MAS.

Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear – RMN

O Laboratório de RMN atende usuários internos e externos que buscam determinar a estrutura atômica e a dinâmica de proteínas em solução, caracterizar interações proteínas-ligantes, obter perfis metabólicos e caracterizar pequenas moléculas, sejam elas sintéticas ou naturais. Atualmente, o Laboratório conta com dois espectrômetros

de RMN de alta resolução, operando em 500 e 600 MHz, respectivamente, e com acessórios que permitem melhoria na resolução dos espectros.

Em 2018, destacam-se como melhorias realizadas nas instalações do RMN a implementação de métodos de análise de interação proteína-ligante através de sequências de transferência de saturação (STD). Tais métodos permitem a avaliação simultânea de várias pequenas moléculas com uma dada proteína alvo.

Neste ano, o RMN atendeu 27 propostas de usuários externos, beneficiando 80 pesquisadores. Dois artigos científicos e um capítulo de livro foram publicados por usuários externos que usaram as instalações do RMN, e outros dois artigos foram aceitos para publicação. Em todos esses trabalhos houve contribuição da equipe do LNBio para a coleta, interpretação e/ou análise de dados.

Laboratório de Cristalização de Proteínas – ROBOLAB

O ROBOLAB realiza todas as etapas do processo de cristalização de proteínas e macromoléculas, o que inclui: o preparo das soluções de cristalização; a distribuição dessas soluções em microplacas; a triagem em larga escala das condições de cristalização; e o registro da formação dos cristais. Para tanto, disponibiliza aos seus usuários uma plataforma automatizada que realiza a triagem de centenas de condições de cristalização e sistema de visualização de microcristais, além de permitir o acesso remoto pelo usuário. O ROBOLAB atua de forma coordenada com a linha de luz MX2, do LNLS, para a determinação de estruturas atômicas tridimensionais de proteínas e complexos proteína-ligante.

Em 2018, os avanços e melhorias feitas no ROBOLAB permitiram a realização dos primeiros experimentos de cristalização de proteínas de membrana pelo método LCP (*Lipidic cubic phase*), utilizando o equipamento Gryphon LCP (Art Robbins). Os modelos de placas específicos para experimentos LCP (Laminex e Diffrax) foram cadastrados e alinhados no *Imager Formulatrix*. Esta melhoria permite que o Robolab, além de realizar os experimentos de cristalização de proteínas de membrana, disponibilize as imagens das gotas para que o usuário acompanhe a evolução dos cristais através do sistema *Imager*. Ao todo, o ROBOLAB atendeu 78 propostas de usuários externos em 2018, beneficiando 43 pesquisadores.

Laboratório de Espectroscopia e Calorimetria – LEC

O LEC atua na realização de estudos bioquímicos e biofísicos de macromoléculas, no desenvolvimento e melhoria de métodos de análise de interações, em estudos de dinâmica e estabilidade e em análises de estrutura secundária e terciária de proteínas. Os métodos analíticos disponíveis no LEC permitem a caracterização estrutural e biofísica de proteínas em solução e a obtenção de dados detalhados sobre estruturas, ligantes, constantes de dissociação, associações cinéticas, estabilidade e estados oligoméricos. Possui recursos para medições de afinidade, estequiometria, cinética e

termodinâmica das interações entre proteínas, DNA e ligantes. O Laboratório está equipado para aferir a massa molecular de diferentes formas oligoméricas, estruturação e estabilidade de macromoléculas biológicas.

Em 2018, o LEC adquiriu um equipamento para medidas de espalhamento dinâmico e estático de luz DynaPro Plate Reader III, que permite medir o espalhamento de luz associado a rampas de temperatura em placas de 96, 384 e 1536 poços. Além disso foram realizadas atualizações nos equipamentos "Leitor de placa Glowmax Multi" e "OmniSec".

Ao todo, o LEC atendeu 18 propostas de pesquisa de usuários externos em 2018, beneficiando 46 pesquisadores. Além disso, foram publicados cinco artigos científicos por usuários externos com apoio do LEC.

2.2.2. Destaques científicos de usuários externos

Os usuários externos das instalações do LNBio publicaram ao todo, 17 artigos científicos em periódicos indexados em 2018. Entre as principais técnicas descritas nesses trabalhos destacam-se a proteômica e metabolômica, que são destinadas à descoberta de biomarcadores para traços fenotípicos de interesse em saúde humana e animal.

Com respeito ao uso de técnica de RMN e desenvolvimento de compostos com atividade antimicrobiana, destaca-se o trabalho de pesquisadores da Unicamp na síntese de inibidores da enzima oxidase alternativa (AOX) do fungo causador da doença Vassoura-de-bruxa do cacaueiro. Este trabalho, em parceria com pesquisadores do LNBio, levou ao desenvolvimento de novos inibidores com atividade antifúngica e foi publicado no periódico *Pest management Sciences* (doi: 10.1002/ps.5243).

O artigo *Chitosan nanoparticles functionalized with beta-cyclodextrin: a promising carrier for botanical pesticides*, publicado na revista *Scientific Reports* por pesquisadores da Unesp também fez uso de técnicas de RMN. Neste trabalho as técnicas foram empregadas para a caracterização de complexos entre ciclodextrina e monoterpenos, como carvacrol e linalool, na funcionalização de esqueletos de quitosana com ciclodextrina.

Destaca-se ainda a colaboração internacional para análise de viabilidade do uso de 2D-NMR para a avaliação da integridade estrutural de anticorpos monoclonais utilizados em imunoterapia (*Enabling adoption of 2D-NMR for the higher order structure assessment of monoclonal antibody therapeutics: a multi-national inter-laboratory comparison*).

Os trabalhos *Binding kinetics of ultrasmall gold nanoparticles with proteins* e *Suppression of Plant Immunity by Fungal Chitinase-like Effectors* publicados por grupos de pesquisa da USP e Unicamp, respectivamente, nas revistas *Nanoscale* e *Current Biology,* demonstram a importância do uso de técnicas biofísicas avançadas como as fornecidas pelo LEC no estudo funcional e estrutural de proteínas.

O trabalho *Low bioavailability and high immunogenicity of a new brand of E. coli L-Asparaginase with active host contaminating proteins*, publicado na revista *EBio Medicine* por um grupo de pesquisa do Hospital Infantil Boldrini, reflete a importância de se disponibilizar técnicas avançadas em proteômica para a pesquisa clínica.

Em conjunto, os resultados desses trabalhos mostram que as técnicas analíticas em proteômica, metabolômica e biologia estrutural, oferecidas nas instalações do LNBio, têm contribuído significativamente na qualidade da ciência desenvolvida por diversos grupos de pesquisa do País.

2.3 Pesquisa e Desenvolvimento *in-house*

A equipe científica do LNBio reúne competências especializadas para a realização de pesquisas em temas relevantes e estratégicos nas áreas de biociências e biomedicina. Ao final de 2018, 30 pesquisadores integravam essa equipe, sendo que aproximadamente metade deles são líderes de grupo responsáveis por 19 linhas de pesquisa desenvolvidas no âmbito dos Programas Temáticos *Mecanismos Moleculares do Desenvolvimento de Doenças*, *Descoberta e Desenvolvimento de Fármacos* e *Biologia Computacional*. Todos os programas de pesquisa e desenvolvimento *in-house* contaram ainda com o apoio de um grupo de 23 especialistas e tecnólogos, essenciais para o desenvolvimento dos projetos científicos.

Em 2018, os pesquisadores do LNBio publicaram 64 artigos em periódicos indexados e já disponíveis para consulta na *Web of Science*. O fator de impacto médio dos periódicos onde tais trabalhos foram publicados é de 4,281.

Mais de 8 mil horas de equipamento dos laboratórios de espectrometria de massas (MAS), calorimetria e espectroscopia (LEC), ressonância magnética nuclear (RMN) e cristalização de proteínas (ROBOLAB) foram dedicadas à pesquisa e desenvolvimento interno, o que corresponde a 33% do total de horas disponibilizadas pelas Instalações Abertas do LNBio.

Além dos projetos científicos desenvolvidos no âmbito dos Programas Temáticos, uma linha recente de investigação envolvendo o desenvolvimento de métodos em bioimagem foi introduzida no LNBio. Esta iniciativa é uma consequência de perguntas oriundas dos projetos de pesquisa básica e aplicada já desenvolvidos, bem como da necessidade do CNPEM em capacitar usuários-chave para as novas linhas de luz do SIRIUS. Esta nova infraestrutura apresentará oportunidades únicas no campo das imagens biológicas. Assim, em 2018 foram dedicados esforços significativos para a formação de grupos de trabalho e definição de projetos prioritários para desenvolvimento e aplicação de métodos em bioimagens, os quais terão continuidade em 2019.

2.3.1 Programa de Mecanismos moleculares do desenvolvimento e de doenças

Este Programa tem por objetivo o desenvolvimento de competências multidisciplinares para o avanço da ciência básica voltada para a saúde humana e agricultura. Reúne estudos do papel de macromoléculas na sinalização, regulação e ativação de processos metabólicos envolvidos em câncer, doenças metabólicas e cardiovasculares, doenças do neurodesenvolvimento, e doenças infecciosas.

Câncer

Este subprograma reúne várias linhas de pesquisa do LNBio com objetivo de elucidar vias de transformação e manutenção do fenótipo tumoral. O entendimento dessas vias e a identificação de proteínas diretamente associadas ao processo de transformação maligna das células é a base para o desenvolvimento de novos fármacos capazes de interferir no processo tumoral e progressão do câncer. A seguir são apresentados os principais projetos e resultados científicos obtidos no âmbito dessa temática em 2018.

O projeto ***"Desenvolvimento de estratégias para imunomodulação antitumoral"*** é desenvolvido pelo LNBio em parceria com a Universidade de Miami (EUA), Unicamp e Instituto Moffitt (EUA), e conta com apoio financeiro da FAPESP. O projeto tem como objetivo estudar o efeito da combinação de imunomoduladores em células tumorais geneticamente modificadas, que são irradiadas e utilizadas para potencializar a detecção e eliminação do câncer em modelo animal. Os imunomoduladores podem apresentar atividade coestimulatória em células T regulatórias e inibição de mecanismos imunossupressores. Com base nos resultados anteriores – que demonstram que combinações de vacinas imunomodulatórias atuam em sinergia e podem induzir memória imunológica – em 2018, foi iniciada a construção de vetores para expressão de imunomoduladores humanos, que serão utilizados futuramente para o estabelecimento de linhagens tumorais derivadas de amostras clínicas humanas. Além disso, foram realizados ensaios com modelos animais imunocompetentes desafiados com tumores singênicos, onde se observou um benefício terapêutico significativo da estratégia. Estes ensaios estão relacionados ao desenvolvimento de aptâmeros quiméricos para silenciamento transcricional do fator FoxP3 e inibição do fenótipo imunossupressor de células T regulatórias.

Ainda no âmbito deste projeto, insere-se o subprojeto **"Engenharia de células T regulatórias"**, com objetivo de determinar novos receptores celulares derivados de células infiltradas em sítios tumorais. Como resultado de 2018, foi observada significativa migração de células T no sítio tumoral de animais submetidos à vacinação antitumoral. Além disso, foi concluído o registro de um aplicativo desenvolvido no LNBio que possibilitará analisar inúmeras bibliotecas de RNAs provenientes de sequenciamento de nova geração (processo BR512018051769-2) para a identificação de receptores de células T regulatórias envolvidos na resposta antitumoral.

O grupo também realizou esforços no desenvolvimento de nanopartículas imunomodulatórias derivadas de capsídeos virais, que tem propriedades de estimular células T regulatórias. Observou-se que algumas destas partículas inibem o fator de

transcrição FoxP3 e apresentam a propriedade de coestimular células T regulatórias. Ensaios *in vivo* confirmaram a possibilidade de direcionar as bio-nanopartículas diretamente ao sítio tumoral em modelos animais imunocompetentes desafiados com tumores singênicos. Nestes animais tratados com nanopartículas terapêuticas foi observada significativa redução nos tumores.

Outro projeto inserido nesta temática é o **"*Controle genético e epigenético comandado pelo metabolismo tumoral*"**, apoiado pela FAPESP, que envolve pesquisadores do LNBio, USP, Unicamp e MD Anderson Cancer Center. Este projeto aborda como o metabolismo de glutamina afeta o remodelamento da cromatina e o controle epigenético de vias importantes para a manutenção do fenótipo denominado "*cancer stem cells*" (CSC). As CSC são um subtipo celular dentro da população de células transformadas com capacidade de regenerar um novo tumor e, desta maneira, tem papel chave na reincidência tumoral. Assim, a busca de alvos nesse tipo celular é de extrema importância para completa erradicação da doença. Além disto, sabe-se que sinais metabólicos e nutricionais (diretos ou via enzimas metabólicas) também desempenham um papel importante no controle genético da expressão pela alteração da função de fatores de transcrição. Dessa forma, outro objetivo deste projeto é entender como a isoforma 3 do fator de transcrição induzido por hipóxia (Hypoxia-Inducible Factor, HIF) – que é capaz de interagir diretamente com lipídeos, como mostrado anteriormente pelo grupo – afeta a atividade de regulação da transcrição deste fator. Por fim, o projeto também visa decifrar as bases moleculares e funcionais da interação entre a enzima glutaminase "*kidney-type*" (KGA) e o fator de transcrição PPARγ, também identificadas anteriormente pelo nosso grupo.

No âmbito das atividades que investigam como o metabolismo de glutamina pela enzima glutaminase afeta o remodelamento da cromatina e o controle epigenético associado ao fenótipo CSC, verificou-se que células de câncer de mama do subtipo triplo negativo (TN) com alta incidência de CSC foram mais afetadas pela inibição da glutaminase. Tal resultado revela que esta enzima é um alvo promissor contra estes subtipos celulares. Estes resultados foram obtidos em cultura 2D e 3D de células tumorais, em especial em culturas de mamoesferas, enriquecidas em CSC, assim como em modelos *in vivo* em camundongo. Além disso, empregando modelos de desenvolvimento de glândula mamária normal e tumorigênico, foi verificado que o tratamento com inibidor de glutaminase leva a reversão do fenótipo tumoral. Os dados indicam que a inibição da glutaminase em células TN pode ter efeito terapêutico sobre a recidiva tumoral.

Os resultados do projeto, obtidos usando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, também mostraram que o fator HIF-3α9 interage com lipídeos do tipo linolamida e eicosenamida. Além disso, foi identificada uma mutação no fator HIF-3α9 (A275F) que suprime a sua interação com os lipídeos. A alteração na capacidade de interagir com lipídeos afetou a função de transativação da proteína, o que deve ter uma relação direta com o desenvolvimento tumoral.

Também foram realizados ensaios de duplo-híbrido de levedura, onde se identificou o receptor nuclear PPARγ como um novo parceiro de ligação da glutaminase KGA. Foi observado que a expressão de KGA em câncer de próstata afetou diferencialmente a expressão de quatro alvos do gene PPARγ, três dos quais estão ligados ao uso de fontes alternativas de energia. Estes resultados são inéditos e foram aceitos para publicação[6] na revista *Biochemistry*.

Por fim, foram desenvolvidos dois programas de análise de dados de tumores de pacientes. Os programas permitirão analisar dados de "ômica", disponíveis em bancos públicos, com enfoque em nível de expressão gênica e seu efeito no prognóstico de pacientes.

A linha de pesquisa **"*Proteômica aplicada ao Câncer Oral*"** do LNBio conta com apoio da FAPESP e envolve diversas instituições de pesquisa e hospitais universitários brasileiros (USP, Unicamp, InCor e Icesp) e internacionais: Hospital Universitário de Colônia, na Alemanha; Universidades de Talca e Valparaíso, no Chile; Universidade McGill, no Canadá; Universidade da Virginia, nos EUA; e Hospital Universitário de Oulu, na Finlândia. O objetivo é identificar candidatos a marcadores de prognóstico e/ou alvos terapêuticos para o câncer de boca, bem como elucidar os mecanismos moleculares desses alvos no desenvolvimento do câncer oral, utilizando abordagens de espectrometria de massas baseada em proteômica.

Entre os principais resultados obtidos em 2018, destaca-se a identificação de novos marcadores moleculares de prognóstico e alvos terapêuticos com potencial aplicação clínica (Figura 105). Ressalta-se, sobretudo, a identificação do proteoglicano de superfície celular, denominado 'Agrina', como um importante determinante da progressão tumoral em carcinoma epidermóide e, portanto, um alvo terapêutico promissor. O resultado deste trabalho foi publicado na revista "*Nature Comunications*" e foi o vencedor do IV Prêmio de Inovação Fleury, na categoria "Artigo Científico", em 2018. Além da descoberta do marcador "Agrina", foi descrito o mecanismo de ação da proteína de membrana ADAM17, envolvida na progressão do câncer oral.

[6] Sob o título "*Glutaminase affects the transcriptional activity of Peroxisome Proliferator-activated Receptor gamma (PPARγ) via direct interaction*".

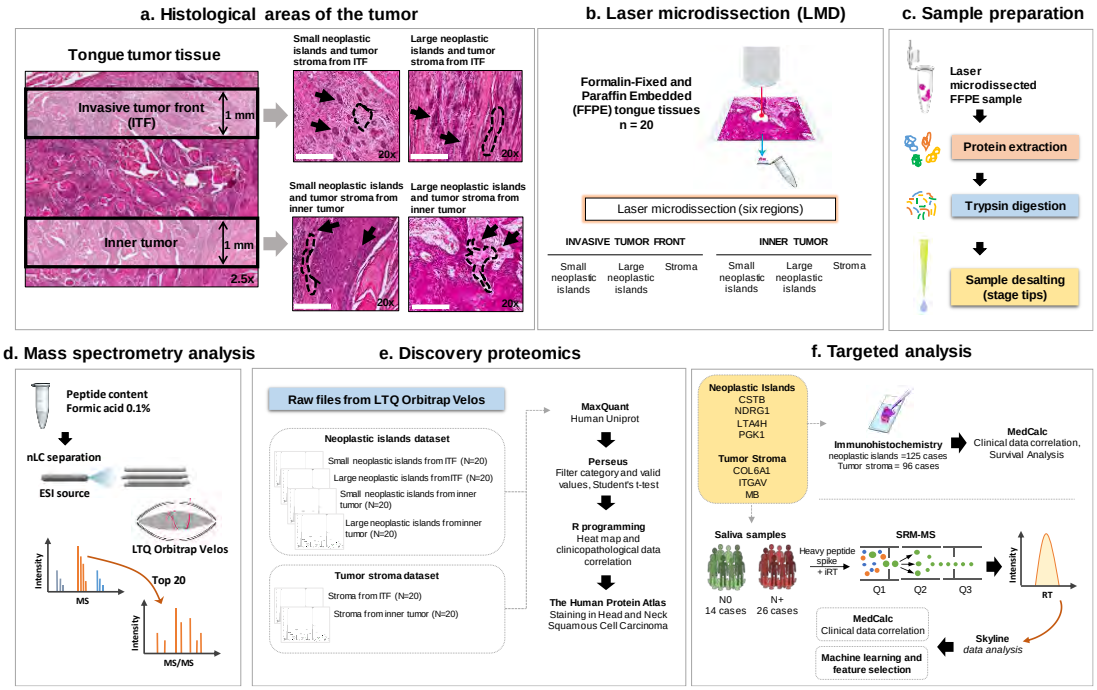


Figura 105. Delineamento experimental para descoberta e verificação de assinaturas moleculares para câncer de boca

A linha de pesquisa **"*Moléculas com ação antiproliferativa*"**, do LNBio, apoiado pela FAPESP e CNPq, conta com a colaboração das universidades brasileiras – Unicamp, USP, UFSCar, Univali, UEM, UFRGS – e estrangeiras – Universidade da Califórnia em San Diego (EUA), Universidade de Tubingen (Alemanha) e Universidade de Warwick (Inglaterra). Esta linha de pesquisa tem como principais objetivos a triagem, caracterização biossíntese e otimização de moléculas com ação antiproliferativa. O projeto reúne várias competências necessárias para as etapas de produção de bibliotecas químicas, do alvo biológico e cristais, além de modelos celulares, triagem de inibidores, caracterização bioquímica, obtenção de complexos cristalográficos, estudos de SAR, como também (bio)síntese de inibidores e análogos.

Em 2018, foram identificados vários produtos naturais e derivados sintéticos com ação no alvo proteassomo e em linhagens tumorais. Além disso, foram estudados os alcaloides bromopirrólicos como inibidores do proteassomo humano e o seu padrão de bromination em produtos naturais marinhos. Os resultados deste trabalho, realizado em colaboração com pesquisadores da USP (Temático 2013/50228-8), foram publicados no *Journal of Natural Products*.

Outro trabalho que merece destaque é a identificação de fragmentos do produto natural actinoranona como citotóxicos para linhagens tumorais. Seus resultados mostraram como a simplificação de produtos naturais pode viabilizar sua preparação em laboratório e, consequentemente, seu uso farmacêutico. O trabalho teve a colaboração do IQ-Unicamp (Projeto Temático 2014/25770-6) e foi publicado *no Journal of Organic Chemistry*.

Destaca-se também a conclusão de uma tese de mestrado, que testou sistematicamente uma metodologia combinada de cristalografia de proteínas e espectrometria de massas, desenvolvida no grupo, para a descoberta de novos produtos naturais bioativos. Este resultado é relevante, pois essa nova metodologia é a base para a plataforma computacional NP^3. A plataforma visa acelerar a descoberta de novas substâncias químicas bioativas a partir de produtos naturais, utilizando dados de cristalografia de proteínas, metabolômica por espectrometria de massas e dados de bioatividade obtidos em moldes *high throughput screening* (Figura 106). A proposição da molécula bioativa é realizada a partir de amostras não purificadas de produtos naturais, cujos componentes químicos são inicialmente desconhecidos. A plataforma NP^3 recebeu financiamento do Instituto Serrapilheira, permitindo a contratação de cientistas da computação no período. Foram desenvolvidos algoritmos computacionais visando o tratamento dados de espectrometria de massas, o que permite melhorar uma etapa na descoberta de fármacos a partir de produtos naturais. Os algoritmos desenvolvidos na primeira etapa do projeto encontram-se em fase final de testes.

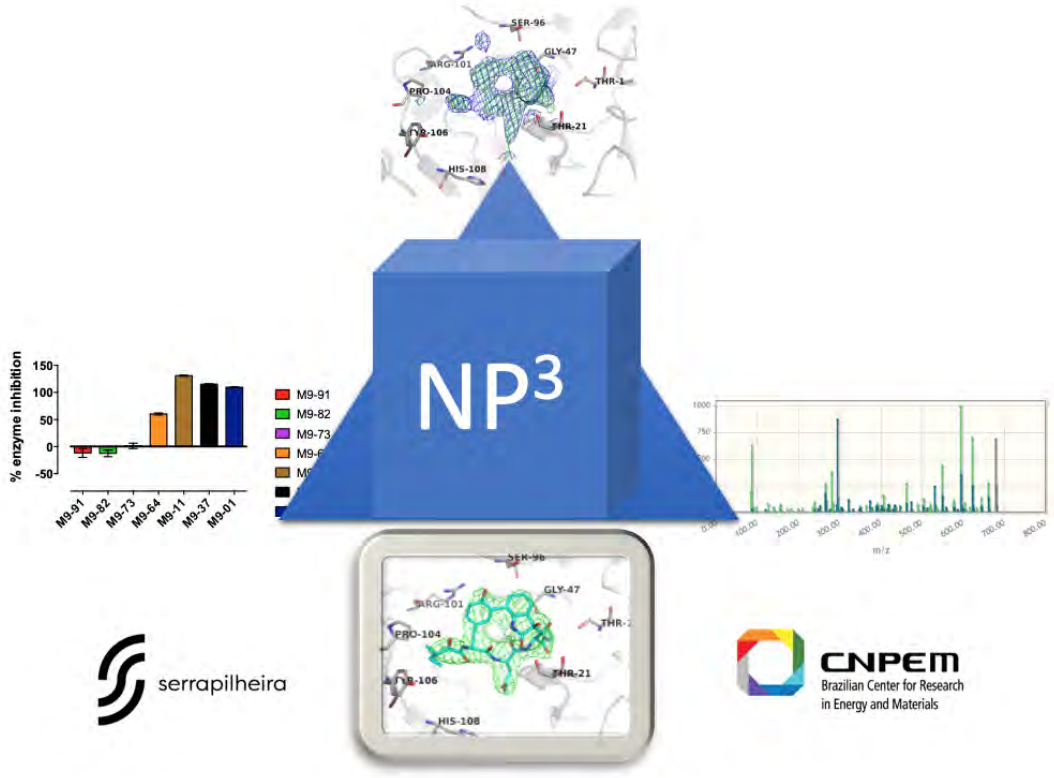


Figura 106. Representação esquemática da plataforma NP^3. À esquerda um exemplo de resultado oriundo de análise biológica de produtos naturais em *high throughput screening*, identificando amostras de produtos naturais com diferentes atividades biológicas. À direita a caracterização de um produto natural desconhecido por espectrometria de massas (espectro de fragmentação). Acima um exemplo de densidade eletrônica para o produto natural inibidor ligado ao sítio de inibição a proteína alvo obtido por cristalografia de proteínas. Abaixo o resultado que se pode obter combinando os três dados experimentais utilizados pela plataforma NP^3: estrutura química e sítio de ligação do produto natural bioativo presente na amostra não purificada de produtos naturais, contendo compostos químicos inicialmente desconhecidos

Também nesta linha de pesquisa, destacam-se os avanços realizados na área de preparação e análise de bibliotecas químicas de micro-organismos e plantas, visando a identificação, caracterização e biossíntese de produtos naturais bioativos. Um artigo de revisão foi publicado neste tema na revista *mSystems*, jornal da Sociedade Americana de Microbiologia.

Outro projeto inserido nesta linha de pesquisa é o **"*Mecanismo de regulação de quinases e fosfatases envolvidas em câncer*",** apoiado pela FAPESP, e realizado em colaboração com a Unicamp, a Universidade de Viena e o Max F. Perutz *Laboratories* (Áustria). O objetivo do projeto é elucidar as bases moleculares da regulação vias de sinalização envolvidas em câncer, especialmente no contexto da sinalização por aminoácidos, combinando biologia estrutural e experimentos em cultura de células. A quinase mTOR e a fosfatase PP2A são componentes centrais destas vias, nas quais a ativação de mTOR tem papel positivo enquanto PP2A age como supressor tumoral. O foco das pesquisas sobre mTOR é um complexo pentamérico chamado Ragulator que é responsável por integrar sinais de disponibilidade de aminoácidos com a ativação de mTOR mediada pelas GTPases Rag. Em relação à PP2A, busca-se entender sua biogênese – o processo pelo qual a subunidade catalítica é modificada (incluindo a metilação do C-terminal) e incorporada em complexos enzimáticos funcionais – e como esse processo é afetado pela proteína reguladora TIPRL.

Em 2018, no âmbito da pesquisa da proteína Ragulator, foi realizada a comparação estrutural e funcional das duas isoformas da subunidade HBXIP, o que confirmou o resultado de que a isoforma curta é predominantemente expressa na maioria dos tipos celulares. Além disso, foram iniciados os estudos de localização subcelular e perfil de interação com outras proteínas humanas. Também foram iniciados os experimentos que visam a caracterização estrutural e funcional da interação das duas isoformas de HBXIP e outras subunidades do Ragulator com a proteína viral HBx, do vírus da hepatite B humano. Na linha investigativa sobre a biogênese da proteína PP2A, foi dada continuidade a avaliação do impacto da proteína TIPRL nos níveis de metilação e atividade de PP2Ac em cultura de células. Estes experimentos, conduzidos em colaboração com a equipe de pesquisadores da Universidade de Viena, Áustria, têm como objetivo avaliar a função de TIPRL em um modelo de diferenciação de células neuronais, no qual a função de PP2Ac é estritamente necessária.

O projeto **"*Estudo da supressão de tumores induzida pelo vírus Zika*",** desenvolvido em colaboração entre o LNBio e a USP, busca avaliar as propriedades oncolíticas da cepa do Zika vírus brasileiro (ZIKVBR) contra linhagens celulares tumorais de mama, próstata, colo retal e embrionária do SNC. O vírus Zika (ZIKV) é amplamente conhecido por causar anormalidades cerebrais devido à sua capacidade de infectar células-tronco progenitoras neurais durante o desenvolvimento. Contudo, foi demonstrado que este vírus também é capaz de infectar e destruir células cancerosas semelhantes a células de tumores embrionários humanos do sistema nervoso central (SNC).

Como resultado deste projeto em 2018, verificou-se uma infecção seletiva de células tumorais do SNC seguida de morte maciça dos tumores que afetam o SNC. Uma única

injeção intra cerebroventricular de ZIKVBR em camundongos nude de BALB / c portadores de xeno enxertos de tumor embrionário humano do sistema nervoso central do cérebro resultou em uma sobrevida significativamente mais longa, menor carga tumoral, menor metástase e remissão completa em alguns animais. As células tumorais que se assemelham às células-tronco neurais em nível molecular com sinalização Wnt ativada foram mais suscetíveis aos efeitos oncolíticos do ZIKVBR. Além disso, foi observado que a modulação da via de sinalização Wnt afetou significativamente a morte de células tumorais induzida por ZIKVBR e o ciclo viral. Em conjunto, estas descobertas pré-clínicas indicam que o ZIKVBR pode ser um agente eficiente no tratamento de formas agressivas de tumores embrionários do SNC e pode fornecer informações mecanicistas em relação aos seus efeitos oncolíticos.

Biologia Cardiovascular e Doenças Metabólicas e Cardiovasculares

Este subprograma de pesquisa reúne um conjunto de projetos científicos que focam no entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos no desenvolvimento da insuficiência cardíaca, bem como no impacto de alterações metabólicas induzidas pela obesidade e o diabetes no sistema cardiovascular. A seguir, estão apresentados os principais resultados dos projetos científicos que compõem este subprograma, referentes ao ano de 2018.

O projeto ***"Síntese e caracterização funcional de inibidores da enzima adenosina quinase humana"***, executado pelo LNBio em colaboração com a Unicamp, tem como objetivo principal o planejamento e a viabilização de rotas sintéticas para obtenção de derivados de quinazolinas, quinazolinonas e pirazolopirimidinas. Estes compostos são capazes de inibir a atividade de quinases e outras enzimas envolvidas em doenças cardiovasculares e metabólicas, ou são essenciais ao desenvolvimento de micro-organismos e células tumorais. O projeto visa ainda a aplicação da técnica de RMN na elucidação estrutural de compostos oriundos de síntese orgânica e no mapeamento de interações entre compostos ativos e potenciais proteínas alvo.

Em 2018, no contexto do desenvolvimento de novos compostos com capacidade de inibir a enzima adenosina quinase humana (AK) foram sintetizados vários derivados de 4-anilinoquinazolinas 8-substituídas, 4-anilinoquinazolinas 6,7- dissubstituídas e 2,4-anilinoquinazolinas 6,7-disssubstituídas. Estes compostos e seus intermediários foram caracterizados pela técnica de RMN e por ensaios bioquímicos e analíticos para subsidiar estudos de relação estrutura-atividade usando-se a proteína AK marcada isotopicamente com ^{15}N, ^{13}C e ^{2}H. No que se refere aos estudos de interação proteína-ligante, os resultados bioquímicos de inibição do complexo ternário da proteína AK demonstraram que o resíduo D310 coordena íons K^+ na estrutura da proteína. Experimentos de RMN 2D revelaram ainda que a molécula de ATP perturba o resíduo D310 e resíduos pertencentes a estruturas hélicoidais adjacentes. Por outro lado, a presença de ATP na proteína AK mutante D310P causou modificações em outros resíduos de aminoácidos indicando uma perda de resposta da proteína aos íons K^+. Experimentos de Saturation Transfer Difference (STD) apresentaram uma interação

mais fraca entre ATP e a proteína mutante, indicando que a proteína mutante é cataliticamente deficiente devido a uma menor interação com os íons K^+ (Figura 107). Estes resultados foram publicados na revista *Scientific Reports*.

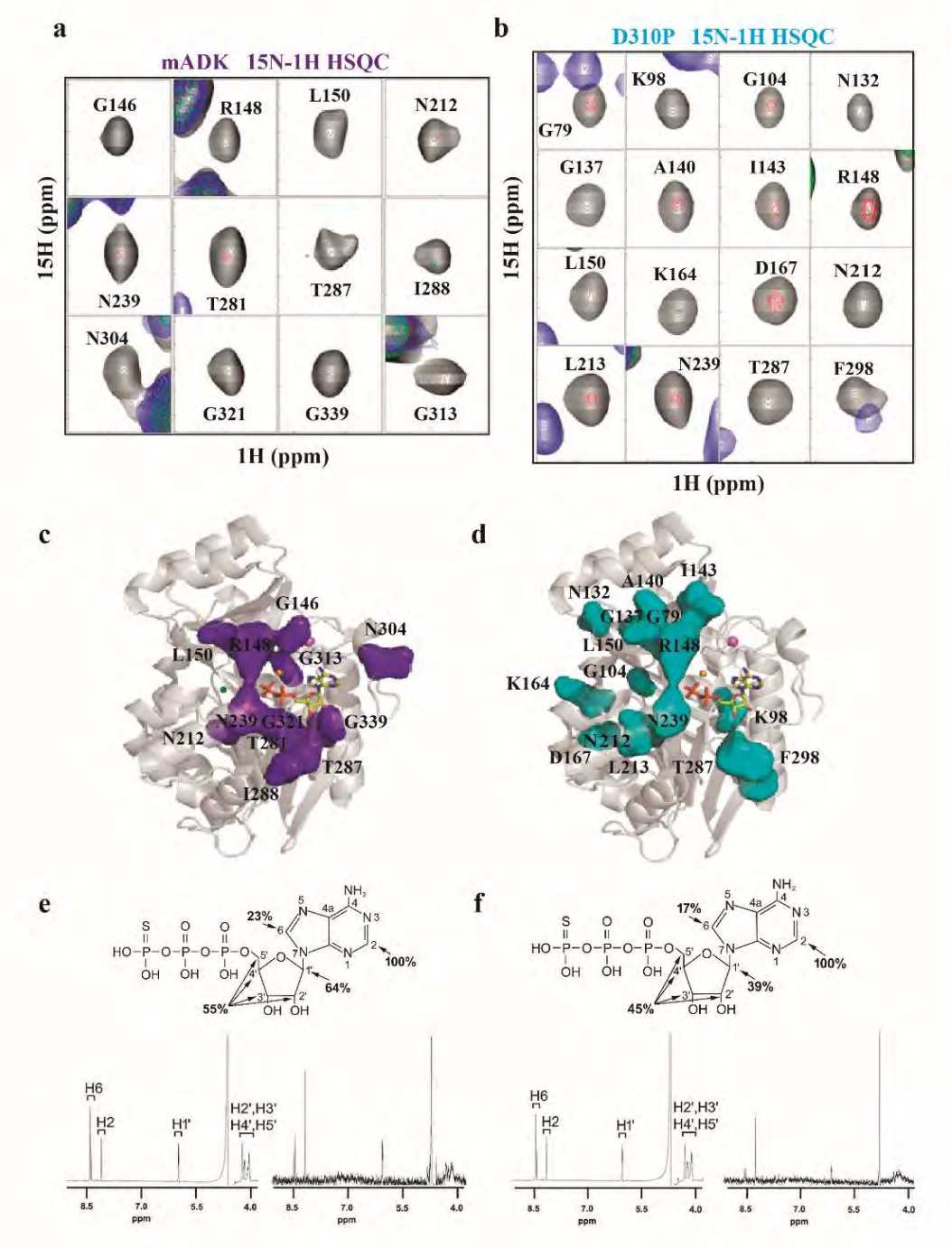


Figura 107. Espectros de RMN 2D ^{15}N-^{1}H HSQC mostrando que a proteína AK mutante D310P perde a interação com íons K^+ na presença de ATP. (a) Proteína AK selvagem e (b) proteína mutante D310P. A relação de concentração AK:ATP varia de acordo com as cores: AK (preto); 1:0,05 (vermelho); 1:0,1 (verde) e 1:0,5 (azul). Para a proteína mutante as relações são: D310P (preto); 1:0,1 (vermelho); 1:0,2 (verde) e 1:0,5 (azul). (c) e (d) representam os resíduos alterados na presença de ATP na AK selvagem e mutante D310P, respectivamente. Espectros de STD para a interação da proteína AK (e) e D310P (f)

O projeto **"*Bases moleculares da insuficiência cardíaca*"**, do LNBio, conta com a colaboração da Unicamp e se insere na linha de pesquisa sobre os mecanismos moleculares com potencial participação no desenvolvimento da insuficiência cardíaca. Dentre esses mecanismos, o LNBio tem dedicado esforços à contribuição dos fatores de transcrição da família MEF2 (A, B, C, D).

Destaca-se como resultados obtidos em 2018, a descoberta de que hiperexpressão da variante de 'splicing' MEF2Cgamma+ contribui de forma determinante para o desenvolvimento de alterações deletérias no miocárdio de camundongos e de humanos. Os resultados, submetidos a publicação, apontam para a contribuição desta variante de 'splicing' como um potencial alvo terapêutico para se prevenir o desenvolvimento de insuficiência cardíaca em várias doenças como hipertensão arterial, coronariopatia aterosclerótica e valvulopatias. Além disso, também estão sendo desenvolvidos antagonistas dos fatores de 'splicing' responsáveis pela hiperexpressão seletiva do fator MEF2Cgamma+, como moléculas potencialmente úteis para esta função específica.

A linha de pesquisa **"*Estudos estruturais e funcionais de receptores nucleares*"** busca elucidar mecanismos de repressão de mutantes de receptores de ácido retinóico (RAR) no desenvolvimento de leucemia promielocítica aguda e de receptores de hormônios tireoidianos (TR) relacionados ao câncer renal e síndrome de Resistência ao Hormônio Tireoidiano (RTH). A pesquisa vem sendo desenvolvida em colaboração com pesquisadores do CNRS (França) e Universidade da Califórnia (EUA).

Como resultado desta pesquisa em 2018, foram identificadas mudanças nos mecanismos de repressão e de ligação a ligantes em proteínas TR mutantes, o que poderá gerar novas aplicações terapêuticas para doenças associadas à disfunção do receptor TR (publicado na revista *Thyroid*). Também foram obtidos na produção de mutantes de RAR fusionados à proteína PML, os quais são altamente expressos em leucemia promielocitica aguda. Além disso, observou-se que estes mutantes possuem capacidade de se agregar no interior das células, dificultando sua interação com DNA, porém mantendo a interação com repressores.

Ainda no âmbito desta linha de pesquisa, foram finalizados os estudos de interactoma do receptor TR, onde verificou-se interação com a proteína PDI, que modifica a atividade do receptor que é dependente de reações de óxido-redução. Este estudo mostrou que a proteína PDI interfere na função do TR, principalmente na isoforma β. O estudo foi realizado em parceria com o Incor e o Instituto de Medicina Regenerativa da California (CIRM).

Com relação ao fator PPARγ, envolvido em sensibilização à insulina e adipogênese, foram realizados estudos que detalham estruturalmente como a fosforilação deste receptor ocorre, e como isso interfere no recrutamento de correguladores causando resistência à insulina. Os resultados permitiram o desenvolvimento de ensaios bioquímicos para a busca de ligantes de PPAR que impeçam a adipogênese e a resistência à insulina. Entre mais de cem compostos testados, foi encontrado um ligante (AM-879) considerado promissor (dados publicados na revista *Frontiers in*

Endocrinology). Este composto, além de ser um não agonista de PPARγ, evitando ativação do receptor e desenvolvimento de efeitos colaterais atribuídos ao tratamento do diabetes por agonistas do receptor, causa sensibilização à insulina por impedir a fosforilação do PPARγ pela enzima CDK5. Além disso, foi finalizado um trabalho que descreve os mecanismos estruturais pelos quais a enzima CDK5 fosforila o PPARγ. Além disso, está em andamento o estudo do desenho racional de peptídeos que possam impedir a interação entre estas proteínas como forma de evitar a fosforilação do receptor.

Ainda no âmbito do projeto do fator PPARγ, destaca-se como resultado a geração de camundongos knockin através da metodologia de Crisper/Cas para introdução da mutação S273A no fator PPARγ, a fim de mimetizar a inibição da fosforilação de PPARγ. De forma alternativa, está sendo testado o efeito do ligante AM-879 em camundongos.

Além disso, foi iniciada uma nova linha de pesquisa em obesidade com o objetivo de entender processos de adipogênese e 'browning' tecidual, através de estudos com organoides que reproduzam o tecido adiposo. Embora em fase inicial, o projeto permitiu desenvolver e caracterizar dois tipos diferentes de organoides, além de padronizar ensaios de adipogênese e 'browning' em culturas em monocamadas.

Por fim, foi inciada um projeto de pesquisa, em colaboração com pesquisadores da Unesp e da Rice University, que relaciona simulações computacionais dos estados conformacionais do receptor de estrógeno (ER) frente a variações de pH. Esta pesquisa busca entender as variações estruturais que ocorrem com pequenas variações de pH do ambiente e relacioná-las às variações que ocorrem no ambiente tumoral, em especial, câncer de mama.

Doenças infecciosas e negligenciadas

O subprograma de pesquisa em Doenças Infecto-parasitárias e negligenciadas tem como principal meta o entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos em infecções humanas causadas por vírus, bactérias e parasitas, e a identificação de proteínas alvos para o desenvolvimento de antimicrobianos e estratégias terapêuticas. O subprograma agrupa vários projetos que visam a descoberta de novas moléculas bioativas contra doenças negligenciadas (como Leishmaniose, doença de Chagas e doença do sono), bem como aquelas causadas por bactérias e outros micro-organismos. Além disso, o subprograma inclui projetos, iniciados em 2016, que buscam compreender os mecanismos de infecção do vírus Zika e de outros arboviros emergentes.

A linha de pesquisa **"*Inibidores para enzimas de tripanossomatídeos*"**, apoiada pela FAPESP, tem como objetivo identificar inibidores de enzimas essenciais para a sobrevivência de parasitas durante o processo de infecção em humanos. A pesquisa também busca elucidar a estrutura cristalográfica dos complexos estabelecidos entre os inibidores e as enzimas alvo. As enzimas estudadas nesta linha de pesquisa pertencem a protozoários causadores de doenças infecciosas negligenciadas, tais como, doença de Chagas, doença do sono e leishmanioses.

Em 2018, foi estabelecida uma colaboração científica com a empresa farmacêutica GlaxoSmithKline (GSK) com a finalidade de testar a inibição da enzima málica do parasita *Trypansoma cruzi* (TcME) por compostos selecionados pela própria empresa GSK. Estes compostos apresentam ação anti-parasitária em ensaios celulares *in vitro*. Cerca de quinze compostos fornecidos pela GSK foram testados em estudos funcionais e estruturais para formação de complexos com a enzima TcME. Também foram obtidas as estruturas cristalográficas para dois desses complexos, determinadas por experimentos de difração de raios-X realizados na MX2/LNLS (Figura 108). Estas estruturas cristalográficas permitiram o planejamento de novas moléculas, que serão sintetizadas no LQPN e serão testadas futuramente para inibição da TcME e efeito tripanocida no LBE e LMP, respectivamente.

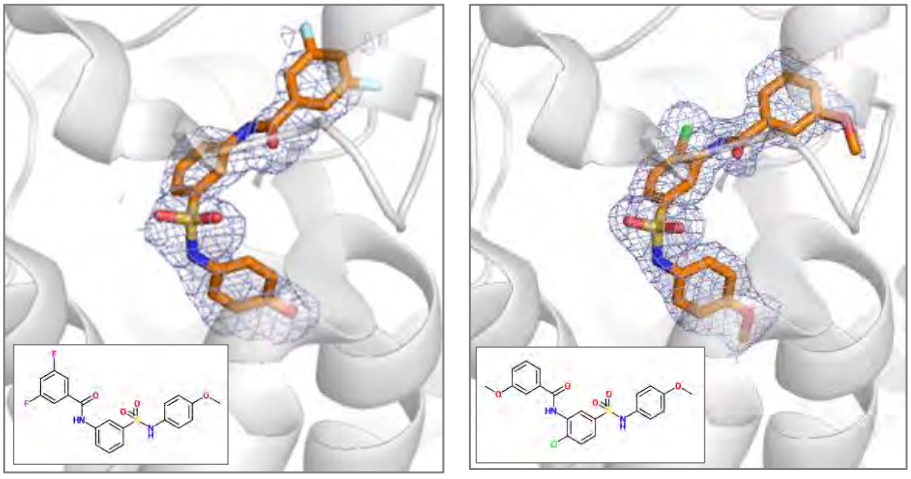


Figura 108. Estruturas moleculares de candidatos a fármacos para doenças de Chagas em ligação com a enzima alvo do parasita. As imagens mostram a conformação dos compostos (em laranja) no sítio ativo da enzima em estudo, com nível de densidade eletrônica mostrada em azul

Além disso, foi assinado um acordo de uso de instalações com o centro de triagem da NOVARTIS, nos Estados Unidos, para realização de experimentos de HTS contra duas proteínas alvo do parasita *T. cruzi*. Nesta colaboração, a NOVARTIS fornecerá a infraestrutura do laboratório de HTS e uma biblioteca de 50 mil compostos. O LNBio enviará dois pesquisadores para treinamento na NOVARTIS e execução dos experimentos.

Neste ano, também foi firmada uma colaboração científica para avaliação do efeito tripanocida *in vitro* de compostos produzidos pelo grupo de química medicinal da Universidade de Monash, Austrália. Esta colaboração já produziu seus primeiros resultados e que deram origem a um manuscrito em fase de submissão para publicação. Além disso, foi aprovado um projeto junto ao Conselho Nacional de Saúde e Pesquisa Médica da Austrália, envolvendo a Universidade de Monash, a Escola de Higiene e Medicina Tropical de Londres e o LNBio para pesquisa e desenvolvimento de novas drogas contra doença de Chagas. O projeto prevê que os compostos preparados pelo

grupo australiano serão testados em ensaios *in vitro* contra *T. cruzi* no LNBio e os mais promissores serão avaliados em modelo animal da doença de Chagas pelo grupo de Londres.

Destaca-se também o treinamento, em parceria com a Faculdade de Medicina da Universidade de Nova Iorque, de membros do LNBio na realização dos ensaios celulares com *T. cruzi*, na forma intracelular. A capacitação da equipe do LNBio neste tipo de ensaio foi essencial para o avanço das pesquisas internas e para o estabelecimento de novas parcerias voltadas para a pesquisa de novos fármacos contra doença de Chagas. Esta parceria também resultou na publicação de um trabalho cientifico descrevendo a descoberta de novos inibidores para a enzima fosfoglicose isomerase (*SLAS Discov.* 2018).

Por fim, em 2018, o LNBio participou de em acordo de cooperação internacional apoiado pela FAPESP (2018/14799-4) entre instituições de Pesquisa do Estado de São Paulo e da Inglaterra. O acordo, coordenado pela USP e pela Universidade de Durham, tem como objetivo estabelecer plataformas para o estudo de proteínas de membrana para aplicações em medicina, agricultura e biotecnologia.

Também no âmbito deste subprograma de pesquisa, está inserido o projeto **"*Doenças Arbovirais Negligenciadas*"**, realizado em colaboração com a Unicamp, UFMG, Famerp e Universidade de Leuven (Bélgica), e que conta com apoio financeiro da FAPESP e CNPq. Doenças arbovirais negligenciadas compreendem as doenças virais transmitidas por mosquitos, como dengue e zika, mas que são negligenciadas em termos de pesquisa e políticas de saúde pública. O estudo destas doenças é essencial para desenvolver tratamentos e vacinas antes que elas emerjam e causem prejuízo à saúde humana e veterinária. O LNBio realiza esforços na pesquisa para o entendimento das doenças causadas pelos vírus Zika, Mayaro, Usutu e Ilhéus, e na proposição de estratégias terapêuticas para essas doenças.

Dentre os resultados obtidos neste projeto, destaca-se o desenvolvimento de ensaios fenotípicos para seleção de fármacos contra os vírus Mayaro e Zika. Estes ensaios permitiram a seleção de cerca de vinte compostos com propriedades protetoras contra a infecção viral, até o momento. Tais moléculas serão testadas em modelo animal. As aplicações dessa pesquisa incluem o desenvolvimento do primeiro tratamento contra as febres do Mayaro e Zika. Além desses avanços, modelos de infecção em camundongos geneticamente modificados na resposta a interferons encontram-se em fase de padronização para o estudo dos vírus Usutu e Ilhéus. Adicionalmente, ensaios fenotípicos levaram à identificação de compostos com propriedades antiviral e neuroprotetora, os quais também serão testados em modelo animal.

Em 2018, o LNBio deu início ao projeto **"*ANTIBIO-BAC: A parede bacteriana como alvo para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos*"**, realizado em parceria com instituições de pesquisa francesas – Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS); Comissariat a l'Energie Atomique et aux Energies Alternatives (CEA); Université Grenoble Alpes (UGA); Institut de Biologie Structurale (IBS, Grenoble, França) e apoiado por agências de fomento brasileiras e estrangeiras – FAPESP, French National Research

Agency, FINOVI Foundation. O novo projeto tem como objetivo expandir o conhecimento adquirido no projeto anterior ("***BACWALL - Estruturação de complexos moleculares da parede bacteriana envolvidos na biossíntese e virulência***"), incluindo experimentos que visam a caracterização de outros complexos proteicos envolvidos na biossíntese da parede bacteriana e sistemas de secreção de toxinas, bem como a expansão do esforço na identificação de novos produtos naturais inibidores de proteínas que participam dos processos de resistência à antibióticos. A fim de alcançar os objetivos propostos serão utilizadas técnicas como a cristalografia de raios-X, microscopia eletrônica, bioquímica e genética microbiana para estudar sistemas complexos de vários patógenos bacterianos humanos.

Em 2018, foram realizados ensaios celulares na busca por novos antibióticos através da triagem de bibliotecas de produtos naturais oriundos da biodiversidade brasileira, que é uma fonte de compostos antimicrobianos ainda pouco explorada. As campanhas de triagem identificaram amostras capazes de bloquear a ação das chamadas '*Penicillin-Binding Proteins*', proteínas essenciais para a formação da parede celular bacteriana, e de bloquear o crescimento de bactérias tanto Gram-positivas quanto Gram-negativas. Os resultados obtidos levaram a publicação de quatro artigos, dois deles contam com a equipe do LNBio e foram publicados na revista *Scientific Reports*.

O projeto **"*Doenças de Plantas*"**, apoiado pela FAPESP, realizado pelo LNBio em parceria com a USP e com o Instituto Agronômico, tem como objetivos a elucidação da estrutura e função de proteínas de citros envolvidas na defesa contra bactérias e de proteínas de patógenos envolvidas em adaptação e desenvolvimento de doenças. O projeto também visa o desenvolvimento de estratégias de controle de doenças em citros.

Destacam-se como avanços do último ano a resolução da estrutura cristalográfica da enzima tRNA sintetase do fitopatógeno *Xanthomonas citri*, agente causal do Cancro Cítrico, em complexo com um inibidor. Estes resultados permitirão aperfeiçoar as propriedades desse composto no sentido de se gerar novas moléculas com melhor atividade antimicrobiana. Nessa mesma linha de investigação, foi identificado um composto derivado de quinazolina com atividade bactericida sobre várias espécies de Xanthomonas causadoras de doenças em planta. Novos derivados de quinazolinas estão sendo sintetizados e testados a fim de se identificar compostos com maior espectro de ação contra bactérias Gram-negativas, incluindo não somente patógenos de plantas, mas também bactérias oportunistas causadoras de doenças em humanos.

Neurobiologia Molecular

O subprograma de pesquisa em Neurobiologia Molecular, criado em 2016, representa um novo direcionamento da pesquisa sobre as bases moleculares de doenças humanas conduzida no LNBio, em alinhamento às recomendações do Comitê Científico Internacional. Atualmente, o subprograma conta com dois projetos que abordam aspectos estruturais e epigenéticos envolvidos no estabelecimento de doenças de neurodesenvolvimento, com ênfase em Deficiência Intelectual (DI) e Transtorno do Espectro Autista (TEA), partindo do pressuposto que fatores genéticos e ambientais

contribuem de forma bastante complexa para a patogênese desses transtornos. Ademais, este subprograma também abrange uma linha de pesquisa em neuroregeneração.

A linha de pesquisa **"*Neurobiologia estrutural – desvendando os mecanismos moleculares de transtornos de neurodesenvolvimento*"**, em parceria com a USP, tem como objetivos estudar a estrutura e a função de proteínas associadas a doenças do neurodesenvolvimento e caracterizar mutações identificadas em pacientes, com o intuito de aumentar o conhecimento a respeito dos mecanismos moleculares envolvidos nessas síndromes. Prevê-se que conhecimento gerado nesta linha poderá subsidiar novas abordagens terapêuticas para tais doenças.

Em 2018, foi dada continuidade a caracterização de mutações encontradas em genes de pacientes com transtornos do neurodesenvolvimento, identificadas por colaboradores da USP, com o intuito de avaliar o impacto dessas mutações na estrutura e função das proteínas afetadas. Adicionalmente, foi finalizada a caracterização estrutural e funcional do primeiro alvo do projeto, a proteína UBE2A, uma enzima de conjugação de ubiquitina. Foram identificadas proteínas parceiras de interação de UBE2A, RAD18 e PCNA, envolvidas no reparo de DNA. Além disso, verificou-se que a nova mutação em UBE2A, identificada em pacientes com deficiência intelectual (DI), causa inibição da atividade enzimática de ubiquitinação do alvo PCNA, um mecanismo essencial para o correto funcionamento dessa via de reparo dentro da célula. Esses resultados, somados aos de resolução da estrutura cristalográfica da proteína contendo a nova mutação, permitiram um entendimento detalhado do mecanismo de inibição da atividade enzimática de UBE2A. Dada a relevância dos achados, os resultados foram publicados na revista *Nature Chemical Biology* (Figura 109).

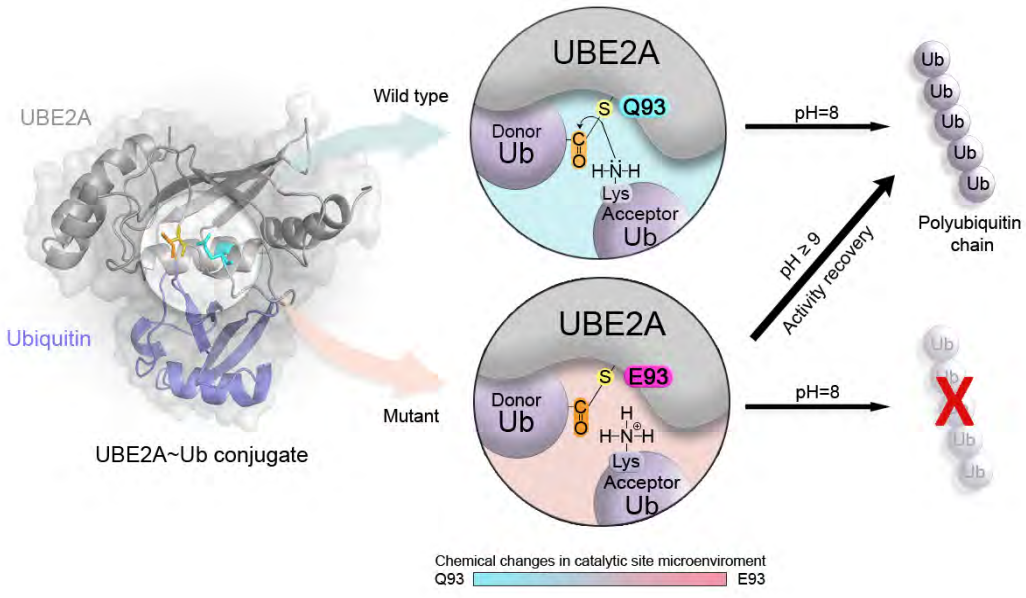


Figura 109. Representação esquemática dos efeitos químicos e funcionais da mutação clínica E93Q encontrada na enzima UBE2A

Em continuidade a esse trabalho, mutações adicionais em UBE2A provenientes de pacientes com DI estão sendo estudadas, através da purificação dos complexos contendo a proteína UBE2A e seus parceiros RAD18 e PCNA, para caracterização estrutural por criomicroscopia eletrônica. Em paralelo, foram realizados esforços para obtenção de mais três proteínas-alvo do projeto: MID1, DDX3X e MAOA. Diferentemente de MID1, a proteína DDX3X foi obtida com sucesso e observou-se que a nova mutação, proveniente de paciente com DI, causou alteração na estrutura secundária e terciária da proteína, resultando em diminuição da sua atividade enzimática. Também foi realizada a otimização da purificação do alvo MAOA, uma proteína associada à membrana mitocondrial, visto esta ser uma proteína transmembranar. O trabalho prevê ainda a produção para caracterização estrutural e funcional da proteína MAOA contendo a nova mutação, identificada pela equipe da USP, em pacientes com DI.

Outra linha de pesquisa contemplada neste subprograma é a **"*Identificação dos mecanismos celulares e moleculares da regeneração medular em zebrafish*"**, em parceria com o *Australian Regenerative Medicine Institute*, da Universidade Monash. O objetivo desta linha é caracterizar os mecanismos celulares envolvidos na neurogênese regenerativa e reconexão dos neurônios recém-formados aos circuitos pré-existentes na medula espinhal de zebrafish, assim como identificar os mecanismos moleculares que ativam as células-tronco e progenitores neurais da medula espinhal, durante o processo de regeneração nesse animal. Os resultados desta linha têm potencial de serem traduzidos no desenvolvimento de novas terapias para o tratamento de pacientes com lesão medular.

Em 2018, este projeto avançou na identificação de vias de sinalização que atuam no controle da proliferação de células tronco e progenitores endógenos, assim como na formação de progenitores neurais. As vias de sinalização foram identificadas através de análise de RNA-seq, sendo altamente super expressas após a lesão medular. Inicialmente, focou-se na via de sinalização por leptina, que mostrou, através de tratamentos farmacológicos e mutagênese, que essa via de sinalização está envolvida no controle da proliferação de células-tronco e progenitoras no período inicial da regeneração, bem como na formação de progenitores neurais e na diferenciação dos mesmos. O tratamento com leptina recombinante leva a um reparo mais rápido do tecido lesionado e o animal mutante para o receptor de leptina não regenera a medula espinhal e tecidos adjacentes, comprovando o importante papel desta via de sinalização para a regeneração bem-sucedida da medula espinhal. Além disso, os resultados obtidos no período revelaram que essa via de sinalização exerce seus afeitos sobre a formação dos progenitores neurais, através de efetor a jusante c-Jun N-terminal kinase (JNK). Adicionalmente, outra via de sinalização que vem sendo estudada é a do ácido retinóico, que se mostrou eficaz no controle da proliferação e da formação de progenitores neurais durante o processo regenerativo.

No contexto das análises por imagens, foi iniciado um projeto, em colaboração entre pesquisadores do LNLS e do LNBio, que visa a construção de ferramentas capazes de gerar o contraste necessário para identificação de estruturas biológicas específicas na linha de microtomografia de raios X do LNLS (atualmente linha IMX e futuras linhas Mogno e Carnaúba no Sirius). Mais especificamente, este projeto envolve o desenvolvimento de sondas que permitam a marcação de células proliferativas com átomos pesados, a fim de identificar neurônios recém-formados e o desenvolvimento de técnicas que permitam a identificação de neurônios específicos. Tais ferramentas permitirão a análise dos mecanismos celulares envolvidos na regeneração e reconexão de neurônios recém-formados aos circuitos medulares existentes, utilizando a técnica não destrutiva de microtomografia de raios X por luz Sincrotron.

2.3.2 Programa de Imagens Biológicas

O programa de pesquisa em Imagens Biológicas tem como principal meta o desenvolvimento de métodos e instrumentação científica em luz síncrotron e o estabelecimento e integração de técnicas de captura e processamento de imagens de alta resolução de amostras biológicas obtidas através de microtomografia de raios X. O programa também prevê a integração de instrumentação avançada em microscopias incluindo a implantação de técnicas avançadas de microscopia ótica de super-resolução.

O projeto **"*Microtomografia de raios X de alta resolução para o estudo da citoarquitetura neuronal do cérebro*"**, apoiado pela Finep, prevê o uso de microtomografia de raios X no estudo da arquitetura das células neurais. A avaliação do número de células, organização espacial e conectividade neuronal são fundamentais para a compreensão da função cerebral. No entanto, a avaliação da citoarquitetura cerebral tridimensional com resolução celular persiste como grande desafio no campo da neurociência. Nesse contexto, a microtomografia de raios X tem se mostrado uma ferramenta não destrutiva valiosa para a obtenção de imagens de uma ampla gama de amostras biológicas, surgindo, portanto, como novo método para decifrar a citoarquitetura e conectividade do cérebro. Através desta técnica, tornou-se possível entender a distribuição espacial e morfologia de neurônios *in situ*, em situações saudáveis e patológicas como nos casos da esquizofrenia, doença de Huntington e epilepsia.

Em 2018, desataca-se como o desenvolvimento de um método para a geração de imagens de neurônios inteiros, baseado na microtomografia de raios X (Figura 110). Essa abordagem não requer manipulação do tecido e permite a investigação de várias células em uma determinada região do cérebro. O primeiro trabalho reportando o desenvolvimento e a aplicação dessa metodologia no CNPEM foi publicado na revista *Scientific Reports*. Exemplos de imagens de tomografia de raios-X geradas por essa técnica podem ser vistas na Figura 110. A técnica será de grande valia para futuros projetos na área de neurobiologia celular e será utilizado na nova fonte de luz síncrotron brasileira, o Sirius, que fornecerá imagens de melhor resolução em escala nanométrica.

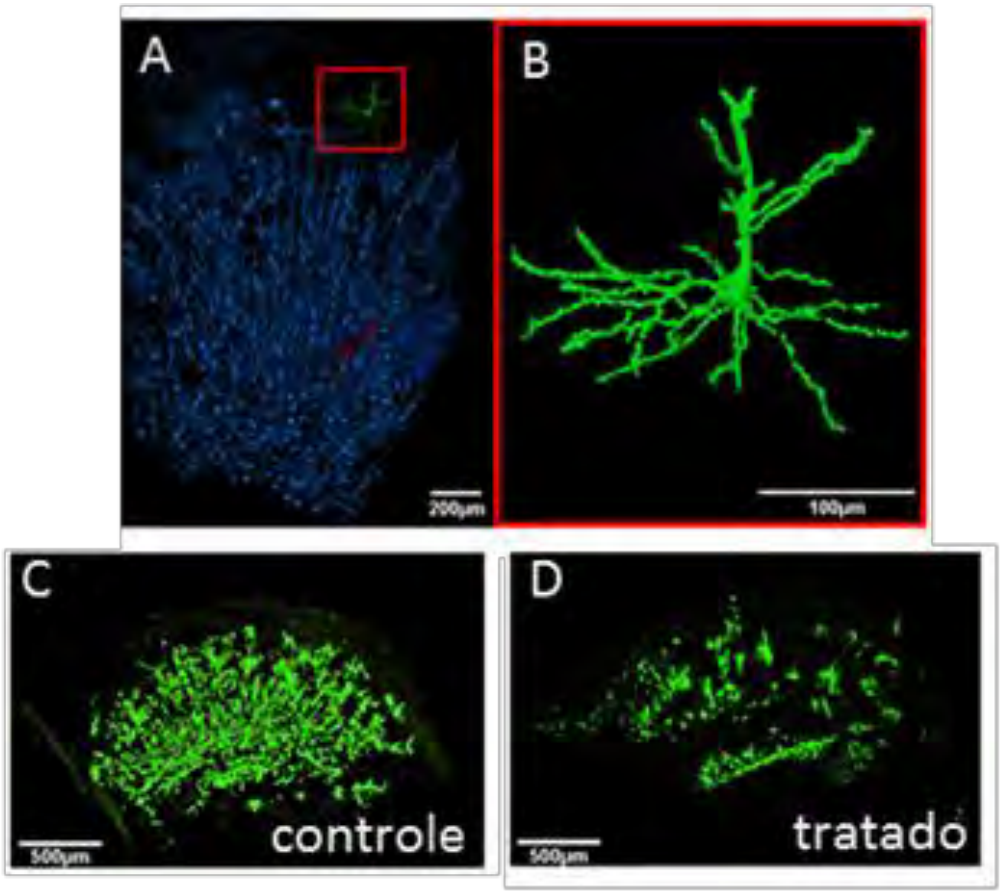


Figura 110. Tomografia de raio X do cérebro de camundongos. (A) Neurônios individualizados em azul, com destaque para uma célula segmentada em verde. (B) Destaque da célula segmentada em (A), mostrando todos os seus prolongamentos. Corte longitudinal do hipocampo de animal controle (C) e animal tratado com agente neurotóxico (D). Os neurônios segmentados são mostrados em verde. É observada a redução do número de células e número de conexões no hipocampo do animal tratado

Também no âmbito deste programa de pesquisa, o LNBio desenvolve o projeto "***Desenvolvimento de instrumentação de micro e nano tomografia por raios-X para medidas de camundongos "in vivo" na nova linha de luz Mogno do Sirius***", que conta com apoio financeiro da FAPESP e Finep. O imageamento de amostras biológicas faz parte de uma recente iniciativa do LNBio, em parceria com o LNLS, para integrar e padronizar avançadas técnicas de captura e processamento de imagens de espécimes biológicos. Associados a essa linha de pesquisa, destacam-se experimentos pilotos realizados na linha de tomografia de raios X, que visam a utilização de camundongos vivos como espécime amostral, como também a implantação de técnicas avançadas de microscopia de fluorescência de super-resolução.

Neste ano, em colaboração com pesquisadores do LNLS, foram desenvolvidos e implementados diversos algoritmos de análise para extração de dados a partir de imagens de tomografia de raios X, com ênfase em espécimes biológicos complexos (como um camundongo vivo). Tais algoritmos permitirão a reconstrução da imagem tridimensional das amostras, como também a quantificação de dados. Em paralelo, foi

realizado o aperfeiçoamento dos sistemas eletrônicos que serão responsáveis, por exemplo, pela captação dos sinais vitais dos animais utilizados na experimentação e da integração desses sinais com as centrais de controle da linha de luz. Como resultado das análises tomográficas feitas, foi observado ganho significativo em resolução, velocidade de medida e uso de baixas doses de radiação aos animais, tornando possível que o mesmo espécime seja analisado diversas vezes.

Além disso, estão sendo realizados esforços para integrar técnicas que permitam que uma mesma amostra seja visualizada por tomografia de raios X (que permite maior penetração sem necessidade de secção) e, em seguida, por técnicas de microscopia com luz visível (confocal e super-resolução). Nesse contexto, está em fase de desenvolvimento um sistema computacional integrado que permite a análise de imagens oriundas de fontes de radiação distintas com uso de computadores de alto desempenho e com processamento em placas gráficas. Exemplos do uso das novas tecnologias de aquisição e processamento de imagens implementadas nesse projeto são mostrados abaixo. (Figura 111, Figura 112, Figura 113).

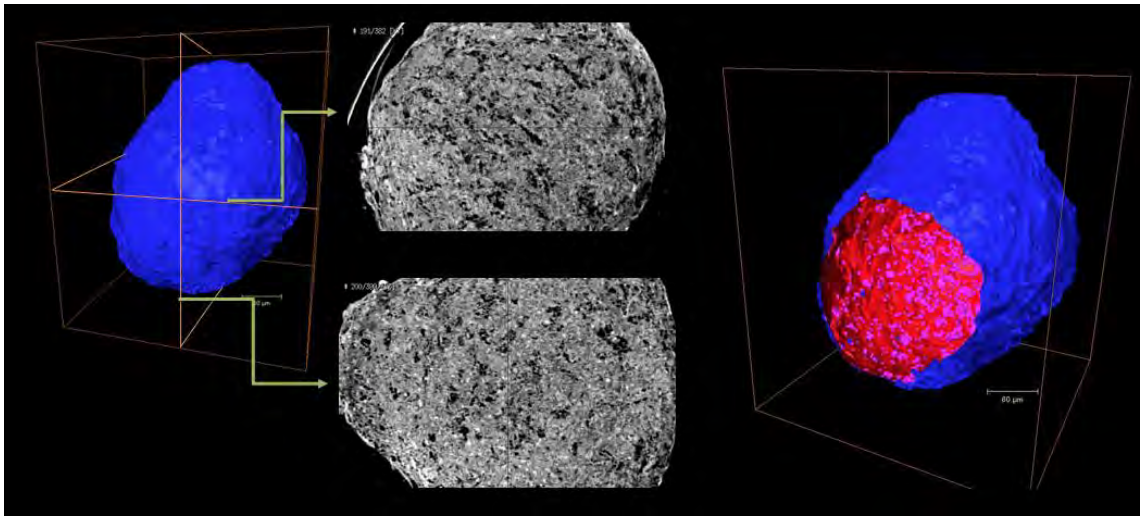


Figura 111. Exemplo de organoide de fígado preparado para tomografia de absorção por raios-X Síncrotron feita na linha IMX (LNLS), com tamanho de pixel de 840 nm. Em azul, é destacado o aspecto tridimensional do organoide, seguido por imagens bidimensionais (em escala cinza) em dois eixos ortogonais, chamadas de "histologia virtual", com espessura de 5µm

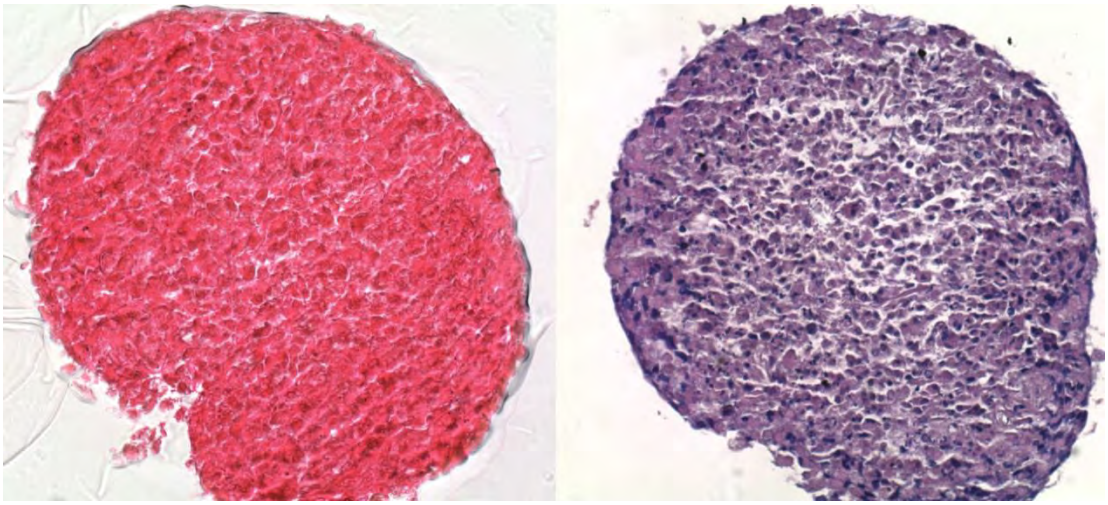


Figura 112. Exemplo de organoide de fígado que foi preparado com eosina para medição por tomografia Síncrotron, e que pode ser usado, em seguida, para secções e análise por luz visível em campo claro. As imagens em campo claro foram obtidas com objetiva de 20x. À esquerda, uma secção da amostra, somente com marcação por eosina (marcação de citoplasma), sem qualquer modificação posterior à tomografia, mostrando integridade estrutural. À direita, secção da mesma amostra, porém, com marcação adicional por hematoxilina para visualização de núcleos celulares

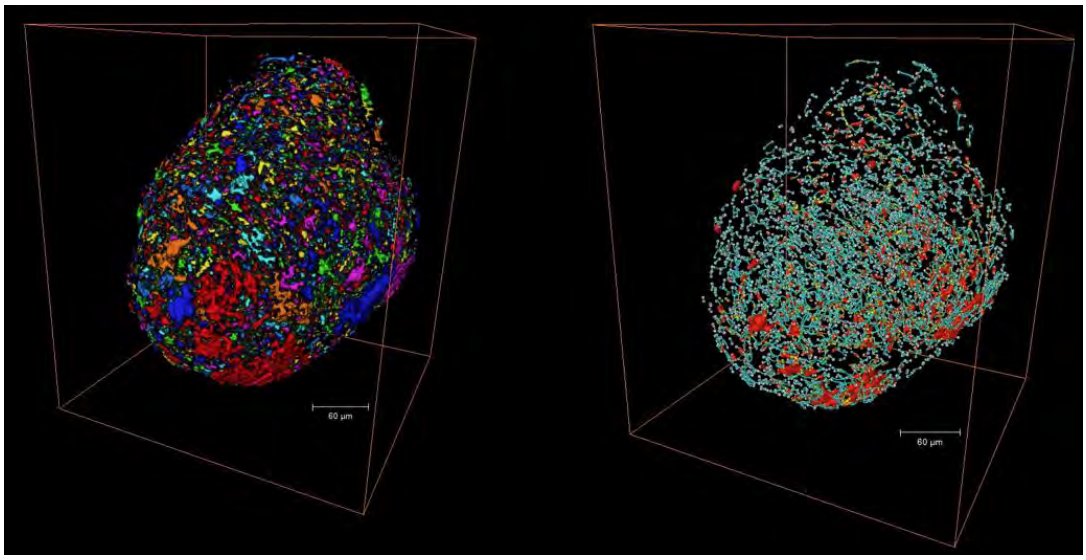


Figura 113. Análise de tomografias de organoide de fígado para obtenção do espaço intercelular em 3D, revelando o arranjo organizado. À esquerda, cores distintas para cada região isolada no espaço 3D. À direita, simplificação da organização tridimensional para quantificação das conexões e estruturação

2.3.3 Programa de Biologia Computacional

O Programa de Biologia Computacional tem por objetivo conduzir projetos de desenvolvimento e aplicação de ferramentas baseadas em biologia computacional para resolver problemas biológicos (como análise de estruturas de moléculas, interações entre alvos biológicos e moléculas), bem como análises de dados gerados por estudos genômicos, transcriptômicos, proteômicos e metabolômicos. Além disso, o programa

também prevê disponibilizar tais ferramentas para pesquisadores internos e para a comunidade cientifica e empresarial brasileira. Em 2018, o programa contou com dois pesquisadores e uma equipe de profissionais dedicados às três linhas de pesquisa descritas a seguir. No âmbito do Programa de Biologia Computacional, o LNBio tem realizado colaborações científicas com outros Laboratórios do CNPEM, e com outros grupos de pesquisa do Brasil e do exterior.

No âmbito deste programa, o LNBio desenvolve a linha de pesquisa **"*Predição e análise estrutural de biomacromoléculas*"**, que tem como principal objetivo a construção de modelos estruturais de alta qualidade de proteínas e seus complexos com outras macromoléculas e com pequenas moléculas. Neste sentido, são utilizados métodos que envolvem modelagem por homologia e dinâmica molecular.

Destacam-se como principais resultados de 2018: (i) a iniciativa de entendimento da biologia de Zika vírus, que levou a publicação de um artigo na revista *Plos Neglected Tropical Diseases*[7]; (ii) o entendimento do mecanismo causal de Esclerose múltipla, com o estudo do receptor de galanina-2, realizado em colaboração com o CIPE-ACCamargo e *University of Nottingham*, que foi publicado no *Phamacogenomics Journal*; (iii) o estudo do mecanismo de mudança de cor pH-dependente da luciferase de vaga-lume, realizado em colaboração com a UFSCar/Sorocaba, que utilizou métodos de modelagem molecular e cálculos termodinâmicos para entender como espectro de emissão de luz é afetado pelo pH. Este último trabalho teve seus resultados publicado na revista *Scientific Reports*.

A linha de pesquisa **"*Predição da atividade de pequenas moléculas e de sua interação com proteínas alvo*"**, desenvolvida em parceria com a Unicamp, visa a utilização de métodos computacionais para predizer propriedades farmacológicas de substâncias. Estas simulações oferecem predições de biodisponibilidade oral e toxicidade para diversos órgãos, e permitem avaliar a capacidade de ligação ligante-proteína.

Destaca-se que esta linha de pesquisa tem permitido a colaboração com diversos grupos de pesquisa no CNPEM e na comunidade científica, auxiliando na análise de dados e predição de atividade de várias pequenas moléculas de interesse biotecnológico. Tais colaborações tiveram como foco a seleção de moléculas para inibir a proteína PPARδ e a análise de inibidores da enzima fosfoglicose isomerase. Os resultados destes trabalhos foram publicados nos jornais *Frontiers in Endocrinology*, *Pest Management Sciences* e *SLAS Discovery*, respectivamente.

Por fim, a linha de pesquisa **"*Desenvolvimento de algoritmos computacionais em biologia estrutural*"**, apoiada pela FAPESP, tem como objetivo o desenvolvimento de algoritmos computacionais para a análise de sistemas biológicos em nível atomístico. Incluem-se aqui métodos de predição de estrutura, predição de interação com macromoléculas ou ligantes e predição de características topológicas.

[7] Artigo intitulado "Hydrocephalus and arthrogryposis in an immunocompetent mouse model of ZIKA teratogeny: A developmental study".

Em 2018, o Laboratório de Biologia Computacional (LBC) do LNBio deu início ao desenvolvimento de um método computacional para a predição da formação hierárquica das estruturas secundárias proteicas. O método tem como objetivo ser aplicado à predição da estrutura secundária, além de fornecer informações sobre as etapas iniciais do enovelamento proteico. Os padrões de formação hierárquica da estrutura secundária poderão auxiliar nos métodos de novo de predição da estrutura atômica e no estudo do impacto de mutações pontuais. O projeto envolve técnicas avançadas de aprendizado de máquina usando redes neurais profundas, cujo o domínio é importante para o desenvolvimento de novos produtos biotecnológicos.

Destaca-se que o software de detecção de cavidades KVFinder, desenvolvido pelo LNBio, tem se mostrado relevante à comunidade científica com 39 citações e 2624 downloads até a presente data. Esta ferramenta está sob desenvolvimento contínuo, sendo constantemente atualizada e otimizada a fim de continuar fornecendo análises indispensáveis ao entendimento das funções proteicas além de auxiliar no desenho racional de fármacos.

2.3.4 Programa de Descoberta e Desenvolvimento de Fármacos

O Programa Descoberta e Desenvolvimento de Fármacos contempla iniciativas de pesquisa interna e outros projetos de inovação vinculados ao Projeto LIMA (agora denominado BrazilMab), MPH e RENAMA – que serão descritos na seção **2.4 Apoio à geração de inovação**.

O projeto **"*TransTar*"**, apoiado pela CAPES, desenvolvido em colaboração entre o LNBio, Unicamp, Universidade de Nottingham, ACCamargo Cancer Center, é uma plataforma transatlântica para descoberta de fármacos baseado em alvos. As etapas do processo de *Drug Discovery* (DD) abrangidos nesta plataforma são: descoberta e validação de alvos; desenvolvimento de ensaios (celulares e enzimáticos) e triagem; validação e caracterização dos *hits* estudos de SAR; análises DMPK; planejamento racional e otimização *hit2lead*.

Em 2018, foram executados os quatro subprojetos definidos em 2015 para desenvolvimento no CNPEM. Também foram realizadas quatro visitas da equipe de Nottingham e Birmingham (programa COMPARE) ao CNPEM em 2018, onde foram discutidos os resultados dos projetos em andamento, as perspectivas dos mesmos e possibilidades para novas fontes de financiamento. Como resultado, uma nova proposta de pesquisa foi submetida ao *Wellcome Trust*, que foca no planejamento racional de ligantes, guiado pela estrutura de receptores GPCR e ensaios funcionais multiparamétricos. Este novo projeto envolve pesquisadores do LNBio e da Universidade de Nottingham, do LNNano e do LNLS, além de outros pesquisadores de renome na área de estrutura e função de receptores GPCR.

No âmbito do **"*Sub-ProjetoTransTar 1: Desenvolvimento de antagonistas do receptor beta2-adrenergico (b2AR)*"**, foi sintetizada uma primeira série de 12 compostos e

avaliada em receptores b1AR e b2AR através de ensaios celulares executados em Nottingham. Os resultados levaram a proposta e síntese de 24 novos compostos no LNBio-CNPEM, e sua avaliação foi realizada em Nottingham. A análise deste conjunto de compostos levou a proposta e síntese de um novo conjunto de 24 compostos no CNPEM, que será avaliado em Nottingham. A análise desses resultados poderá levar a síntese de novos compostos, ou ao planejamento de ensaios celulares mais sofisticados visando a avaliação da farmacologia dos compostos mais promissores. Em paralelo, foram avaliadas no LNBio as sondas químicas sintetizadas em Nottingham, como alternativas para a avaliação de ligantes para os receptores bARs. Prevê-se que a expertise adquirida subsidiará o desenvolvimento de novas ferramentas para a avaliação dos receptores bARs no Brasil, tais como sondas químicas, que possam viabilizar a realização dos ensaios celulares *in situ*, para avaliação dos ligantes nos receptores bARs, bem como oferecer novas alternativas para visualização dos receptores beta-adrenérgicos por técnicas de tomografia utilizando luz síncrotron.

No ***"Sub-Projeto TransTar 2: Desenvolvimento de candidatos a lead para tripanossomiase agindo sobre as enzimas G6PDH e MEc"*** foi planejado o desenvolvimento de 2 classes químicas, visando a inibição da enzima G6PDH, sendo elas derivados esteroidais preparados no Brasil e quinazolinonas preparadas em Nottingham. Foi concluída o desenvolvimento de uma dessas classes, cujos resultados estão em vias de publicação. A avaliação dos esteroides em ensaios enzimáticos destacou compostos altamente potentes e seletivos para a enzima do parasita em relação à enzima homóloga humana. Porém, os compostos se mostraram tóxicos e com eficácia menor do que o medicamento referência (benznidazol) em ensaios celulares que visaram avaliar o poder tripanocida. Por sua vez, os derivados da quinazolinona serão avaliados em breve no Brasil em ensaios enzimáticos e celulares, visando a obtenção de candidatos seletivos para a enzima do parasita e eficazes em ensaios celulares. Os resultados poderão levar, em 2019, à produção de novos compostos e/ou à realização de ensaios avaliando propriedades farmacológicas, tais como absorção (permeabilidade) e metabolização dos melhores compostos.

Destaca-se ainda o descobrimento de sulfonamidas como uma classe química de inibidores da enzima málica (MEc) de *T. cruzi*. Esta classe se mostrou extremamente potente e seletiva, o que levou ao planejamento de novos compostos para ampliação dos estudos de relação estrutura-atividade, guiados por estruturas cristalográficas de complexos ligante:enzima obtidas na linha MX2 do LNLS-CNPEM. Além disso, prevê-se a realização, em 2019, de ensaios avaliando as propriedades farmacológicas, tais como absorção (permeabilidade) e metabolização dos melhores compostos.

No âmbito do ***"Sub-Projeto TransTar 3: Triagem de pequenas moléculas inibidoras da formação do complexo AlfaB-Cristalina/FAK: Desenvolvimento de um ensaio HTS em modelo celular"*** foi desenvolvido um ensaio celular para avaliar a formação do complexo AlfaB-Cristalina/FAK em células vivas. O ensaio foi executado em Nottingham e encontra-se em fase final de validação. Em paralelo, a equipe de síntese química do projeto planejou e sintetizou uma dezena de compostos miméticos da interface de

interação AlfaB-Cristalina/FAK. Para 2019, está prevista a avaliação biológica desses e outros compostos, utilizando o ensaio desenvolvido.

Por fim, no contexto do ***"Sub-Projeto TransTar 4: Avaliação dos efeitos de mutações clínicas no receptor de galanina GALR2",*** foi realizada a avaliação e caracterização do mutante clínico W249L do receptor GALR2, que foi encontrado em paciente brasileira diagnosticada com esclerose múltipla. Os resultados obtidos foram publicados em 2018 e são exibidos na Figura 114.

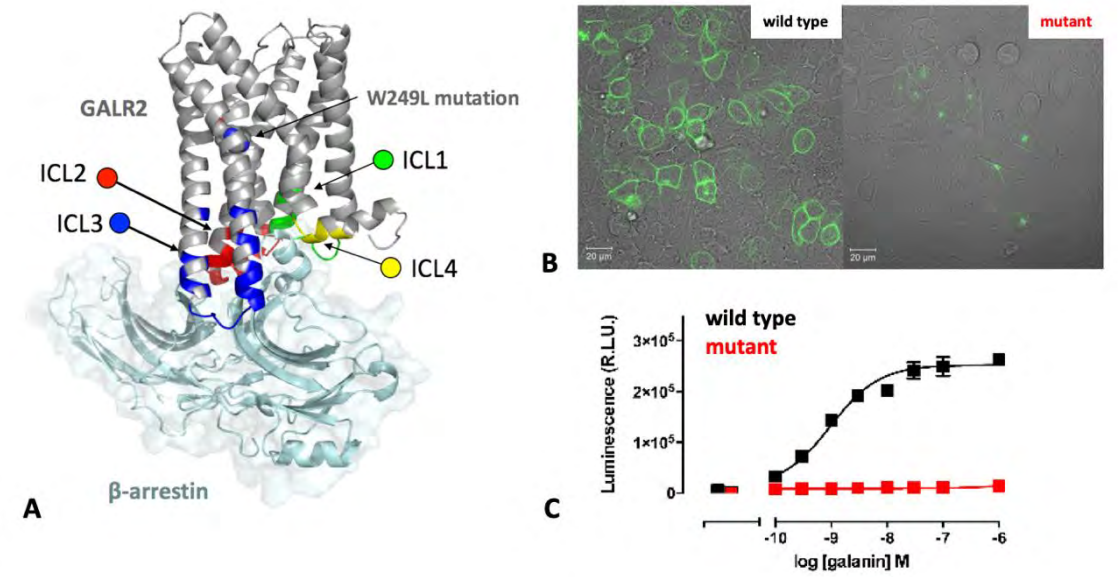


Figura 114. Principais resultados mostrando os efeitos funcionais da mutação clínica W249L encontrada na no receptor de galanina 2 (GALR2). (A) Modelo *in silico* do GALR2 em complexo com beta-arrestina. (B) localização celular (membrana) do receptor selvagem e mutante (internalizado). (C) Ensaio funcional de resposta ao agonista de GALR2 - galanina - utilizando ensaio de cálcio

Além disso, foi realizada a análise estrutural aprofundada do receptor GALR2, através de métodos *in silico*, seguido da preparação de mutantes planejados do receptor. Os mutantes, transferidos pela Universidade de Nottingham ao CNPEM, foram avaliados por métodos de imagem no LNBio. Os resultados mostraram que a mutação clínica pode ser revertida, e que alterações na porção intracelular do receptor podem controlar sua interação com proteínas parceiras e as vias de sinalização ativadas por este receptor. Estes achados estimulam a busca por moléculas químicas capazes de modular a ação de GALR2, um receptor importante para neuroproteção e envolvido em doenças neurodegenerativas. O receptor GALR2 e um dos mutantes selecionados foram purificados, e foram iniciados estudos estruturais por microscopia eletrônica (LNNano-CNPEM), que serão continuados em 2019. Estes dados poderão auxiliar ainda mais no planejamento racional de moduladores do receptor GALR2 e sua aplicação em doenças neurodegenerativas.

Ainda no âmbito deste subprojeto, foram propostas novas ferramentas para o estudo do receptor GALR2, seus mutantes e ligantes. Primeiramente, foram planejadas sondas

fluorescentes que permitam a localização do receptor, bem como o estabelecimento de ensaios em modo *high throughput screening* (HTS) para triagem de novos ligantes. Um conjunto de precursores sintético, preparados em Nottingham, foram avaliados no CNPEM, usando um dos ensaios biológicos funcionais, em modo *low throughput*, implementados no centro, como decorrência da parceria com a Universidade de Nottingham. Destaca-se que um dos compostos sintetizados apresentou efeito antagonista ao receptor, o que é desejado para uma sonda química. As próximas etapas visam completar a síntese de uma sonda fluorescente no CNPEM (adição do fluoróforo), bem como a realização de ensaios celulares e de bioimagens para confirmar as propriedades desejadas para a sonda fluorescente. Em caso de sucesso, o ensaio biológico com a sonda fluorescente desenvolvida será utilizado para a caracterização aprofundada de mutantes de GALR2, bem como para a triagem de ligantes do receptor GALR2. O ensaio já implementado (ensaio funcional) será utilizado como ensaio ortogonal para a validação dos novos ligantes encontrados e para a caracterização funcional dos mesmos.

Ainda no âmbito deste programa, o LNBio desenvolve o projeto **"*Estudos SAR e otimização hit2lead por síntese química*",** que conta com apoio financeiro da FAPESP e CAPES. Enzimas da classe das oxidoreductases – tais como, a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) e a enzima málica citossólica (MEc) – são alvos essenciais para a sobrevivência do parasita *Trypanossoma cruzi*. A busca de inibidores desses alvos contribui, portanto, para o desenvolvimento de novos fármacos contra a doença de Chagas.

Em 2018, o subprojeto **"*Otimização hit-2-lead de inibidores da G6PDH*"** resultou na síntese de derivados esteroidais e sua identificação como inibidores seletivos da enzima G6PDH. Estes inibidores incompetitivos estão sendo desenvolvidos baseado na estrutura do ligante (*ligand-based drug design, LBDD*), pois ainda não foi possível obter estruturas de raio-X dos complexos, apesar de várias tentativas. Dos 11 compostos avaliados, apenas um composto (mbz027) se destacou com um perfil de eficácia e segurança (não-toxicidade) idêntico ao do benznidazol (fármaco atualmente em uso para tratamento da doença de Chagas), porém, este não foi seletivo para a enzima do parasita em ensaios enzimáticos. Consequentemente, foram planejados novos compostos baseados em mbz027 que promovam seletividade em ensaios enzimáticos, e eficácia similar ou melhor à do benznidazol em ensaios celulares. Também neste ano, foram sintetizados 13 novos derivados e avaliados pela seletividade e eficácia em ensaios enzimáticos e celulares, respectivamente, porém, nenhum destes compostos se destacou. O resultado levou a exclusão desta classe de esteroides da *pipeline* do LNBIo, e os resultados estão sendo compilados para publicação. Adicionalmente, foram sintetizados novos compostos da classe das quinazolinonas em uma estratégia de *LBDD*, em Nottingham. Como resultado, foi preparado um conjunto de 29 compostos. A avaliação destes compostos está prevista para o início de 2019.

No âmbito do subprojeto ***"Otimização hit-2-lead de inibidores da MEc",*** inibidores da classe das sulfonamidas com alta potência e seletividade contra a enzima MEc foram identificados e incluídos na *pipeline* do LNBio. As estruturas de raio-X de complexos

inibidor:enzima foram obtidas com inibidores comerciais (ChemBridge) ou de colaboradores (GSK), viabilizando a estratégia de desenho de novos compostos baseado na estrutura da enzima (*structure-based drug design, SBDD*). Ao todo, foram sintetizados 8 compostos visando ampliar o estudo de estrutura-atividade (*structure-activity relationship,* SAR). Destaca-se que uma nova estrutura de raio-X do complexo foi alcançada, este é o primeiro complexo com ligante desenvolvido *in house* e representa um novo marco para a plataforma de desenvolvimento de fármacos do LNBio. Estes compostos estão em fase de análise em ensaios enzimáticos e celulares, e os resultados indicarão os próximos passos para 2019.

Em 2018, o subprojeto ***"Síntese de compostos planejados para agir na interface de interação CryAB/FAK"****,* em colaboração com o LBC, avançou no planejamento de pequenas moléculas químicas capazes de se ligarem à chaperona cryAB, com potencial interferência na interação de sua proteína cliente FAK. A rota sintética para produção destes compostos está sendo considerada no planejamento dos inibidores.

Por fim, no âmbito do subprojeto ***"Síntese de compostos com ação antiviral****" foram propostos* compostos com ação antiviral e de difícil aquisição. A rota sintética para produção dos mesmos foi planejada e encontra-se em execução.

O LNBio também desenvolve o projeto **"*Sistema Microfisilógico Brasileiro*"**. O objetivo é desenvolver um Sistema Microfisiológico (SMF) caracterizado por um dispositivo microfluídico povoado com organoides funcionais de: intestino, fígado, rim e tecido adiposo. Esse SMF deverá ser capaz de executar testes ADMETox de candidatos a fármacos. O projeto é uma continuidade do projeto *Human on a Chip,* concluído em 2017 com o apoio da RENAMA.

Destaca-se como principal resultado obtido em 2018, o desenvolvimento, prototipagem e teste de um dispositivo microfluídico, que atingiu níveis de funcionalidade suficientes para a submissão de um depósito de patente. O dispositivo foi desenvolvido sob a liderança do LNBio, mas contou com a colaboração do LNNano.

O projeto **"*Desenvolvimento e Caracterização morfológica tridimensional de organoides humanos*"**, uma parceria do LNBio com o LNLS, visa produzir os organoides que serão integrados ao SMF. Organoides são estruturas artificiais, criadas para estudos *in vitro* capazes de exercer as funções primordiais do órgão *in vivo* correspondente. A tridimensionalidade, a comunicação intercelular e a emulação da histoarquitetura do órgão original são essenciais para a obtenção de respostas de relevância fisiológica e farmacológica dos modelos *in vitro*. A confecção de organoides esferoidais possui vários aspectos atrativos: são fáceis de produzir e manusear, seu tamanho e composição podem ser controlados de forma relativa (pois as células continuam a proliferar após a formação da esfera) e não necessitam de molde para a sua formação.

Em 2018, foram realizados os ensaios de padronização e estabelecimento de equivalentes de intestino, fígado e coração humano, os quais foram bem-sucedidos. Também foram feitas as caracterizações morfológicas por micro tomografia de raios X e por técnicas de microscopia (Figura 115, Figura 116 e Figura 117).

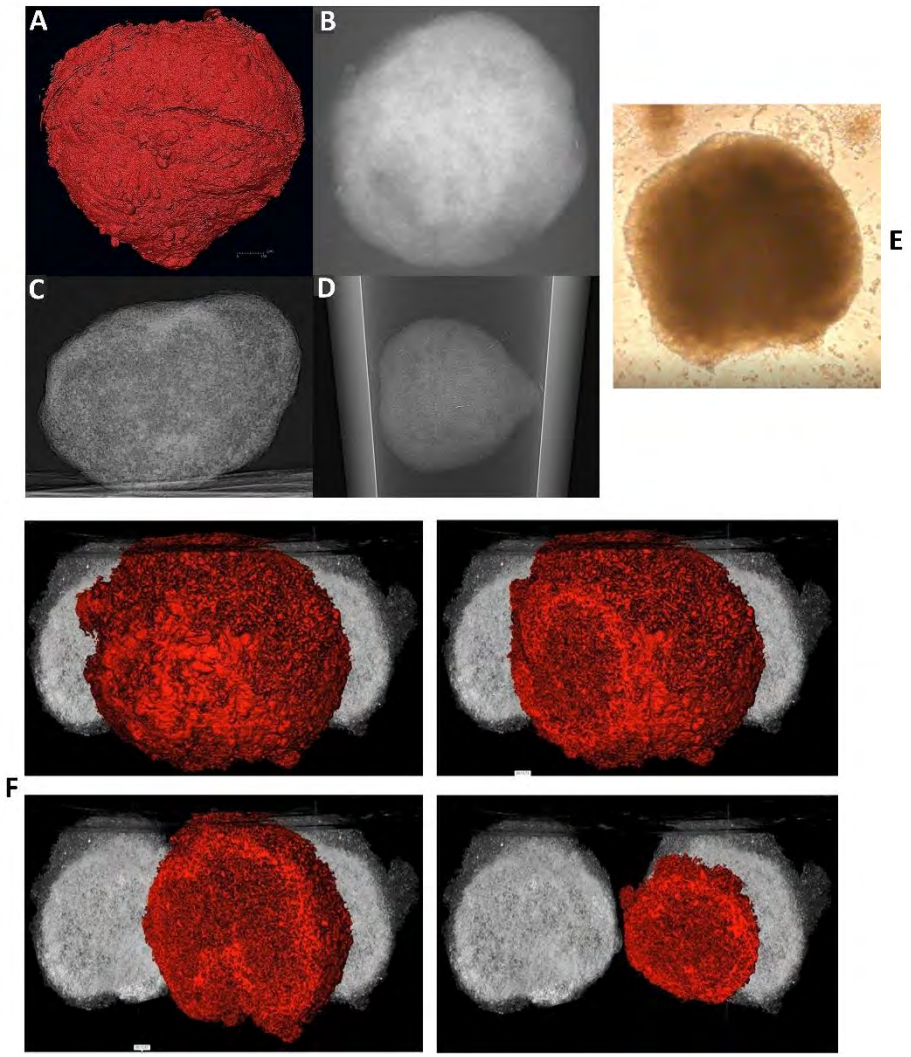


Figura 115. Cardioesferas produzidas com cardiomiócitos derivados de células de tronco humanas induzidas à pluripotência produzidas pela empresa PluriCell. A -) Reconstrução tridimensional de Amira - marcação com ósmio e finalização em ETOH. B-D-) Imagens de raios-X C-) com ponto crítico D-) Imagem de raios-X mostrando a cardioesfera dentro do porta-amostras da linha de luz síncrotron. E-) Imagem de microscopia de luz de uma cardioesfera. Ampliação 4x. F-) Cortes da microtomografia síncrotron de raio X tridimensional da reconstrução de Amira

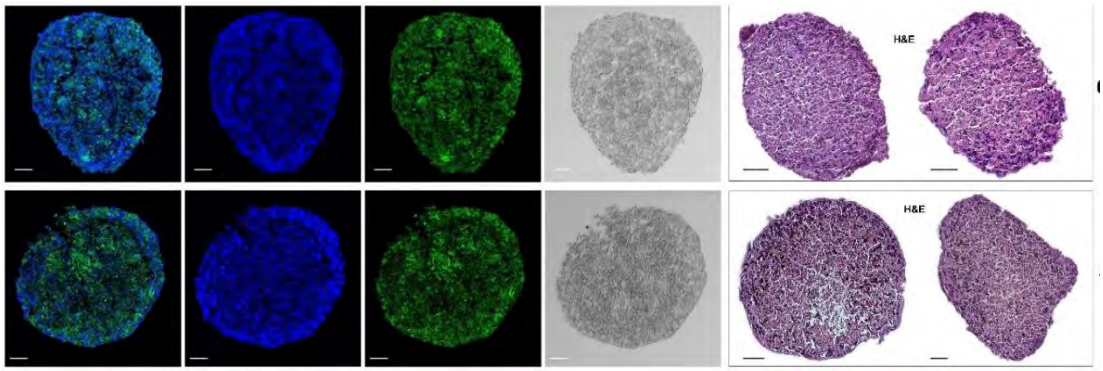


Figura 116. Imagens confocais de secções transversas de esferoides do fígado. (coloração de hematoxilina e eosina; barra de escala = 50 µM)

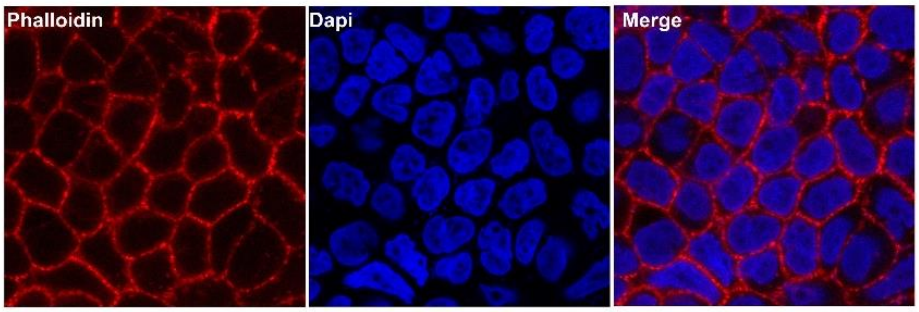


Figura 117. Barreira Intestinal. Ilustração de um *transwell* com equivalente do intestino. Imagens de microscopia de fluorescência confocal representativa de células Caco-2 / HT-29 não tratadas, coradas com DAPI e corante fluorescente de faloidina (núcleos de células e filamentos de actina, respectivamente). Ampliação de 63x, zoom 2,6

2.4 Apoio à geração de inovação

Os programas de apoio à geração de inovação do LNBio apresentaram grandes avanços em 2018. Destaca-se a expansão e consolidação da Biblioteca de Produtos Naturais Phytobios (BPNP, MPH), atraindo o interesse de empresas da indústria farmacêutica e de cosméticos. Neste ano, também houve a consolidação da parceria entre o LNBio e as empresas Phytobios e Aché, com apoio da EMBRAPII associada aos projetos de descoberta de novos Insumos Farmacêuticos Ativos (IFAs) a partir da BPNP.

O projeto *Human on a Chip* apresentou resultados importantes tais como a invenção (e registro de pedido de patente) de um novo dispositivo microfluídico inteiramente concebido no CNPEM, por meio da parceria entre o LNBio, LNLS e LNNano. Além disso, houve avanço significativo na produção dos organoides que, futuramente, serão integrados ao *chip*.

Por fim, destacam-se avanços significativos na nacionalização de testes alternativos ao uso de animais para desfechos de toxicidade ocular que serão exigidos pela ANVISA a partir de 2021.

2.4.1 Projetos desenvolvidos em parceria com empresas

O projeto **"*Projeto MPH - Molecular PowerHouse*"**, desenvolvido em parceria com a empresa Phytobios/Centroflora, maior produtor brasileiro de extratos vegetais, visa criar e consolidar no LNBio uma biblioteca de produtos naturais da biodiversidade brasileira. A Phytobios executa a bioprospecção, coletando amostras em conformidade com a regulação vigente em 4 biomas brasileiros: Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado e Caatinga. As amostras são processadas pela Phytobios, gerando extratos secos. Cabe ao LNBio o fracionamento e organização dos extratos, além do armazenamento e gestão de todo o acervo.

Destaca-se como resultado, a expansão da biblioteca, que agora possui um acervo com 4.268 frações provenientes de 424 extratos brutos, organizados em 15 placas de 384

poços. Como cada planta pode fornecer mais de um extrato (Ex. folha, flor, casca, raiz), estão representadas cerca de 300 plantas de 61 famílias botânicas provenientes dos 4 biomas. Outras 100 amostras já coletadas aguardam processamento. O processo de fracionamento mostrou-se eficaz para maximizar as chances de descoberta de "*hits*" nos dois projetos conduzidos com o Aché. Houve vários casos onde o extrato bruto foi inativo e pelo menos uma de suas frações foi ativa. Também se mostrou custo-efetivo em relação ao demorado e dispendioso processo de isolamento. Como os processos vigentes se consolidaram, estão aptos para otimização. Ainda neste ano, ocorreu uma expansão na capacidade de processamento, com a aquisição de dois novos *speed-vacs*.

O projeto **"*EMBRAPII-CNPEM-Ache Anticâncer*"** visa desenvolver novos agentes antiproliferativos inspirados na biodiversidade vegetal brasileira. O projeto parte da inibição de um alvo proteico e citotoxicidade em linhagens tumorais e prevê a realização da triagem da BPNP, seguida de desreplicação dos *hits* e isolamento de compostos ativos priorizados e cascata de ensaios bioquímicos e celulares. Ademais, os esqueletos químicos e sítios de ligação encontrados serão utilizados para o planejamento racional de novas moléculas químicas com ação antiproliferativa.

Em 2018, foram executas as 3 triagens previstas em contrato dentro do prazo e dos custos acordados com a EMBRAPII e o Aché. Foram detectadas e confirmadas 51 frações ativas ("*Hits*"), provenientes de 28 plantas. Os resultados foram apresentados e discutidos com a equipe do Aché em reuniões mensais, sendo duas presenciais. Foram empregadas técnicas no estado da arte para a desreplicação e caracterização dos hits, visando ampliar o conhecimento sobre os hits encontrados e subsidiar as decisões de priorização para a próxima etapa.

O projeto **"*EMBRAPII-CNPEM-Aché Dermocosmético*"**, visa desenvolver um produto dermocosmético com ação antienvelhecimento baseado em um extrato vegetal. No âmbito deste projeto, o LNBio atua na identificação do extrato ativo e o Aché no desenvolvimento da formulação cosmética com efeitos anti-idade, reparador e revitalizador da pele. Foi selecionado um receptor alvo com efeito conhecido na reparação de pele e aumento da produção de colágeno, elastina e outras proteínas envolvidas em processos de reepitelização e revitalização da pele.

Em 2018, o bioensaio de triagem foi adaptado para plataforma HTS. Foram executadas as 3 triagens previstas em contrato, que resultaram na detecção e confirmação de 5 frações ativas ("*Hits*"), provenientes de 5 plantas. Os resultados foram apresentados e discutidos com a equipe do Aché em reuniões mensais, sendo duas presenciais. A equipe do projeto capacitou-se a operar com pele reconstituída fornecida comercialmente pela L'Oréal e iniciou a adaptação dos testes de seletividade pelo alvo, que serão usadas na próxima etapa para subsidiar as decisões de priorização de hits.

O LNBio também desenvolve o projeto **"*Capacitação para realização de testes OECD TG 491 e OECD TG 492 no Brasil*"**, em parceria com as empresas Altox, Natura, Pluricell Technology e MatTek Corporation, e com a Universidade Federal de Goiás, a Universidade Federal de Santa Catarina e a Universidade de Buenos Aires, e com apoio financeiro do CNPq. O objetivo é obter proficiência e capacitar laboratórios brasileiros a

executarem testes de toxicidade ocular descritos nos guias OECD TG 491 (*Short Time Exposure*) e OECD TG 492 (*Reconstructed human Cornea-like Epithelium – RhCE*). Estes testes são métodos *in vitro* alternativos ao uso de animais para avaliação do potencial de dano ocular de produtos que possam entrar em contato com os olhos, especialmente medicamentos e cosméticos. O projeto envolve um consórcio liderado pelo LNBio no âmbito da RENAMA.

Destacam-se como principais resultados de 2018, a implantação pelo LNBio de uma plataforma de TI (*Enterprise Laboratory Platform* – ELP) para gerenciamento do projeto. Esta plataforma se mostrou eficaz para integrar instituições em vários estados do Brasil e no exterior. Ademais, destaca-se a aquisição de proficiência e capacitação do consórcio na execução do teste 491. Além disso, a pesquisadora principal e uma bolsista do projeto realizaram treinamento e capacitação para a confecção do tecido EpiOcular e execução do teste 492 na sede da empresa MatTek, em Boston, EUA.

Além destes, o LNBio também desenvolve o projeto ***"Human on a Chip – Sensibilização Cutânea",*** em parceria com a empresa Cencoderma (Boticário). O principal desafio atual dos testes de segurança para produtos de uso cutâneo se encontra no desfecho de alergenicidade ou sensibilização. O projeto buscou iniciar a adaptação e transposição dos testes KeratinoSens (OECD 442D) e h-CLAT (OECD 442E) para a plataforma *Two-Organ-Chip* (2OC Tissuse, Berlin). Esta cultiva tecidos humanos em biorreatores (Chips) microfluídicos com dois compartimentos intercomunicados: um compartimento cultivou modelo de pele humana reconstituída, e o outro cultivou leucócitos humanos THP-1. O desafio foi integrar esses dois testes estáticos numa uma plataforma microfluídica dinâmica, a fim de melhorar o seu poder preditivo.

Em 2018, os testes foram concluídos e verificou-se que a perfusão microfluídica aumentou a viabilidade celular e tissular em relação ao cultivo dos mesmos tecidos em modo estático. Foram testadas 10 substâncias alergênicas e não alergênicas propostas pelo *Guideline* OECD 442E. Destas, 8 foram classificadas corretamente no modo dinâmico. Isso significa poder preditivo semelhante ao dos testes estáticos, pois 80% de acurácia é o valor de corte exigido pela OECD para proficiência nesses testes. O resultado, embora em fase inicial, é bastante promissor pois a transposição alterou diversos parâmetros otimizados por centenas de especialistas internacionais, e deverão ser submetidos a publicação.

2.4.2 Serviços tecnológicos especializados

Ao longo de 2018, três propostas de prestação de serviços especializados foram contratadas. Estas propostas atenderam três empresas: Eurofarma, Cristália e CTC. Para a Eurofarma, foi realizada análises de dicroísmo circular, fluorescência e espectrometria de massas com a finalidade de caracterização de um padrão secundário de filgrastima. Para o Cristália, foi realizada análise por espectrometria de massas (metabolômica) da biblioteca de extratos de actinomycetos da empresa. Para o CTC foi realizada análise metabolômica por espectrometria de massas de variações genéticas de cana.

2.5 Treinamento, Educação e Extensão

2.5.1 Seminários e Palestras

O LNBio realiza, semanalmente, reuniões científicas sobre temas atuais que refletem o estado da arte nas áreas de especialidade dos pesquisadores palestrantes, constituindo uma importante oportunidade de atualização e realização de discussões científicas de alto nível. As apresentações são realizadas por pesquisadores do LNBio ou convidados de outras Instituições de Ensino e Pesquisa. Os seminários são divulgados no site do Laboratório e possuem frequência média de 60 participantes.

Em 2018 foram realizados 27 seminários conduzidos por pesquisadores do LNBio; 2 por Assessoras da Diretoria-Geral do CNPEM e 10 por pesquisadores de Instituições de Ensino e Pesquisa do Brasil e do exterior:

1. *Nanotecnologia nas Coisas (NoT): fundamentos, oportunidades e desafios.* Dr. Oswaldo Luiz Alves – IQ/UNICAMP. 05/03/2018.

2. *Diabetes and Obesity – looking for new molecular mechanisms.* Ana Caolina M Figueira (LNBio). 12/03/2018.

3. *Microheterogeneidade estrutural e multifuncionalidade de heparina e heparam sulfatos.* Profa. Helena Nader – USP. 19/03/2018.

4. *Desenvolvimento de plataformas tridimensionais micro e nanoestruturadas para aplicações biomédicas.* Anderson Lobo – MIT/BrownUniversity. 09/04/2018.

5. *Using mouse genetics to investigate thyroid hormone neurodevelopmental function.* Frederic Flamant – ENS Lyon/França. 18/04/2018.

6. *Descoberta de Fármacos para doença de Chagas no LNBio*. Artur Cordeiro (LNBio). 23/04/2018.

7. *Developmental and Cell Biology - New frontiers for bioimaging at CNPEM*. Murilo de Carvalho (LNBio). 14/05/2018.

8. *Imaging techniques in applied cell biology and physiology-from liver function to brain organization in health and disease.* Matheus Fonseca (LNBio). 21/05/2018.

9. *Genômica aplicada à saúde e agricultura. Estabelecendo um ecossistema público-privado para alavancar a inovação disruptiva.* Paulo Arruda – Unicamp (seminário realizado no LNNano). 28/05/2018.

10. *From the microenvironment to the cell nucleus: Extracellular matrix-signaling in morphogenesis and câncer.* Alexandre Bruni Cardoso – USP. 04/06/2018.

11. *Organic & Medicinal Chemistry at LNBio/CNPEM.* Marjorie Bruder (LNBio). 11/06/2018.

12. *Alternatives to the Use of Animals in Research.* Talita Marin (LNBio). 18/06/2018.

13. *Identification of the cellular and molecular mechanisms of zebrafish spinal cord regeneration.* Hozana Castillo (LNBio). 06/08/2018.

14. *Mechanisms of PP2A (protein phosphatase 2A) biogenesis and recycling: is it possible to reactivate PP2A in disease?* Juliana Smetana (LNBio). 13/08/2018.

15. *How plant pathogenic bacteria deal with hydrogen sulfide toxicity during infection may also affect host disease development.* Celso Benedetti (LNBio). 20/08/2019.

16. *A evolução do entendimento do impacto do metabolismo de glutamina em câncer: nossa contribuição.* Sandra Dias (LNBio). 03/09/2018.

17. *Discovery and Development of Highly Selective β1-Adrenoceptor Antagonists: A Safer Treatment for Patients with Concomitant Cardiovascular and Respiratory Disease?* Dr. Barrie Kellam - Universidade de Nottingham. 10/09/2018.

18. *Fluorescent ligands for G protein-coupled receptors – shedding new light on receptor-drug interactions.* Dr. Leigh Stoddart - Universidade de Nottingham. 10/09/2018.

19. *Adaptive radiation and the evolution of Mayaro virus research at CNPEM.* Rafael Elias Marques (LNBio). 24/09/2018.

20. *Mecanismos genéticos e celulares em Transtornos do Espectro Autista.* Dra. Maria Rita Passos Bueno (USP). 08/10/2018.

21. *Functional studies of a novel UBE2A missense mutation in mouse model.* Ângela Saito (LNBio). 20/10/2018.

22. *Role of extracellular vesicles in the tumor-supporting communication between cancer and bystander cells in Hodgkin Lymphoma.* Dr. Hinrich Hansen (convidado Adriana Paes Leme). 29/10/2018.

23. *Diving deeply in hidden structural features of proteins: what we have learned from computer approaches.* Paulo Oliveira (LNBio). 12/11/2018.

24. *Neurobiologia Molecular no LNBio: Desvendando os mecanismos moleculares de transtornos do neurodesenvolvimento*. Juliana Oliveira (LNBio). 26/11/2018.

25. *Organizações Sociais: Contrato de Gestão e sua Sistemática de Avaliação;* Arline Melo – CNPEM. 03/12/2018.

26. *A importância da Proteção de Propriedade Intelectual em projetos de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação*. Patrícia Toledo - CNPEM. 03/12/2018.

27. *NP3 platform: assisting new discoveries from natural products*. Daniela Trivella (LNBio). 10/12/2018,

2.5.2 Ações de Capacitação

Workshop em Calorimetria de Proteínas e Técnicas Ortogonais para Caracterização de Biomoléculas

O Laboratório Nacional de Biociências (LNBio), em parceria com a Malvern Panalytical e a Pensabio, promoveu o Workshop em Técnicas Ortogonais para Caracterização de Biomoléculas[8]. O evento foi realizado no dia 12 de abril de 2018, no campus do CNPEM. A iniciativa contou 65 participantes, sendo 56 externos e 9 internos.

O workshop teve como foco principal a discussão no conceito e a aplicação de diferentes técnicas de caracterização utilizadas no processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos baseados em pequenas moléculas e biofármacos. A programação do evento abordou os mais recentes avanços em determinação de tamanho de partículas, agregação, concentração, peso molecular e análises de interação via microcalorimetria. Foram abordadas as técnicas DLS, GPC/SEC, microcalorimetria de titulação isotérmica e de varredura diferencial e outras técnicas como Western Blot, Elisa e Ensaios Multiplex, aplicadas à caracterização de proteínas.

Plataforma Regional de Métodos Alternativos ao Uso de Animais de Experimentação do Mercosul - PREMASUL

"Métodos de Avaliação do Potencial de Irritação e Corrosão Ocular que Utilizam Modelos in vitro de Córnea (OECD TG 491 E 492)"

O curso, realizado entre 26 e 30 de novembro no LNBio, teve como objetivo promover a capacitação de profissionais que atuam na área de Métodos Alternativos e/ou experimentação animal nos países do Mercosul, dos setores público e privado, na realização dos "Teste *in vitro* de curta duração para danos oculares" e no teste "Epitélio corneano humano reconstruído" descritos nos guias OECD TG 491 e OECD TG 492 respectivamente. Foram capacitados 13 profissionais, dentre eles, alunos de pós-graduação- pesquisadores/cientistas.

O curso visou dotar estes profissionais de capacitação ampla e crítica sobre a avalição de segurança ocular, e de implementar cada um dos testes (491 e 492) em seu laboratório de origem e aplicá-los de forma isolada ou em uma estratégia de abordagem integrada (IATA - OECD 263).

VIII Proteomics Workshop – Skyline

O LNBio realizou o VIII *Proteomics Workshop – Skyline*[9], no período de 05 à 08 de novembro de 2018, visando capacitar usuários, estudantes e pesquisadores na análise de dados de proteômica e espectrometria de massas. As aulas foram ministradas por quatro palestrantes internacionais com temas da área de espectrometria de massas considerados na fronteira do conhecimento. O eventou contou com aproximadamente

[8] Link: https://pages.cnpem.br/caracterizacao_biomoleculas/edicao-2018-sem-i/
[9] Link: https://pages.cnpem.br/proteomicsworkshop/

40 participantes dos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais, além de estrangeiros da Alemanha.

O evento cumpriu seu papel na realização de discussões de aspectos fundamentais à avançados na área de proteômica e espectrometria de massas, permitindo aprendizado e disseminação de conhecimento entre os participantes.

Os palestrantes do evento foram, Birgit Schilling, Buck Institute for Research on Aging, USA; Lindsay K. Pino, University of Washington, USA; Ariel Bensimon, CeMM, Austria e Christina Ludwig, Technical University Munich, Germany.

2.5.3 Eventos Científicos

Workshop em Calorimetria de Proteínas e Técnicas Ortogonais para Caracterização de Biomoléculas

O LNBio, em parceria com a Malvern Panalytical e a Pensabio, promoveu o Workshop em Calorimetria e Técnicas Ortogonais para Caracterização de Biomoléculas[10]. O evento foi realizado no dia 07 de novembro de 2018, no campus do CNPEM. A iniciativa teve gratuidade nas inscrições e contou 48 participantes, sendo 40 externos e 8 internos.

O workshop discutiu o conceito e a aplicação de microcalorimetria de titulação isotérmica e de varredura diferencial (ITC e DSC), além de diferentes técnicas de caracterização utilizadas no processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos baseados em pequenas moléculas e biofármacos. O evento também abordou os mais recentes avanços em análises de microcalorimetria, com uma sessão de tratamento de dados com apresentação de softwares de tratamento de dados, além de dicas de planejamento experimental.

2.5.4 Orientação e Supervisão

Em 2018, o LNBio contribuiu para a formação de 82 alunos de pós-graduação e graduação (38 bolsistas de doutorado, 21 de mestrado, 12 de iniciação científica, 7 bolsistas do Programa de Capacitação Profissional (PCI) do CNPq e 6 bolsistas de outras modalidades), além de 27 pós doutorandos que desenvolvem projetos científicos associados às linhas de pesquisa interna do LNBio.

O apoio à formação de alunos de pós-graduação se dá por meio do credenciamento dos pesquisadores do LNBio como orientadores em Programas de Pós-graduação regulares de Instituições de Ensino e Pesquisa, como UNICAMP e USP. Em 2018, as bolsas foram financiadas em sua maioria pela FAPESP, CNPq e CAPES, estas obtidas por meio do esforço contínuo dos Pesquisadores do LNBio na preparação e submissão de projetos às agências de fomento. É importante também ressaltar a continuidade do convênio CAPES/CNPEM, que gerará um aumento significativo na participação da CAPES com o financiamento das bolsas usufruídas por alunos e pós-doutorandos vinculados ao LNBio.

[10] Link: https://pages.cnpem.br/caracterizacao_biomoleculas/

Neste contexto, merece também destaque o Edital EMBRAPII-CAPES-CNPq Talentos para Inovação, pelo qual foram concedidas 6 bolsas para cientistas dedicados ao desenvolvimento de metodologias e estudos diretamente relacionados aos projetos EMBRAPII, vigentes no LNBio.

Em 2018, os bolsistas de doutorado e pós-doutorado corresponderam a cerca de 60% do total de bolsistas do LNBio. Essa proporção se mantém estável desde 2016, tendo aumentado gradativamente nos anos anteriores até atingir esse patamar, que é o reflexo do investimento prioritário na orientação e supervisão de alunos e doutores com maior experiência científica em relação aos iniciantes. Os bolsistas de pós-doutorado e de pós-graduação representaram 74% do corpo de cientistas do LNBio em 2018. Estes bolsistas vêm contribuindo ao longo dos anos com os projetos de pesquisa conduzidos pelo LNBio e têm participação efetiva nas publicações.

2.5.5 Prêmios em 2018

Bruno Araujo Torres foi o vencedor do III Prêmio Cientistas e Empreendedores do Ano Instituto Nanocell, na categoria Estudantes, com o tema “Pesquisas com células-tronco humanas”.

O artigo de Carnielli et al., 2018 foi vencedor do IV Prêmio de Inovação Fleury em 2018 na categoria ARTIGO pelo Juri técnico e votação popular.

A estagiária PUE Alana Hellen Sant´Ana Alvarenga foi vencedora do Prêmio Pôster no Congresso de Estágiários PUE do CNPEM.

2.6 Infraestrutura, Operação e Melhorias Técnicas

Adicionalmente às quatro Instalações Abertas à comunidade acadêmica via Portal de Usuários do CNPEM (MAS, RMN, LEC e ROBOLAB), o LNBio mantém outros laboratórios dedicados à condução de projetos de pesquisa científica e tecnológica internos e/ou em parceria com empresas, todos associados aos Programas Temáticos (LBE, LMP, LQPN, LBC, LMG, LVV, LOM, LAM e LIB), bem como três laboratórios de apoio com ampla utilização pelo corpo de pesquisadores (SEQ, LPP e LBM).

Em 2018, o LNBio implantou um novo sistema de gestão de instalações laboratoriais conhecido como caderno eletrônico. A implantação desse projeto se iniciou efetivamente pelo desenvolvimento, homologação e produção do ambiente eletrônico de registro de dados do projeto “***Capacitação para realização de testes OECD TG 491 e OECD TG 492 no Brasil***”.

2.6.1 Laboratório de Bioensaios – LBE

O LBE atua em três áreas principais: realização de ensaios bioquímicos, ensaios celulares por imagem e gestão de compostos. Este ano os experimentos realizados nesta instalação totalizaram 3063 horas.

O Laboratório de Manipulação de Patógenos (LMP), criado em 2016, é uma instalação de nível de biossegurança 2 que compõe o LBE. No LMP são desenvolvidas atividades que envolvam manipulação de micro-organismos patogênicos no LNBio, tais como os vírus Zika e Mayaro, e protozoários como *Leishmania*. O LMP é utilizado por diversos grupos de pesquisa do CNPEM e opera de acordo com boas práticas de biossegurança, estipuladas pela Comissão Interna de Biossegurança e demais normativas.

Atualmente, o LMP conta com uma infraestrutura que permite a execução de experimentos *in vitro* e de cultura celular, bem como dá suporte à plataforma de *High-Throughput Screening (HTS)*. Em termos gerais, o LMP torna possível a pesquisa com agentes biológicos patogênicos.

2.6.2 Laboratório de Química e Produtos Naturais – LQPN

As atividades do LQPN visam contribuir para a área de D&D de fármacos, tanto na descoberta através da preparação de bibliotecas químicas, da síntese de sondas estruturais e fluorescentes, bem como no desenvolvimento de compostos candidatos à fármacos, com o planejamento racional de novos compostos eficazes e seletivos.

No ano 2018, a divisão química do LQPN atendeu 5 linhas dos Programas Temáticos do LNBio: (i) Programa em doenças Infecciosas e Negligenciadas: inibidores das enzimas G6PD e MEc (3 subprojetos – *vide* "Estudos SAR e otimização *hit2lead* por síntese química"), (ii) Programa de Inovação – EMBRAPII-Anticancer (1 subprojeto), (iii) Programa Internacional TransTar-Nottingham – antagonistas de receptores beta-adrenérgicos (bARs), sondas para o receptor de galanina, enzimas de *T. cruzi* e inibidores da interação proteína-proteína do complexo CryAB/FAK (4 subprojetos), (iv) Programa em doenças Infecciosas e Negligenciadas: Zika task-force – derivados de antivirais (3 subprojetos) e (v) Programa em Bioimagens: sondas para microscopia e tomografia de raios X (2 subprojetos).

No contexto dos produtos naturais, o LQPN deu continuidade à montagem de bibliotecas químicas e atendeu projetos internos na área de metabolômica por espectrometria de massas.

2.6.3 Laboratório de Biologia Computacional – LBC

O LBC utiliza métodos computacionais para pesquisas de interações intermoleculares em modelos biológicos e patológicos; realiza estudos dos potenciais de ligação de pequenas moléculas a proteínas e protocolos *in silico* para determinação estrutural e simulação de dinâmica molecular. Além disso, permite análises de dados relacionados a genomas, proteomas e transcriptomas, e desenvolve protocolos para análises

computacionais de metagenômica. O LBC conta com servidores de alto desempenho, com mais de 228 núcleos de processamento e grande capacidade de memória e armazenamento. O Laboratório participa do projeto Multiusuário FAPESP que contempla equipamento de computação de alto desempenho hospedado no CIPE-A.C. Camargo em São Paulo, SP.

O LBC é membro ativo no desenvolvimento e implantação do portal de análises de dados de biologia computacional e bioinformática, parte da Rede Nacional de Bioinformática, criada com apoio do MCTIC e hospedado pelo Laboratório Nacional de Computação Científica (LNCC). Conforme meta estabelecida para 2016, o portal está disponível para a comunidade científica através de uma infraestrutura de computação distribuída e um sistema de submissão de alto desempenho. Também, em função da participação na Rede Nacional de Bioinformática, fomos contemplados com acesso ao supercomputador brasileiro, Santos Dumont, instalado no LNCC, em Petrópolis.

2.6.4 Laboratório de Organismos Modelo (LOM)

O Laboratório de Organismos Modelo (LOM) possui infraestrutura e equipe qualificada com os objetivos de: (i) atender à necessidade de produção de animais geneticamente modificados (linhagens transgênicas, *knockouts* e *knockins,* via CRISPR/Cas9) sob demanda de pesquisadores qualificados; (ii) realizar treinamento de usuários em tecnologias de edição do genoma, especialmente em CRISPR/Cas9; (iii) facilitar o uso de linhagens transgênicas e *knockouts*.

Até o momento, o Biotério de camundongos do LNBio beneficiou diferentes grupos de pesquisa com a produção e fornecimento de linhagens transgênicas, *knockouts* e *knockins*, construção de vetores CRISPR/Cas9 para modificação de linhagens de células e treinamento e assessoria em ferramentas de edição do genoma. Foram realizados 34 projetos, totalizando a geração de 148 linhagens de camundongos geneticamente modificadas.

Devido ao aumento crescente de demanda nacional em projetos associados a edição do genoma via CRISPR/Cas9, para o ano de 2019, está prevista a abertura desta instalação para usuários externos, em regime de teste.

No primeiro semestre de 2018 foi realizada a reforma e ampliação do Biotério de Camundongos do LNBio, com a implantação de uma nova área destinada à manutenção, criação e hospedagem de linhagens matrizes e geneticamente modificadas, edição do genoma (via transgenia e CRISPR/Cas9) e experimentação de projetos. O local foi estruturado para atender às exigências de Nível 2 de Biossegurança (NB-2) da CTNBIO, bem como da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-CNPEM) e do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

A obra contemplou a construção de um corredor de acesso e reforma do prédio Anexo II do LNBio com a implementação de uma nova área com: antessala de paramentação, dois biotérios, um de Produção e outro de Experimentação, Sala de Manipulação, Sala de Experimentação, Sala de Microinjeção, Sala de Lavagem e Esterilização, Sala de

Enchimento de Caixas, Sala de Estoque de Material Autoclavado e espaço para a instalação de uma Sala de Criopreservação (Figura 118 e Figura 119).

Com a reforma do Biotério de Camundongos, foram realizadas melhorias nos locais onde os animais são mantidos e manipulados, bem como ampliação do número de racks ventilados (de 4 para 8 racks, com capacidade máxima de 606 para 998 mini-isoladores) e instalação de duas autoclaves automáticas horizontais e uma lavadora IWT usados exclusivamente para manutenção dos Biotérios. Tais melhorias permitiram atender a um maior número de pesquisadores do LNBio, fornecendo 400 animais no último semestre de 2018 e beneficiando projetos nas áreas de neurobiologia, biologia do câncer, biologia cardiovascular e doenças metabólicas, e biologia da infecção por vírus patogênicos.

Em outubro de 2018 foi aprovado o Projeto "*Manutenção preventiva dos biotérios de zebrafish e camundongos do LNBio/CNPEM*" referente a Chamada Pública MCTIC/FINEP/CT-INFRA 03/2018.

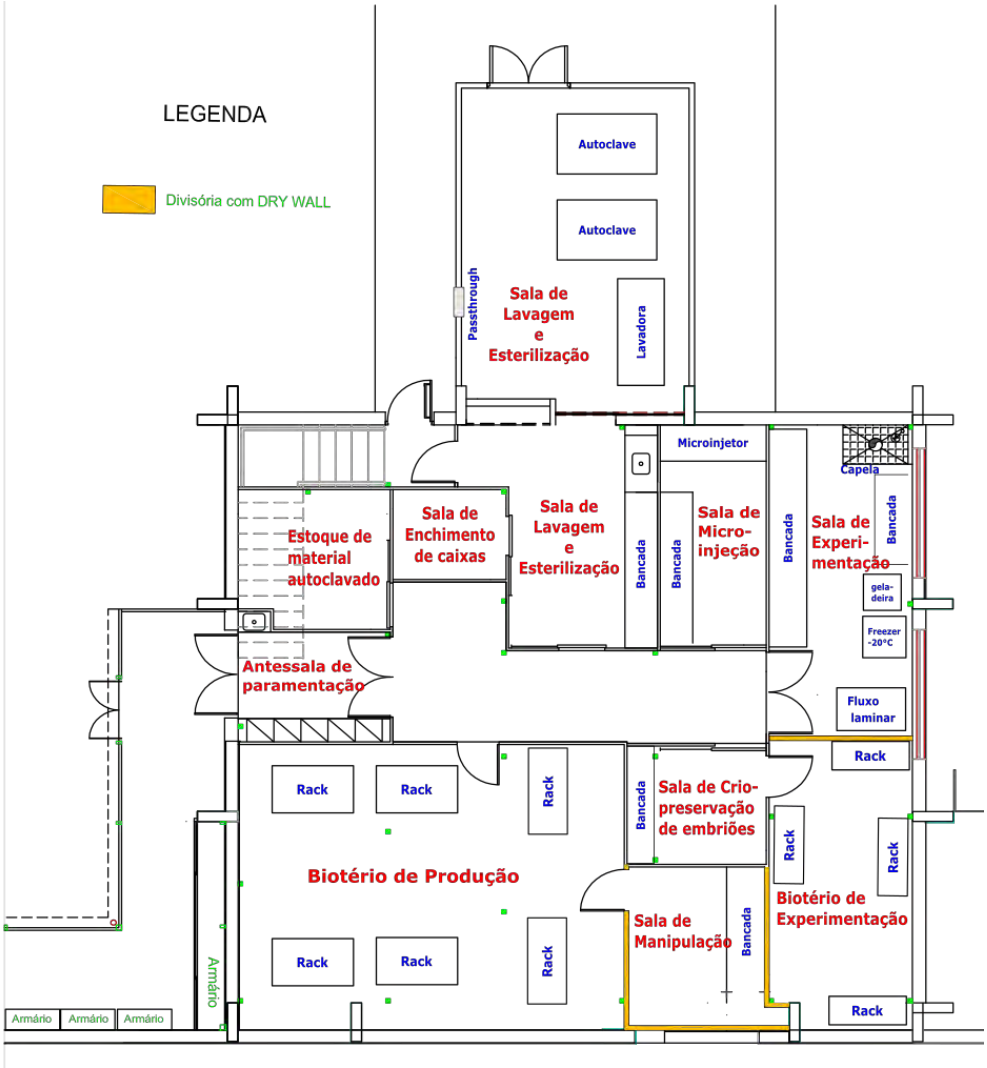


Figura 118. Planta baixa da nova área experimental denominada Biotério de Camundongos do LNBio

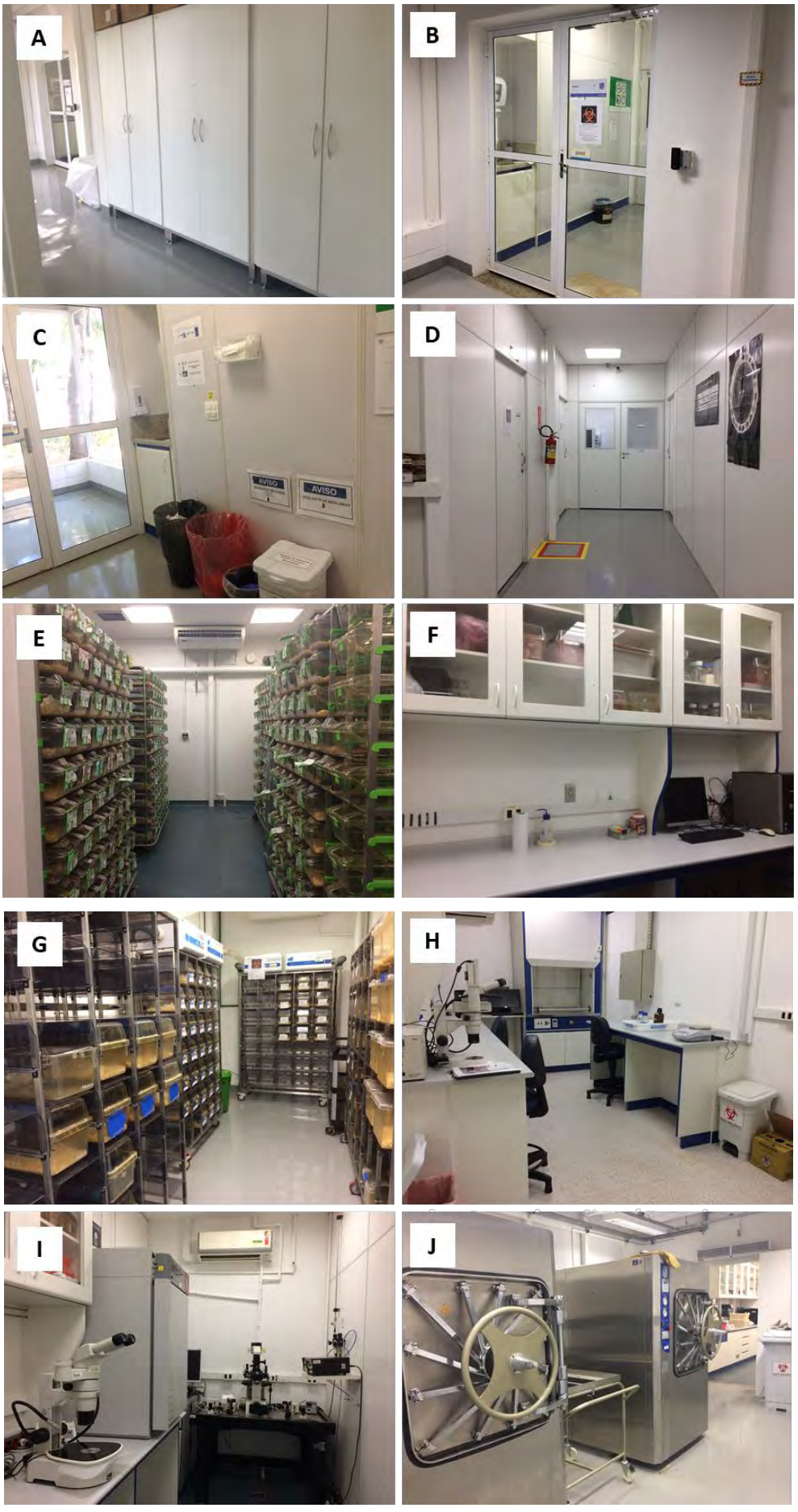

A
B
C
AVISO
AVISO
D
E
F
G
H
I
J

Figura 119. Fotos do novo Biotério de Camundongos do LNBio. (A) Corredor de acesso ao prédio, possui armários para armazenamento de insumos como ração, maravalha e luvas. (B) Porta de entrada com controle de acesso e sistema de intertravamento. (C) Antessala de paramentação com pia para higienização das mãos, armários para alocar os aventais cirúrgicos exclusivos do local, luvas, máscaras cirúrgicas e lixos para descarte de luvas e resíduos comuns. (D) Corredor interno do prédio. (E) Biotério de Produção para hospedagem de linhagens matrizes e geneticamente modificadas. (F) Sala de manipulação para aplicação de hormônios e coleta de caudas. (G) Biotério de Experimentação, o qual hospeda camundongos exclusivamente durante o período em que estão em experimentação. Possui um *rack* exclusivo para animais infectados com vírus patogênicos. (H) Sala de Experimentação com lupas, computador, fluxo laminar, capela, geladeira, freezer –20oC, balança e câmara de eutanásia com sistema de fornecimento de gás carbônico. (I) Sala de microinjeção com estação de microinjeção, computador, incubadora de CO2, lupa e equipamento microforge para preparação de capilares. (J) Sala de limpeza e esterilização com pia, duas autoclaves, uma lavadora, "*passthrough*" para transferir o lixo autoclavado para o ambiente externo, onde é coletado por uma empresa terceirizada contratada pelo CNPEM

2.6.5 Laboratório de Vetores Virais – LVV

O objetivo do laboratório consiste em produzir preparações virais para serem utilizadas no desenvolvimento de projetos de pesquisa. O LVV conta com dois citômetros de fluxo, sendo o promeiro da marca Acea, modelo Novocyte 2000, dedicado a titulação de preparações virais e estudos funcionais, o qual teve cerca de 1000 horas de utilização e um segundo equipamento da marca BD, modelo FACSCANTO II, que teve 715h de utilização. O FACSCANTO também passou por manutenção preventiva para troca de filtros e calibração.

2.6.6 Laboratório de Anticorpos Monoclonais – LAM

O objetivo deste laboratório consiste em gerar anticorpos a partir de tecnologias como hibridoma, ou engenharia molecular, por meio de modificação genética e produção em linhagens. Durante o ano de 2018 foram dedicados esforços para a padronização de ensaios funcionais de anticorpos imunomodulatórios, protocolos de purificação e protocolos de caracterização.

2.6.7 Laboratório de Imagens Biológicas – LIB

O Laboratório de Imagens Biológicas (LIB) foi criado em 2013 a partir da aquisição de um Microscópio Confocal TSC Leica SP8 que permite a realização de análises de amostras biológicas *in vivo* ou fixadas por meio do módulo de varredura, reconstrução tridimensional e animação em 3D, colocalização em multi-marcações, experimentos dinâmicos com interação ao vivo (*time lapse*), FRAP, FRET ou separação espectral. As linhas de laser disponíveis são: 405nm, 458nm, 476nm, 488nm, 496nm, 514nm, 561nm, 594nm e 633nm.

Em 2018, foram executadas mudanças importantes nas instalações do LIB. De modo geral, o laboratório foi consolidado reunindo equipamentos já em funcionamento no LNBio, com adição de um microscópio trazido, em comodato, da UNICAMP e outros 2 novos microscópios.

Uma sala de 30 m^2 foi readequada com sistema de ar condicionado dutado, para manter a temperatura estável em 21 ±0,5˚C, espalhando ar frio de forma suave e homogênea por toda a sala, sem turbulência; além de um sistema de energia ininterrupta (UPS) redundante, garantindo energia sem ruído aos microscópios.

Além do Microscópio Confocal TSC Leica SP8, o LIB conta com estéreo-microscópio Nikon SMZ25, com fluorescência e captura de imagem de alta sensibilidade; microscópio invertido Leica DMi4000 e o microscópio vertical Leica DM6 FS (com platina fixa), ambos com fluorescência, campo claro e captura monocromática. O Leica DM6 e o TCS SP8 são ambos equipados com uma câmara de incubação para experimentos contendo células vivas ou embriões de peixes ou camundongos que podem ser repetidamente fotografados ao longo de várias horas (por exemplo, vídeos com lapso de tempo).

O financiamento para reforma da sala contou com recursos do programa BioTec do LNBio, além dos recursos recém repassados do Programa de Centros Nacionais Multiusuários (PCNM) da FINEP. Recursos do convênio com o Ministério da Saúde (MS-SICONV) permitiram a aquisição de um novo microscópio Leica, modelo DM6 FS de fluorescência a campo claro, com modificações para experimentos com embriões de peixes durante mais de 24h.

Todos os equipamentos já estão na plataforma de agendamento do LNBio de modo que usuários de outros Laboratório podem solicitar treinamento e reserva.

Além disso, através do programa PCNM-FINEP, foi adquirido um microscópio de super-resolução Leica, modelo TCS SP8 STED 3X, capaz de resolver estruturas da ordem de 50 nanômetros. O equipamento possui laser branco (White Light Laser) que produz luz em comprimentos de onda de 470 a 670 nm, com passo de 1 nm, o que permite ajustar o laser no ponto de ótimo de excitação de um determinado fluorocromo. O sistema pulsado permite o uso de "*gating*", o que reduz o ruído de fundo causado por refrações e, consequentemente, melhora o sinal-ruído e a resolução. Para super-resolução STED, a linha de laser de depleção com 775 nm é ideal para imagens de células vivas e amostras com marcação delicada, pois causa mínimo dano de radiação ("*photo bleaching*").

Em adição aos equipamentos de captura de imagem, o LIB conta com toda infraestrutura necessária para preparação dos mais diversos tipos de amostras. Entre os itens estão o sistema de inclusão em parafina, vibrátomos (para cortes mais espessos, sem parafina), micrótomos (cortes finos de bloco em parafina) e criostato (para cortes congelados, fixados ou não). Estes últimos dois itens adquiridos dentro do Projeto ZIKV (Chamada Decit/MCTIC - 2016). Todos equipamentos são totalmente automáticos e permitem uma fina padronização de preparo.

Para o ano de 2019, está prevista a abertura desta instalação para usuários externos, em regime de teste.

2.6.8 Laboratório de Purificação de Proteínas – LPP

O LPP, considerado um laboratório de apoio, está equipado com 12 equipamentos de cromatografia líquida e acessórios dedicados à purificação de proteínas, etapa fundamental em diversos projetos científicos e tecnológicos do LNBio. Em 2018, foi realizada a instalação de um novo purificador de proteínas AKTA Start.

2.6.9 Laboratório de Biologia Molecular – LBM

O LBM é ocupado pelos grupos de pesquisa científica do LNBio e agrega equipamentos de uso compartilhado e bancadas para a realização de diversos experimentos e métodos em biologia molecular e celular. O LBM conta com uma área ampla e bem organizada dedicada para a Cultura de Células de Mamíferos e Insetos (LCCMI) relacionados aos projetos de pesquisa do LNBio. Além de atender usuários do LNBio, o laboratório também atende usuários do LNNano. O laboratório possui 6 fluxos laminares, 5 estufas de cultura de células em condições de normóxia e 1 estufa para cultura de células de inseto. Apresenta também *shaker* para crescimento células, microscópios de luz e fluorescência, contador de células e *dewars* para armazenagem de células em nitrogênio líquido- NL2. A sala é aprovada pela CTNBio para trabalhos envolvendo organismos OGM de risco II.

3. LABORATÓRIO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO BIOETANOL

3.1 O CTBE em 2018

Em 2018, o CTBE realizou uma reestruturação nas linhas de pesquisa, reduziu o seu leque de atuação, aumentou o foco em atividades que possam se beneficiar da nova fonte de luz Sirius e buscou aumentar em número e qualidade os projetos de parceria com os outros Laboratórios Nacionais do CNPEM. Como consequência, espera-se que os projetos futuros, sejam estes internos ou em colaboração com empresas, possuam maior complexidade cientifica e tecnológica.

O programa científico do CTBE foi atualizado em 2018 e sua elaboração contou com a participação de especialistas nacionais e internacionais, e foi convalidado por dois comitês científicos internacionais. O programa buscou atender a demandas dos setores sucroenergético e de biotecnologia e promover a inovação e o aprofundamento cientifico e tecnológico.

Também neste ano, foram realizadas contratações para áreas de processos tecnológicos e gestão de projetos estratégicos, com o intuito de fortalecer áreas consideradas chave para o desenvolvimento de pesquisas no CTBE. No que concerne à infraestrutura, o CTBE propiciou manutenção completa em todas as suas instalações e realizou investimentos em equipamentos relevantes para a Planta Piloto de Desenvolvimento de Processos. Destacam-se como exemplos, o refinador de discos que propiciará aumento da conversão da celulose em glicose e facilitará a remoção da lignina; o secador multipropósito de biomassa que auxiliará na separação das impurezas que são trazidas junto com a biomassa.

O CTBE atuou no desenvolvimento de tecnologias para o bioetanol considerando o aproveitamento integral da biomassa, isto é, os seus coprodutos ou "resíduos" agroindustriais. O foco foi o desenvolvimento de rotas biotecnológicas para produção do etanol de segunda geração (2G), incluindo coquetéis enzimáticos e leveduras engenheiradas; escalonamento de processos de etanol de primeira geração (1G) e co-geração de bioeletricidade a partir da palha. Em todos os casos houve contínua interação com empresas do setor sucroenergético visando aumentar a relevância das linhas de pesquisa e a compreender os mecanismos moleculares nos processos envolvidos.

O programa de biomassa assume como premissa que, no Brasil a cana-de-açúcar tem grande potencial na cogeração de bioeletricidade e é uma das fontes mais promissoras para produção de Bioetanol e renováveis. Todavia, não ignora demandas crescentes do setor sucroenergético, como a utilização do milho. A atuação em biomassa tem como ponto central o solo, por onde se realizam trocas de gases e de nutrientes. O CTBE atuou com foco nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo e na redução de gases

de efeito estufa, o que está intimamente relacionado ao armazenamento de carbono. De forma integrada ao LNLS, o time de pesquisadores do CTBE buscou aplicar luz síncrotron para entender os mecanismos de transporte no solo, seguindo uma linha já existente no CTBE de estudo das propriedades da biomassa em escala microscópica. Estes estudos objetivam maior compreensão sobre os fatores que impactam a produtividade da cana e envolvem parcerias com usinas. Os estudos do SUCRE para utilização da palha foram muito bem recebidos em 2018 e algumas usinas começaram, depois de três anos e meio de execução do projeto, a se beneficiar dos resultados preliminares, alterando a sua rotina de utilização da palha.

Em contraste com o petróleo, biomassas vegetais tanto lignocelulósica como oleaginosas são substâncias altamente oxigenadas e heterogêneas, fazendo-se necessário o estudo e desenvolvimento de plataformas que sejam capazes de converter esse material em produtos desoxigenados e homogêneos com valor agregado. Neste âmbito, em 2018 o CTBE intensificou seus esforços no desenvolvimento de rotas (bio-) químicas para valorização de componentes vegetais, com ênfase na lignina e nos hidrocarbonetos renováveis, pela abundância, potencial molecular para biotransformação e baixo custo.

O CTBE continua a receber reconhecimento nacional e internacional pela Biorrefinaria Virtual, ferramenta de simulação e avaliação computacional, cujo objetivo é quantificar o impacto do desenvolvimento de tecnologias integradas à cadeia produtiva de cana-de-açúcar nos três eixos da sustentabilidade: econômico, ambiental e social. O Programa de Avaliação de Sustentabilidade, responsável pelo desenvolvimento da Biorrefinaria Virtual, propicia a avaliação tecnológica integrada de processos produtivos incluindo o estudo e otimização das cadeias produtivas e o desenvolvimento de metodologias de avaliação econômica, ambiental e social. No ano de 2018 a Biorrefinaria Virtual teve atualização de ferramentas de modelagem e simulação de processos agroindustriais envolvidos nas cadeias produtivas em estudo. Ainda com foco da Sustentabilidade o CTBE fortaleceu sua atuação na avaliação de ecossistemas com ênfase nos impactos das mudanças de uso da terra e seus recursos naturais em áreas de expansão da produção de cana-de-açúcar e outras biomassas complementares. Este fortalecimento é baseado na expectativa de um aumento da demanda de Bioetanol no Brasil em função da recém-aprovada lei que incentiva a produção (RenovaBio).

O CTBE possui instalações e competências singulares no País. Como Laboratório Nacional segue uma trajetória orientada para a solução de problemas relevantes para o País. Consciente de que não possui todas as competências necessárias, o CTBE busca continuamente maior engajamento com as empresas e a academia realizando parcerias de P&D para que atinja um patamar cientifico e tecnológico mais elevado. Com o advento do Sirius, espera-se para 2019 uma interação ainda maior como os outros Laboratórios Nacionais do CNPEM, consolidando assim a restruturação iniciada em 2018.

Eduardo do Couto e Silva
Diretor do CTBE

Instalações abertas a Usuários Externos

Instalações	Propostas	Beneficiários	Horas
LAM	11	24	676
LDP	0	2	0
MET	3	5	503
NGS	9	18	720
PPDP	9	14	296
BVC	5	9	220
Totais sem duplicatas	37	70	2.415

ABRANGÊNCIA DOS BENEFICIÁRIOS

Brasileiros | 94,3% (95,45% Sudeste)
Estrangeiros | 5,7%

ARTIGOS EXTERNOS

3 artigos que fizeram referência ao uso das instalações do CTBE em 2018

Apoio à geração de inovação nos setores AIS

Horas totais dedicadas ao apoio à geração de inovação	4.706
Acordos vigentes com empresas dos setores AIS	14
Proteção de propriedade Intelectual	3

P&D in house

Horas totais dedicadas a Pesquisa e Desenvolvimento internos	4.833
Número de artigos publicados por pesquisadores internos	75
Mediana do Fator de Impacto das Revistas	3,436
Percentual de artigos classificados em Quartis Q1 e Q2	86%
Pós-doutores supervisonados	20
Acordos vigentes com Instituições de P&D	8
Novos auxílios contratados em 2018	4

Treinamento, Educação e Extensão

Eventos de Capacitação	Curso de Caracterização Química de Bagaço e Palha de Cana-de-açúcar
	Curso para Operação de Biorreatores de Bancada
Eventos Científicos	Workshop Valorization of Renewable Resources – Recent Advances and Prospects: A Brazilian-German Technology Alliance
	Workshop de Remoção de Palha: Implicações na qualidade do solo, nas emissões de GEE e na produção de cana-de-açúcar
	III Workshop de Resultados do Projeto SUCRE
Bolsistas	
Doutorado	46
Mestrado	13
Iniciação científica	16
PCI	7
Outras Modalidades	2

3.2 Instalações Abertas a Usuários Externos

Em 2018, o CTBE disponibilizou sete instalações abertas à usuários externos visando atender as principais demandas nas áreas correlatas de Biotecnologia, Bioetanol e Biorrefinaria. Essas instalações também são fundamentais para os projetos de pesquisa e desenvolvimento dos Programas Temáticos do CTBE de forma integrada com outros Laboratórios Nacionais do CNPEM, além da destinação ao apoio a inovação e treinamento e capacitação.

3.2.1 Laboratório de Metabolômica (MET)

A instalação Metabolômica tem o propósito de analisar o perfil metabólico de células e sistemas biológicos complexos buscando revelar funções celulares e estados fisiológicos naturais ou geneticamente induzidos. É uma ferramenta poderosa por ser capaz de caracterizar e diferenciar genótipos e fenótipos. Em seu quarto ano de atuação como instalação aberta, destaca-se a continuidade de um grande projeto de pesquisa iniciado em 2017 e que se manteve ativo em 2018, intitulado "*O papel do porta-enxerto no metabolismo e transporte de carboidratos em citros sob déficit hídrico*". O projeto, conduzido por um grupo de pesquisa da UNICAMP, estuda os mecanismos de tolerância à seca em citros por meio da análise do perfil metabólico de carboidratos. Através de alterações observadas nas variações dos metabólitos da fotossíntese e respiração da planta busca-se entender o equilíbrio entre síntese e consumo desses carboidratos. O estudo avalia a hipótese de o metabolismo de carboidratos ser mais ativo em raízes de porta-enxertos tolerantes à seca, levando a um maior crescimento desses órgãos. Sendo a escassez de água um dos fatores limitantes da produtividade agrícola, essa avaliação, que visa o entendimento dos mecanismos de tolerância à seca para se alcançar uma maior produtividade agrícola, é de grande relevância. Outro destaque foi o projeto de um grupo de pesquisa da UFG, intitulado "*Mapeamento metabólico de Trichoderma harzianum*", que buscou compreender fatores fisiológicos e bioquímicos do *Trichoderma harzianum*. Este fungo pode ser utilizado no desenvolvimento de bioprocessos para produção de enzimas *on-site* e desenvolver estratégias para aumento final do rendimento da hidrólise enzimática e, assim, otimizar a produção de enzimas lignocelulósicas pelo microrganismo.

3.2.2 Laboratório de Análises de Macromoléculas (LAM)

A instalação de Análises de Macromoléculas dedica-se à análise de macromoléculas biológicas (proteínas e enzimas) e nanopolímeros, como a nanocelulose e derivados de lignina. Existe uma grande comunidade de bioquímica e físico-química de macromoléculas no país e pesquisadores de diferentes estados, como Rio de Janeiro e Minas Gerais, que empregaram as ferramentas espectroscópicas disponíveis no LAM em seus projetos de pesquisa. Destaca-se a proposta conduzida por pesquisadores da UFRJ dedicada ao estudo de lacases intestinais de insetos envolvidas na desconstrução de biomassa vegetal. Um dos principais desafios desta cadeia produtiva é a transformação

dos polissacarídeos da parede celular vegetal em açúcares monoméricos fermentescíveis. Para isto é importante utilizar um conjunto de hidrolases glicosídicas e oxirredutases (como lacases e peroxidases) que atuem sobre as frações ricas em polissacarídeos e lignina da parede celular vegetal. Pesquisadores da UFMG também utilizaram as ferramentas do LAM para análise e desenvolvimento de enzimas co-imobilizadas para aplicação em bioprocessos que utilizam biomassa vegetal. Destacam-se ainda os resultados obtidos pela equipe da UFABC no estudo detalhado das características estruturais, físico-químicas e termodinâmicas de proteínas relacionadas à progressão clínica de doenças neurodegenerativas.

3.2.3 Laboratório de Alto Desempenho em Sequenciamento e Robótica (NGS)

A Instalação de Alto Desempenho em Sequenciamento e Robótica (*Next Generation Sequencing* – NGS), destaca-se como uma das mais modernas e avançadas instalações no país para pesquisas que demandam sequenciamento de ácidos nucléicos (DNA/RNA) em larga escala. A instalação conta com um parque de equipamentos de alta tecnologia, oferendo o que há de mais atual em termos tecnológicos para plataformas de sequenciamento. Atualmente, a instalação é composta por dois sequenciadores de segunda geração, sendo um modelo Miseq e um Hiseq 2500, ambos pertencentes à Plataforma Illumina (Illumina Inc.). Tal infraestrutura laboratorial possibilita uma imensa gama de análises moleculares na área de sequenciamento, como por exemplo, o sequenciamento de genomas completos de micro-organismos, tais como, bactérias, leveduras, além de organismos multicelulares mais complexos como plantas e fungos filamentosos. Apesar de se considerar relevante toda e qualquer pesquisa cientifica desenvolvida junto a NGS, algumas propostas tem se destacado devido ao seu grande potencial científico. Em 2018, destaca-se a execução da proposta intitulada "*Determinação do transcriptoma do fungo Phanerochaete chrysosporium*", de pesquisadores da Universidade de São Paulo. O objetivo da proposta é contribuir com o avanço do conhecimento científico no campo da seleção e prospecção de novos genes com potencial biotecnológico para aplicações no setor industrial, uma vez que essa área movimenta bilhões de dólares anualmente, com crescente número de patentes e artigos científicos publicados. A partir do sequenciamento das moléculas de RNA transcritas pelo fungo filamentoso *Phanerochaete chrysosporium*, o pesquisador poderá monitorar as flutuações das expressões genicas de enzimas que compõem especificamente a classe das peptidases, das quais ainda se conhece muito pouco sobre a estrutura destas biomoléculas no universo dos fungos filamentosos. Além disso, um enorme interesse na melhor compreensão nas atividades biológicas destes micro-organismos tem sido relatado em pesquisas cientificas, uma vez que o mesmo possui papel relevante em processos envolvendo a degradação de materiais lignocelulósicos, tornando-os assim alvos potencialmente interessantes para aplicações biotecnológicas.

3.2.4 Laboratórios de Desenvolvimento de Bioprocessos (LDB)

A instalação de Desenvolvimento de Bioprocessos possui infraestrutura para operação com biorreatores em diferentes escalas de laboratório (200 mL a 20 L) e plataformas microbianas visando a biotransformação de biomassas em bioquímicos, enzimas, bioprodutos e biomateriais. Esta instalação cobre a etapa inicial do escalonamento de processos biotecnológicos e tem papel fundamental para a alavancagem de rotas e processos para escala em planta piloto, um campo de atuação de grande atratividade dentro das parcerias de apoio à inovação. Devido aos projetos de bioprocessos serem de longa duração, a frequência de solicitações tende a não atingir os patamares de outras instalações. Em 2018, uma proposta externa foi recebida e sua avaliação demonstrou inviabilidade no atendimento. Para 2019, está se preparando uma maior divulgação das potencialidades da instalação para o meio científico. Os cursos de capacitação oferecidos pela equipe da instalação "*Operação de Biorreatores de Bancada*" já são um instrumento para esta divulgação e treinamento de futuros usuários.

3.2.5 Laboratórios de Desenvolvimento de Processos (LDP)

A instalação de Desenvolvimento de Processos físico e químicos tem a importante função de gerar dados analíticos sobre a composição e modificação de biomassas vegetais e seus principais constituintes (como polissacarídeos, lignina e ácidos graxos) de forma a apoiar a pesquisa e desenvolvimento na área de transformação da biomassa. Em 2018, uma proposta externa foi recebida e sua avaliação demonstrou inviabilidade no atendimento. Para 2019 está se preparando uma maior divulgação das potencialidades instalação para o meio científico. Os cursos de capacitação oferecidos pela equipe da instalação "*Caracterização Química de Bagaço e Palha de Cana-de-Açúcar*" são um instrumento para esta divulgação e treinamento de futuros usuários.

3.2.6 Planta Piloto para Desenvolvimento de Processos (PPDP)

A PPDP é uma plataforma multi-propósito única no País para o escalonamento e desenvolvimento de processos biológicos e físico-químicos. A PPDP dispõe de um grande parque de equipamentos para classificação, condicionamento e pré-tratamento de biomassa lignocelulósica, além de conter biorreatores de até 300 L. A instalação atua principalmente no apoio à inovação e em projetos institucionais multidisciplinares, como o desenvolvimento de coquetéis enzimáticos para desconstrução da biomassa vegetal. Em 2018, a PPDP permaneceu aberta à comunidade externa de pesquisa, viabilizando experimentos como o do Núcleo Interdisciplinar de Planejamento Energético (NIPE) da UNICAMP, intitulado "*Obtenção de vinho delevedurado de etanol de segunda geração*". Na execução da proposta foram realizadas as etapas de pré-tratamento de biomassa, hidrólise enzimática, fermentação alcoólica e posterior separação de leveduras para obtenção de vinho delevedurado. Estas etapas foram realizadas em reatores/biorreatores de 250 L, 300 L e 50 L, respectivamente. O vinho de

segunda geração obtido foi utilizado em um projeto desenvolvido na Unicamp com a finalidade de avaliar seu potencial na produção de biogás.

3.2.7 Biorrefinaria Virtual de Cana-de-açúcar (BVC)

A Biorrefinaria Virtual de Cana-de-açúcar é uma instalação mundialmente reconhecida e amplamente citada pela comunidade científica. Esta instalação é baseada em ferramenta de simulação e avaliação computacional homônima, cujo objetivo é quantificar o impacto do desenvolvimento de tecnologias integradas à cadeia produtiva de cana-de-açúcar nos três eixos da sustentabilidade: econômico, ambiental e social. Em 2018, a BVC atendeu cinco propostas de pesquisa. Destacam-se o projeto com o Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV), Unidade Guadalajara/México, para realização da avaliação econômica e ambiental da produção de etanol e açúcar a partir de cana-de-açúcar no México; e o projeto "*Análise do potencial brasileiro de produção de bioquerosene de aviação a partir de resíduos: abordagem técnica, econômica e ambienta*l", realizado com a FEM/UNICAMP, no qual as simulações agroindustriais da BVC de produção de etanol de primeira e segunda geração foram utilizadas para obtenção de inventários ambientais.

3.3 Pesquisa e Desenvolvimento *in-house*

Em 2018, o CTBE passou por expressiva reformulação de seus projetos institucionais multidisciplinares. Este processo buscou tanto uma atuação mais sinérgica com outros Laboratórios integrantes do CNPEM, quanto maior profundidade científica em temas de grande relevância para o setor de Biotecnologia e Bioenergia, em particular o Bioetanol.

A atuação do CTBE se concentra nos seguintes temas-chave: biocombustíveis, bioprodutos e química verde, biomassa e sustentabilidade. Estas áreas são altamente complementares e compartilham as principais competências adquiridas/desenvolvidas ao longo da existência deste Laboratório – por exemplo, na área de biologia sintética, enzimas industriais, plataformas microbianas, bioprocessos, escalonamento de processos, simulação e modelagem de processos e avaliação de ecossistemas integrados.

Com este novo foco, o CTBE almeja se posicionar como um *Hub* para a Biotecnologia no País. O objetivo é contribuir para a liderança brasileira no setor de fontes renováveis de energia, no desenvolvimento de bioprodutos, na ampliação da oferta de insumos baseados em química verde, na pesquisa com solos e biomassa e em avaliações e modelagens de sustentabilidade.

A seguir são descritas as linhas de pesquisa e seus projetos associados. Os artigos correspondentes aos trabalhos de pesquisa e desenvolvimento *in-house* do CTBE são apresentados no Anexo III, ou apontados em notas de rodapé ao longo do texto.

3.3.1 Programa de Biocombustíveis

Os biocombustíveis têm papel central na substituição de combustíveis fósseis nas matrizes energéticas mundiais e, consequentemente, no controle e mitigação dos efeitos dos gases de efeito estufa. O Brasil é reconhecido mundialmente por seu grande potencial nesta área e possui uma economia já consolidada em torno do bioetanol. O CTBE tem atuado de forma intensa e integrada com outros Laboratórios Nacionais e Instituições de pesquisa nacionais e internacionais no desenvolvimento de pesquisas nesta área. Nesse sentido, o CTBE tem focado suas atividades para o desenvolvimento de novas tecnologias de aproveitamento de matérias-primas e resíduos provenientes de fontes renováveis, com vistas a geração de bioenergia e biocombustíveis líquidos.

Bioetanol

O bioetanol 1G a partir do caldo da cana-de-açúcar é dos biocombustíveis com menor índice de emissões de gases de efeito estufa, apresenta custo competitivo e já tem um mercado consolidado no país. Considerando o aproveitamento de palha e bagaço de cana-de-açúcar para geração do etanol de segunda geração (2G), é possível aumentar em até 50% a produção de etanol no País, com redução de até 30% nos impactos ambientais. Entretanto, isto requer o desenvolvimento de tecnologias que aprimorem o processo de primeira geração e viabilizem o de segunda geração. Neste contexto, o CTBE tem atuado em grandes gargalos do setor, como: bioeletricidade a partir da palha e desenvolvimento de rotas biotecnológicas para o etanol 2G, incluindo coquetéis enzimáticos e leveduras engenheiradas.

Tecnologia de Etanol

Esta linha de pesquisa visa o desenvolvimento de tecnologias de produção de bioetanol de primeira (1G) e segunda geração (2G), além da produção de bioeletricidade associada a este processo. São desenvolvidos estudos das etapas de pré-tratamento de biomassa, sacarificação, fermentação e cogeração de bioeletricidade. Ênfase dada ao desenvolvimento de coquetéis enzimáticos e de rotas de produção de etanol 2G.

Os processos biotecnológicos empregados na produção de etanol de segunda geração podem ser divididos em três elementos centrais: a produção de enzimas, a sacarificação (hidrólise) e a fermentação. Antes de ser submetida aos processos biotecnológicos, via de regra, a biomassa é pré-tratada visando alterar as suas propriedades físicas e químicas e, assim aumentar a acessibilidade dos agentes químicos e biológicos, o que impacta diretamente a sacarificação.

No âmbito dos esforços de pesquisa em pré-tratamento da biomassa, o CTBE tem atuado de forma concatenada com outras instituições para investigar estratégias de pré-tratamentos físico-químicos. O objetivo é obter um melhor entendimento molecular das propriedades morfológicas e estruturais da biomassa lignocelulósica, bem como do desgaste desta sobre os materiais e ligas metálicas durante o pré-tratamento. Um dos estudos neste campo trata do ***"impacto da desacetilação alcalina na estrutura***

molecular do bagaço e palha de cana-de-açúcar*", que pode refletir no aumento da digestibilidade da biomassa (mais detalhes na publicação[11]). Tais estudos entraram em uma nova fase onde se busca elucidar por meio de abordagens de Metabolômica a influência dos inibidores gerados por este pré-tratamento sobre a fermentação da fração de C5 dos açúcares derivados da hemicelulose fermentados à etanol. Outra estratégia sob investigação no CTBE é o "desenvolvimento de processos de pré-tratamento com baixa severidade*", visando a maximização da produção e recuperação de oligômeros formados por unidades de xilose (xilooligossacarídeos), além de gerar uma biomassa pré-tratada propícia para a obtenção de celo-oligossacarídeos por meio de rotas enzimáticas. Este estudo está associado ao auxílio temático FAPESP[12] intitulado "***An integrated approach to explore a novel paradigm for biofuel production from lignocellulosic feedstocks***", executado em parceria com o NIPE/UNICAMP e o BBSRC.

No tocante a avaliação de propriedades físicas no pré-tratamento o estudo "***Levantamento de propriedades físicas e mecânicas do bagaço de cana-de-açúcar***" teve como objetivo determinar as características físicas, morfológicas e o módulo de elasticidade do bagaço de cana-de-açúcar, para aplicação em processos na indústria de etanol 2G e, assim, determinar parâmetros para simulação computacional via método dos elementos discretos. Além disso, foi realizada a caracterização da forma das partículas (granulometria) e o levantamento do módulo de elasticidade por meio de ensaios de compressão uniaxial. Neste trabalho também foi investigado a influência da percentagem da umidade no comportamento mecânico da biomassa. Os dados obtidos permitiram expressar a viscoelasticidade do bagaço em função do seu teor de umidade, densidade e granulometria. De forma intimamente relacionado ao projeto acima, o CTBE tem conduzido o "***Estudo e caracterização de materiais utilizados no processamento de biomassa***", que tem como objetivo a caracterização de materiais metálicos e tratamentos superficiais para melhorar a resistência mecânica e o desgaste visando aumentar a vida em serviço de equipamentos aplicados no processamento de biomassa. Destacam-se como principais avanços deste projeto: a caracterização microestrutural de ligas metálicas, escolhidas para o processamento de biomassa, utilizando técnicas como microscopia ótica, eletrônica de varredura, EDS (Espectroscopia de Energia Dispersiva); a análise da composição química e ensaios de corrosão das ligas metálicas selecionadas para o estudo. Também foi realizada a preparação de amostras e corpos de prova das ligas metálicas para ensaios de avaliação em desgaste.

A eficiência da sacarificação enzimática depende de múltiplos fatores relacionados tanto a natureza e composição da biomassa quanto as propriedades funcionais das enzimas. A obtenção de uma sacarificação eficiente requer o desenvolvimento de coquetéis enzimáticos customizados com enzimas específicas para cada biomassa e tipo de pré-

[11] Lima, Cleilton S. ; Rabelo, Sarita C. ; Ciesielski, Peter N. ; Roberto, Inês C. ; Rocha, George J. M. ; Driemeier, Carlos . Multiscale Alterations in Sugar Cane Bagasse and Straw Submitted to Alkaline Deacetylation. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, v. 6, p. 3796-3804, 2018.

[12] Temático FAPESP: 15/50612-8. An integrated approach to explore a novel paradigm for biofuelproduction from lignocellulosic feedstocks.

tratamento. As tecnologias de produção de coquetéis enzimáticos, inexistentes no País, são estratégicas para viabilizar a produção de etanol de segunda geração. O CTBE tem dedicado esforços extensivos no estudo do "***desenvolvimento de novos biocatalisadores visando a produção de biocombustíveis*"**, combinando conhecimentos que vão desde a biologia e engenharia molecular até avaliação técnico-econômica. Este estudo visa aumentar a performance do coquetel enzimático da plataforma microbiana em desenvolvimento no CTBE para a sacarificação do bagaço da cana-de-açúcar. Destaca-se como resultado a descoberta e elucidação mecanística de novas enzimas com propriedades singulares (tais como elevada eficiência catalítica e reduzida adsorção em lignina) para a sacarificação do bagaço da cana-de-açúcar. No âmbito da engenharia molecular, enzimas quiméricas multifuncionais foram racionalmente construídas, com base em análises estruturais e funcionais. O gene de uma dessas enzimas selecionadas foi introduzido no genoma da plataforma microbiana em desenvolvimento no CTBE e os testes desta versão de coquetel estão em andamento.

Complementar ao estudo de desenvolvimento de novos biocatalisadores, há o estudo de "***Engenharia genética de fungos filamentosos para a produção industrial de enzimas***". Esta pesquisa busca criar linhagens de fungos filamentosos capazes de produzir grandes quantidades de enzimas em condições industriais, visando aumentar a competitividade dos coquetéis enzimáticos com redução de custos via produção local, conceito OSM (produção *on-site* de enzimas). Destaca-se como resultado o desenvolvimento de uma ferramenta para a engenharia genética de fungos filamentosos baseada na tecnologia CRISPR/Cas9. Em 2018, as modificações genéticas realizadas com esta técnica resultaram em um ganho de 71% na produtividade de enzimas pela plataforma em desenvolvimento no CTBE.

De forma integrada aos projetos de biocatalisadores e plataformas microbianas, o CTBE conduz o "***Desenvolvimento de bioprocessos para produção industrial de enzimas***". Este estudo busca otimizar o bioprocesso de produção de enzimas e escaloná-lo em planta piloto semi-industrial para a redução de custo na produção do etanol de segunda geração. Esta frente de pesquisa visa associar distintas matérias-primas e condições de cultivo com o intuito de maximizar o título de enzimas e promover a produção local desses coquetéis customizados. Como resultado destaca-se a elaboração de um meio de cultivo barato que utiliza resíduos industriais do setor sucroalcooleiro para a produção do coquetel enzimático.

Ao longo de 2018, os custos de produção do coquetel enzimático foram reduzidos em aproximadamente 7 vezes. Tal redução de custo foi viabilizada pelo desenvolvimento integrado de novas enzimas, engenharia genética de fungos e otimização de bioprocesso em planta piloto, sempre assistido pelas avaliações junto à biorrefinaria virtual.

Outro estudo do CTBE para o desenvolvimento de enzimas visa a "***aplicação de enzimas celulolíticas em processo de Sacarificação e Fermentação Simultâneos (SSF)*"**, e constitui uma alternativa a rota clássica 2G. Em 2018, foi descoberta uma enzima da família beta-glicosidase GH1, oriunda de bactéria marítima, capaz de atuar em condições compatíveis com leveduras industriais. O resultado demonstrou maior

eficiência da enzima quando comparada a capacidade fermentativa da levedura industrial, o que reforça seu potencial de uso no processo fermentativo do etanol 2G.

O processo de produção do etanol de segunda geração depende do desenvolvimento de leveduras que fermentem açúcares de seis e cinco carbonos gerados durante o processo de sacarificação enzimática da biomassa lignocelulósica. A engenharia metabólica desses micro-organismos é uma etapa fundamental e utiliza técnicas avançadas de biologia sintética, que visam racionalmente redesenhar rotas bioquímicas nesses micro-organismos.

Neste âmbito destaca-se o estudo **"*Construção de um atlas genômico para engenharia racional de Saccharomyces cerevisiae visando a produção de etanol 2G*"**, apoiado pela FAPESP[13], com objetivo de elucidar as bases moleculares envolvidas no metabolismo e regulação do consumo de xilose. Como resultado foram desenvolvidas novas linhagens modificadas da levedura com alta performance de conversão de xilose em etanol. O estudo deu início ao sequenciamento genômico das populações evoluídas obtidas, visando a identificação de novas vias metabólicas associadas ao metabolismo de xilose em levedura. A combinação racional das mutações identificadas nas linhagens evoluídas potencializará a fermentação de xilose em etanol 2G.

Ainda nesta temática, o CTBE conduz o estudo "***Design and development of biological platforms for biofuels and biochemicals production from renewable energy sources*"**, apoiado pelo Instituto Serrapilheira[14]. O objetivo é desenvolver linhagens de leveduras que além da capacidade de fermentar xilose, sejam mais tolerantes à inibidores do crescimento da levedura presentes em processos 2G, como, por exemplo, o ácido acético. Em 2018, foram obtidas cepas mais tolerantes ao inibidor, apresentando maior produtividade na conversão do etanol, foram identificadas através de sequenciamento genômico duas mutações responsáveis pelo aumento da tolerância. O estudo também explora o mecanismo de tolerância e o efeito das modificações obtidas no metabolismo global da levedura.

O estudo **"*Engenharia genética de Saccharomyces cerevisiae para co-fermentação de xilose e glicose e produção de etanol de segunda-geração*"**, visa identificar novos transportadores com maior afinidade à xilose, prospectados a partir de micro-organismos selvagens capazes de assimilar esse açúcar. Destaca-se como resultado a identificação de dois novos promissores transportadores de xilose, com propriedades cinéticas superiores aos descritos atualmente na literatura. A utilização desses novos alvos visa aumentar a velocidade de assimilação de xilose pela levedura e, assim, contribuir para a resolução de um dos gargalos da fermentação de xilose – o extenso tempo de consumo em comparação a glicose.

Outro gargalo importante na conversão de xilose à etanol é a baixa eficiência dos sistemas enzimáticos envolvidos na transformação da xilose à xilulose, e posteriores

[13] FAPESP: 17/08519-6. Construção de um atlas genômico para engenharia racional de *Saccharomyces cerevisiae* visando a produção de etanol 2G.

[14] Serrapilheira: R-1708-16208. Design and development of biological platforms for biofuels and biochemicals production from renewable energy sources.

etapas metabólicas. A partir do estudo "***investigação molecular de novas xilose-isomerases para melhor aproveitamento da fração hemicelulolítica***", uma nova enzima recombinante foi extensivamente caracterizada e testada em processo fermentativo *ex-situ* na presença de xilose e levedura. Os resultados confirmaram a eficiência do processo e a enzima apresenta potencial de ser geneticamente inserida na levedura em desenvolvimento no CTBE.

3.3.2 Programa de Bioprodutos e Química Verde

Um dos maiores desafios da economia circular é o aproveitamento máximo dos resíduos agroindustriais e fontes renováveis de materiais, sejam de natureza lignocelulósica ou oleaginosa. Biocombustíveis líquidos, como etanol, biodiesel e bioquerosene, são umas das aplicações primárias desses materiais. Além destes, os resíduos agroindustriais permitem gerar uma gama incontável de bioprodutos, químicos e materiais, que fazem parte de, virtualmente, todo produto manufaturado disponível à sociedade – com aplicações nos setores alimentício, bebidas, farmacêutica, cosmético, têxtil, automobilístico e outros. Este programa tem como desafio investigar os fundamentos da desconstrução da biomassa vegetal e, consequente, potenciais rotas biossintéticas para bioprodutos.

Valorização de Componentes Vegetais

Os componentes da biomassa, além de úteis para a geração de biocombustíveis, também podem ser transformados em biomateriais e intermediários químicos de alto valor agregado. Isso certamente contribuirá para aumentar a viabilidade econômica e a sustentabilidade de uma biorrefinaria.

Materiais Lignocelulósicos

A linha de pesquisa de materiais lignocelulósicos visa a valorização da lignina e outros componentes não sacarídicos existentes nas biomassas, principalmente na cana-de-açúcar. Destacam-se como potenciais produtos, de alto valor agregado, a base de lignina: fibras de carbono, plásticos e elastômeros termoplásticos, poliuretanas e membranas poliméricas, além de uma variedade de combustíveis e produtos químicos atualmente proveniente do petróleo. Apesar das particularidades de cada bioproduto derivado da lignina, existem desafios comuns, como a melhor compreensão dos eventos de recondensação na sua extração físico-química, e da estrutura molecular e mecanismos de modificação, desconstrução e biossíntese. O CTBE atua de forma interdisciplinar e em parceria com outros Laboratórios Nacionais do CNPEM, empregando ferramentas de biologia sintética, química molecular, radiação síncrotron e instrumentação de larga escala na planta piloto para o desenvolvimento de "*building blocks*", intermediários químicos e biomateriais a base de lignina.

O estudo "**avaliação do potencial de ligninas de bagaço de cana-de-açúcar para a produção de emulsões**" buscou explorar usos para ligninas geradas durante o processamento do bagaço de cana-de-açúcar. Nanopartículas de lignina foram obtidas empregando-se dois métodos (Diálise direta e Deslocamento de solvente) e duas ligninas com características químicas distintas (Álcali e Organossolve). Dentre os sistemas de *Pickering*[15] testados, as emulsões mais estáveis foram as formadas pela Nanopartículas de lignina da metodologia Diálise direta, o que está relacionado ao maior tamanho das partículas e à sua menor hidrofilicidade. As emulsões também foram preparadas com óleo de girassol para o estudo do encapsulamento de curcumina (pigmento natural). O comportamento e performance das nanopartículas de ligninas como estabilizantes em emulsões de *Pickering* foram diferentes de acordo com o sistema e a lignina utilizada como matéria prima, resultando em uma relação promissora entre o tempo de liberação e o percentual de curcumina liberada.

Em 2018, foi finalizado o estudo "**Obtenção de hidrogéis superabsorventes a partir de celulose e ácidos policarboxílicos**" oriundos de rotas verdes. Os ensaios realizados na primeira etapa do estudo proporcionaram contribuições expressivas na identificação dos principais gargalos tecnológicos atrelados ao uso de uma celulose proveniente de biomassa, destacando-se a quantidade de variáveis e parâmetros reacionais que ainda requerem elucidação. Ao final do estudo, observou-se que a maior dificuldade encontrada para que ocorresse a reação de *crosslink*[16] na celulose foi a solubilidade. A proposta para contornar esse problema foi o uso de um líquido iônico a base de colina, considerado promissor e que tem atraído o interesse da indústria e da comunidade acadêmica por sua facilidade de síntese e baixo custo.

O projeto "**Obtenção de surfactantes não iônicos a partir da fração hemicelulose proveniente do bagaço da cana-de- açúcar**", foca na obtenção de surfactantes de origem renovável, e tem como objetivo o estudo da síntese de alquil poliglicosídeos a partir do licor hemicelulósico do bagaço da cana-de-açúcar. Os surfactantes são substâncias que possuem diferentes finalidades (a substância tem escopo de emulsificante, agente molhante ou de suspensão, dispersão de fases ou lubrificante) e têm notável importância para diversas áreas econômicas – como agroquímica, alimentos, produtos de higiene pessoal, limpeza, entre outros. O processo de síntese de surfactantes a partir do licor foi realizado, inicialmente, em um meio sintético simulando as concentrações dos açúcares de um licor de pré-tratamento ácido diluído. Como resultado foi encontrado como ponto ótimo a temperatura de 80°C e a concentração de 1,5 % de ácido para a formação de xilose isoamílica (produto majoritário). O estudo também prevê a realização de testes das condições ótimas em um licor hemicelulósico real, e testes de capacidade de emulsão e de limpeza da xilose isoamílica sintetizada.

[15] Um tipo específico de emulsão estabilizada por partículas sólidas ao invés de surfactantes, muito utilizada em alimentos, cosméticos, medicamentos, dentre outros.
[16] Importante ligação entre moléculas produzindo polímeros com alta massa molar.

Hidrocarbonetos Renováveis

Esta linha de pesquisa visa descobrir, desenvolver e customizar tipos diferentes de enzimas para compor uma rota de produção de hidrocarbonetos renováveis. Hidrocarbonetos renováveis são cadeias médias e longas de alcenos e alcanos, que podem ser oriundos de diferentes tipos de biomassas (por exemplo, lignocelulósica e óleos vegetais). Estes compostos possuem características físicas e químicas muito semelhantes às do petróleo, o que permite serem utilizados na produção de combustíveis, plásticos, lubrificantes sustentáveis, dentre outros biomateriais. Uma das estratégias mais utilizadas para a produção de hidrocarbonetos renováveis é por meio da conversão química, a qual utiliza altas temperaturas e pressões, metais pesados, além de grande quantidade de hidrogênio. O grande entrave na produção de hidrocarbonetos renováveis é a presença de intermediários oxigenados e de duplas ligações entre carbono-carbono proveniente das biomassas. Uma alternativa promissora para esse problema é o uso de rotas bioquímicas baseadas em micro-organismos engenheirados com enzimas altamente eficientes e específicas. A rota bioquímica, ao possibilitar que o oxigênio seja removido enzimaticamente, também permite a produção mais limpa e sustentável de hidrocarbonetos renováveis.

O principal foco desta pesquisa é a "***Descoberta e desenvolvimento de novas enzimas para a produção de hidrocarbonetos***", com enfoque nas lipases, descarboxilases/peroxigenases e redutases, visando compor uma nova rota biossintética. As lipases atuariam na hidrólise dos triglicerídeos liberando os ácidos graxos que são os substratos para as peroxigenases, as quais promoveriam a remoção dos oxigênios liberando os hidrocarbonetos em forma de alcenos. Por fim, as redutases seriam responsáveis por quebrar a dupla ligação entre carbono-carbono dos alcenos, produzindo os hidrocarbonetos na forma de alcanos. Em 2018, foram estabelecidos protocolos de produção heteróloga em cepas de E.*coli* e na plataforma escalonável *Pichia Pastoris* para dois tipos de enzimas. A produção foi escalonada em planta piloto em reatores de 100 L e a enzima foi extensivamente caracterizada, demonstrando ser altamente eficiente sob condições ácidas e altas concentrações de solventes orgânicos (como etanol e metanol). Estas características são importantes tendo em vista a aplicação industrial da enzima. Adicionalmente, a enzima hidrolisou diferentes tipos de óleos refinados e residual e apresentou atividade de esterificação em óleo bruto extraído de biomassas brasileiras, como a macaúba – um diferencial em relação as rotas químicas, onde a origem e qualidade da matéria-prima é primordial para o processo. Para obter informações estruturais da enzima que subsidiem potenciais redesenhos moleculares racionais, foram difratados microcristais, obtidos no LNBio, nas linhas de microfoco do *SLAC National Accelerator Laboratory* (EUA) e sua elucidação estrutural está em andamento.

Desenvolvimento de Micro-organismos e Enzimas

As enzimas e plataformas microbianas são consideradas primordiais para o desenvolvimento da Biotecnologia e uma economia sustentável. Atualmente, diversos

produtos disponíveis à sociedade (por exemplo, detergentes, roupas, alimentos, bebidas e combustíveis) possuem enzimas ou foram biofabricados a partir de plataformas microbianas. Esta linha de pesquisa é estruturante para o CTBE e visa entender e aplicar enzimas e sistemas biológicos para a desconstrução, modificação e síntese a partir de componentes da biomassa. Uma grande fração das pesquisas do CTBE necessita, se não integralmente, mas em uma expressiva parte dos resultados obtidos nesta linha de pesquisa. Esta linha de pesquisa tem como objetivo elucidar rotas metabólicas, descobrir novos biocatalisadores e desenvolver ferramentas de manipulação genética de micro-organismos com potenciais aplicações, a exemplo de fungos filamentosos, leveduras e bactérias. Para isso o CTBE tem se posicionado com uma referência em Biologia Sintética e áreas correlatas – como biologia de sistemas, biologia computacional, engenharia e desenho de proteínas e engenharia metabólica.

Desenvolvimento de Micro-organismos e Enzimas com Aplicações Biotecnológicas

O objetivo desta linha de pesquisa é o desenvolvimento de enzimas e micro-organismos com aplicações biotecnológicas para obtenção de produtos químicos e/ou intermediários de origem renovável e de interesse de distintos setores da indústria de transformação – como química, alimentícia, farmacêutica e cosmética. O CTBE visa, além da prospecção e descoberta por métodos avançados de sequenciamento (como "*single-cell sequencing*" e sequenciamento de 3ª geração "*long-read sequencing"*), aplicar conhecimentos mecanísticos e metabólicos para o redesenho racional de macromoléculas e sistemas biológicos complexos. Para isso, será utilizado o estado-da-arte em Biologia Estrutural com Síncrotron de 4ª geração, experimentos resolvidos no tempo na escala de femtosegundos, e sofisticadas técnicas de manipulação genética, além de evolução adaptativa.

Nesta temática, o CTBE deu continuidade ao estudo que busca desvendar "***novas estratégias para a despolimerização de polissacarídeos da parede celular vegetal*"**, que conta com apoio da FAPESP[17]. O estudo tem contribuído para a descoberta de novas enzimas ativas sobre carboidratos (CAZymes) com potencial de aplicação em processos industriais para áreas de bioenergia, produção de alimentos e setores correlatos. Em 2018, destacam-se duas descobertas, que geraram pedidos de depósitos de patentes[18]. A primeira descoberta é uma enzima (arabinofuranosidase), que apresenta uma atividade rara e muito atrativa para a desconstrução do bagaço de cana-de-açúcar: a de remover di-substituições de arabinofuranose presentes no polissacarídeo arabinoxilano. Estudos bioquímicos e mecanísticos revelaram que a rara atividade desta enzima se deve a arquitetura peculiar do sítio ativo, que permite a acomodação da cadeia principal de xiloses e das duas decorações de arabinose, uma no sítio ativo para

[17] Temático FAPESP:2015/26982-0. Explorando novas estratégias para a despolimerização de polissacarídeos da parede celular vegetal: da estrutura, função e desenho racional de hidrolases glicosídicas às implicações biológicas e potenciais aplicações biotecnológicas.

[18] PATENTE CNPEM: INPI BR 102018003572-0 (Composição para hidrólise enzimática com atividade arabinofuranosidase e método de hidrólise de biomassa vegetal) e INPI BR 102018003593-2 (Composição para hidrólise enzimática com atividade exomananase, método de hidrólise e uso).

a clivagem e outra em um subsítio auxiliar (Figura 120). A natureza pseudosimétrica da cadeia principal de xiloses permite a acomodação de Araf-O3, ora de Araf-O2 no sítio ativo, viabilizando a clivagem de todos os tipos de decorações de arabinose presentes em arabinoxilano. Tal fato, explica seu efeito sinérgico com coquetéis enzimáticos.

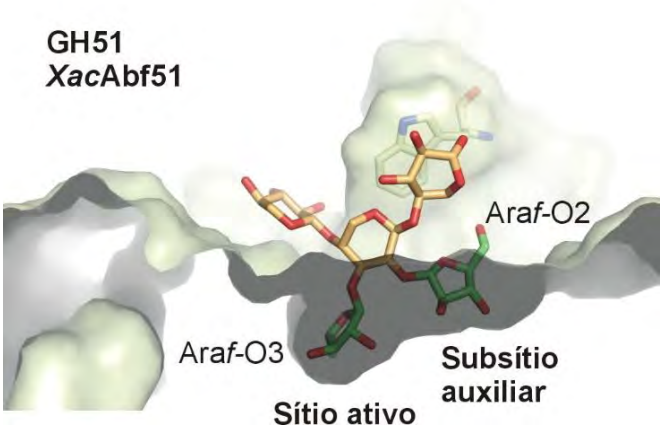


Figura 120. Representação do sítio ativo da enzima arabinofuranosidase (nomeada de *Xac*Abf51) ocupado por uma xilotriose (carbonos laranjas) contendo uma di-substituição de arabinoses (Araf-O2 e Araf-O3, carbonos em verde)[19]

A segunda descoberta foi desvendar uma atividade raramente encontrada na natureza, a de exo-mananase (Figura 121). Essa enzima é capaz de clivar manana e manooligossacarídeos em manose, o que geralmente é realizado pela atividade sinérgica de duas enzimas, as endo-mananases e as β-manosidases. Os estudos mostraram que a especificidade dessa enzima surgiu da remoção de uma barreira física do sítio ativo – o que difere do observado para uma exo-mananase relatada na literatura, que teria surgido da obstrução parcial do sítio ativo. O uso dessa nova enzima simplifica processos de processamento de mananas, que são importantes para a clarificação de sucos de frutas e para a redução da viscosidade de extratos de café, por exemplo. Em ensaios de sacarificação de biomassa, a nova enzima se mostrou eficiente em aumentar a liberação de açúcares redutores a partir do bagaço da cana-de-açúcar e de feno, na presença de outras hemicelulases. Tal resultado indica sua potencial aplicação na formulação de coquetéis enzimáticos para a produção e etanol 2G.

[19] Dos Santos CR, de Giuseppe PO, de Souza FHM, Zanphorlin LM, Domingues MN, Pirolla RAS, Honorato RV, Tonoli CCC, de Morais MAB, de Matos Martins VP, Fonseca LM, Büchli F, de Oliveira PSL, Gozzo FC, Murakami MT. *The mechanism by which a distinguishing arabinofuranosidase can cope with internal di-substitutions in arabinoxylans*. Biotechnol Biofuels. 2018 Aug 11;11:223. doi: 10.1186/s13068-018-1212-y.

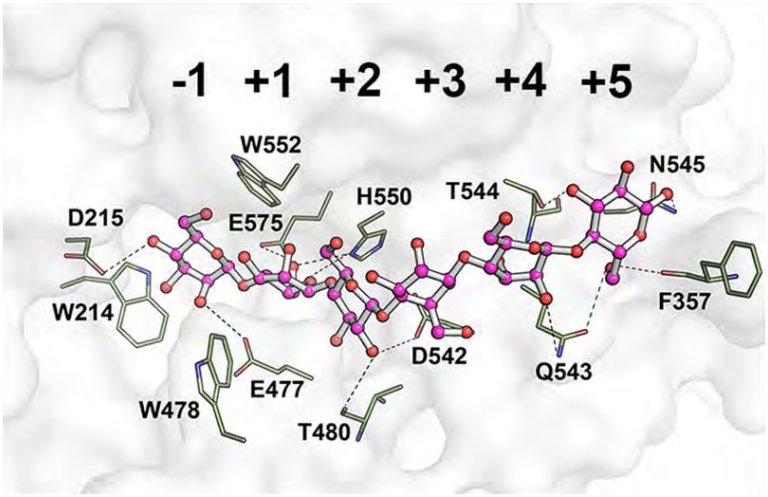


Figura 121. Representação do sítio ativo da enzima exo-mananase XacMan2A. Os subsítios -2 ao +5 teriam surgido da remoção de uma barreira física, promovendo a interação com carboidratos maiores no sítio ativo da enzima[20]

Outros destaques deste ano, incluem o sequenciamento do transcriptoma de *Xanthomonas axonopodis pv citri*, que revelou como carboidratos vegetais modulam o metabolismo desse fitopatógeno. Também foi obtido importante avanço na caracterização de enzimas ativas contra carboidratos de *Xanthomonas axonopodis pv citri* e de subfamílias de hidrolases glicosídicas ainda não caracterizadas. Em 2018, nesta linha de pesquisa 12 enzimas foram caracterizadas bioquimicamente e 14 enzimas tiveram suas estruturas determinadas por cristalografia de raios-X, em conjunto com o LNBio e LNLS. Estas atividades permitiram ampliar o conhecimento sobre estratégias enzimáticas para a degradação de polissacarídeos e outros carboidratos complexos de relevância industrial.

Ainda no âmbito da descoberta de enzimas, está inserido o estudo "***Abordagens multi-ômicas e in silico para descoberta de enzimas para despolimerização da parede celular vegetal***". O estudo investiga o microbioma intestinal de capivaras, que habitam a região da bacia do rio Piracicaba, no Estado de São Paulo, e que se alimentam de cana-de-açúcar. O microbioma intestinal desses animais serve como modelo para se prospectar novas estratégias enzimáticas para a despolimerização da parede celular vegetal. Foram empregadas abordagens integradas multi-ômicas de sequenciamento de amplicons, metagenômica e metatranscriptomica, metabolômica e análises *in silico* para a identificação em larga escala de CAZymes presentes na microbiota de Capivara. Como resultado dessas análises, foi identificado um possível novo *cluster* de genes associados à degradação de polissacarídeos.

Como foco no desenvolvimento de micro-organismos, o CTBE desenvolve o estudo "***Co-regulação transcricional e identificação de genes de interesse biotecnológico*"**. O objetivo é analisar a co-regulação de genes diferencialmente expressos no

[20] Domingues MN, Souza FHM, Vieira PS, de Morais MAB, Zanphorlin LM, Dos Santos CR, Pirolla RAS, Honorato RV, de Oliveira PSL, Gozzo FC, Murakami MT. *Structural basis of exo-β-mannanase activity in the GH2 family*. J Biol Chem. 2018 Aug 31;293(35):13636-13649. doi: 10.1074/jbc.RA118.002374.

transcriptoma de um fungo selecionado pela análise de uma rede de co-regulação gênica, bem como construir e validar cepas mutantes deste fungo para identificação de genes, até então de função desconhecida, que possam ser de interesse biotecnológico. Como resultado foi gerada a primeira rede de co-regulação gênica de deste fungo publicada. Também foi realizada a predição de sítios de ligação do regulador de celulases mais importante deste fungo. Em 2018, foi realizada a metabolômica do fungo e os dados preliminares mostraram que o perfil dos metabólitos se altera de acordo com a fonte de carbono utilizada.

3.3.3 Programa de Biomassa

A biomassa é uma das principais formas de se produzir bioenergia limpa e tem papel preponderante na matriz energética brasileira. As condições favoráveis de solo e clima, associado a pacotes tecnológicos bem estabelecidos, fazem do país um líder mundial na produção sustentável de bioenergia. No Brasil, a biomassa tem grande contribuição na produção de bioeletricidade e é a principal matéria prima na produção de bioetanol, produzido sobretudo a partir da cana-de-açúcar. Neste contexto, o Programa Temático Biomassa do CTBE, composto por um grupo multidisciplinar de pesquisa, visa desenvolver estratégias para alavancar a produção de biomassa, melhorar a qualidade da matéria-prima, reduzir as emissões de gases do efeito estufa e melhorar a qualidade do solo e o uso de recursos naturais.

Cana-de-açúcar e Biomassas Complementares

No Brasil, a cana-de-açúcar é a principal cultura destinada à produção de bioenergia, sobretudo o bioetanol. Recentemente, algumas biomassas complementares, como o milho e a cana energia, começaram a ganhar espaço na matriz energética do país. O CTBE atua na melhoria dos coeficientes técnicos das culturas relacionados ao microbioma e estrutura do solo e suas interações com a planta, buscando aumentar a produtividade vegetal com menor impacto ambiental. Este subprograma de pesquisa é composto por um grupo multidisciplinar que atua nas seguintes áreas: investigação da estrutura multiescala da biomassa para aumentar a eficiência de uso em processos industriais; entendimento da relação solo-planta para maximizar a produção de biomassa sem comprometer a capacidade produtiva do solo; utilização do microbioma do solo em prol de uma produção mais sustentável; avaliação da qualidade do solo em sistema de produção de biomassa; proposição de estratégias para aumentar os estoques de carbono do solo e redução das emissões de gases do efeito estufa oriundas da produção de biomassas no Brasil; realização de avaliações integradas que englobem todos os elos da interação solo-planta-atmosfera nos sistemas de produção de cana-de-açúcar (e/ou biomassas complementares) no Brasil.

Solo e Biomassa: Estrutura e Mecanismos

Esta linha de pesquisa visa compreender o solo e a biomassa considerando suas estruturas multiescala e os mecanismos físicos, químicos e biológicos atuantes em condições de produção e processamento de cana-de-açúcar e biomassas complementares. Para aumentar a eficiência e a eficácia dos processos biotecnológicos usados na produção do etanol de segunda geração é preciso conhecer a estrutura física dos polímeros presentes na parede celular da biomassa. Neste sentido, o CTBE no âmbito do "***INCT Bioetanol***"[21] sob coordenação da Universidade de São Paulo, desenvolve esforços para aprofundar o conhecimento sobre a arquitetura multiescala das paredes celulares da cana-de-açúcar, desde a estrutura das moléculas até a morfologia dos tecidos. Este trabalho, que tem como objetivo o melhoramento de tecnologias de etanol 2G, analisou o bagaço de cana-de-açúcar por microtomografia de raios X no LNLS, o que permitiu observar a água contida em seu interior (Figura 122). O bagaço fresco apresentou em sua composição 50% de água e sua localização era desconhecida até então. Essa descoberta é útil para conceber novas tecnologias capazes de melhorar a eficiência do uso da água nas usinas, melhorar a eficiência da combustão do bagaço, e reduzir a degradação da biomassa durante sua armazenagem. Outra frente de trabalho no **INCT Bioetanol** foca na compreensão dos mecanismos de contaminação de biomassa por minerais, vindos principalmente do solo. Ao longo de 2018, foram obtidos avanços no diagnóstico microscópico da contaminação mineral presente no bagaço e palha de cana-de-açúcar. Prevê-se que os resultados obtidos permitirão o desenvolvimento de processos mais eficientes para limpeza da biomassa lignocelulósica.

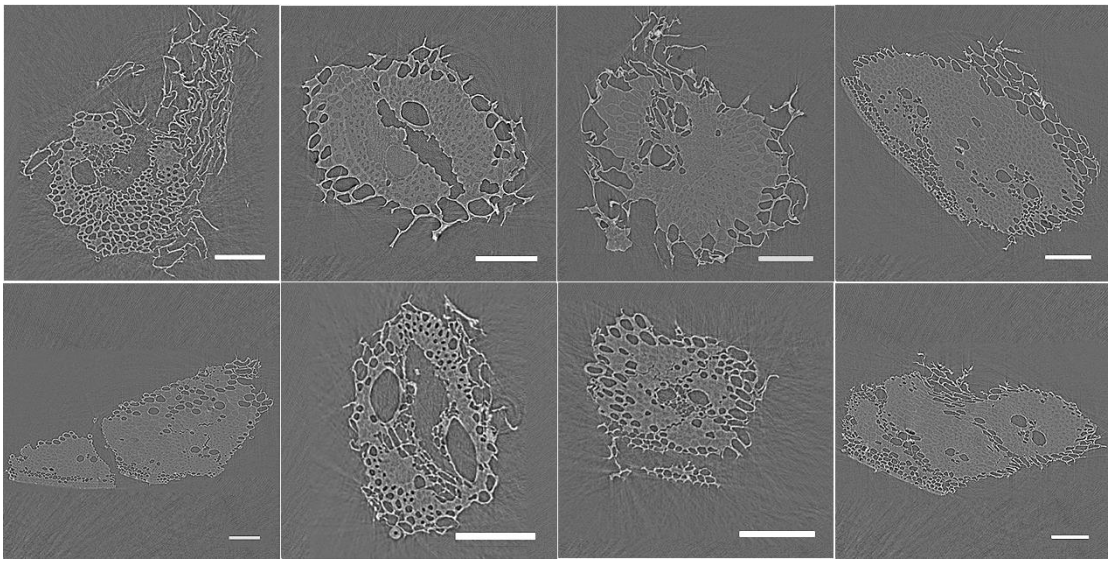


Figura 122. Imagens de seção transversal selecionadas de oito partículas de bagaço de cana fresco. O contraste da imagem permite discriminar o ar (mais escuro), a água e as paredes celulares (mais claras). Escala das barras: 150 µm[22]

[21] O INCT é co-financiado por CNPq, CAPES e FAPESP.

[22] Carlos Driemeier, Liu Y. Ling, Daison Yancy-Caballero, Paulo E. Mantelatto, Carlos S. B. Dias, Nathaly L. Archilha. *Location of water in fresh sugarcane bagasse observed by synchrotron X-ray microtomography*. Plos One, 2018 (https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208219).

O projeto "***Armazenagem, modelagem e análise de sistemas dinâmicos para aplicações em e-Science***" busca desenvolver ferramentas computacionais para análise de imagens de biomassa. Destaca-se como resultado de 2018, o desenvolvimento de uma metodologia para construção de modelos de redes de poros de bagaço de cana-de-açúcar. Esses modelos permitem identificar gargalos para transporte de massa intrapartícula nos processos de conversão de biomassa. Em uma outra frente de trabalho, as competências no estudo de porosidade a partir de imagens 3D têm sido empregadas para estudos de solo, criando sinergias com os estudos de biomassa.

No segundo semestre de 2018, foi iniciado o "***Estrutura de solo em áreas de cana com manejo contrastante de palha*** (*Soil structure in sugarcane field under contrasting straw management*)". O objetivo é utilizar diversas técnicas analíticas, inclusive com luz síncrotron, para compor um panorama abrangente das alterações estruturais multiescala ocorridas no solo devido ao recolhimento da palha de cana-de-açúcar para a produção de bioenergia. Como resultado, foram obtidas as primeiras microtomografias de raios-X de agregados de solo, coletados em áreas com contraste no manejo da palha de cana-de-açúcar, buscando uma compreensão microscópica das alterações agronômicas que vem sendo observadas em escala macro.

Sustentabilidade do Solo

A qualidade e sustentabilidade do solo são elementos essenciais para a produção da biomassa. O CTBE busca aprofundar o conhecimento de mecanismos e interações das propriedades do solo, visando a produção de biomassa com maior eficiência no uso de recursos naturais e menor emissões de gases de efeito estufa. No âmbito do projeto SUCRE[23], que busca avaliar os impactos agronômicos e ambientais da remoção de palha para a geração de bioenergia, foram realizados estudos de longa duração, visando aprofundar o conhecimento de mecanismos e interações das propriedades do solo (interação solo-planta). O estudo "***Impactos Agronômicos e Ambientais da remoção de palha***" avalia os impactos da remoção de palha na qualidade do solo, nas emissões de gases do efeito estufa e na produção de biomassa de cana-de-açúcar na região centro sul do Brasil. Para tanto, foram desenvolvidos diversos experimentos de campo e efetuadas análises laboratoriais. Os resultados parciais indicam que altas taxas de remoção de palha para a produção de bioeletricidade reduz a qualidade química, física e biológica do solo, e em contrapartida reduz a infestação de pragas importantes para a cultura da cana-de-açúcar. O estudo revelou que a remoção de altas quantidades de palha pode aumentar de 3 a 10 vezes as perdas de solo e nutrientes por processos erosivos (Figura 123).

[23] SUCRE: *Sugarcane Renewable Electricity*. Financiado pelo Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD).

Figura 123. Ilustração de experimento de campo para avaliação do impacto da remoção de palha nas perdas de solo, água e nutrientes por processos erosivos

Outro tema relacionado à sustentabilidade do solo é sua atuação como fonte ou dreno de gases do efeito estufa. No Brasil, a maioria dos solos são altamente intemperizados, exibem baixa fertilidade natural e apresentam baixos níveis de carbono. Por apresentarem uma linha de base relativamente baixa, a maior parte dos solos brasileiros apresenta alto potencial de sequestro de carbono, o que consequentemente contribui para a redução da concentração de gases do efeito estufa na atmosfera. O carbono é uma componente chave no balanço de gases do efeito estufa e também é um dos principais indicadores de qualidade do solo. Em áreas de cana-de-açúcar, estudos realizados no CTBE desde 2012 indicam que a palha é a principal fonte de carbono para o solo, representando 70% do aporte total e que altas taxas de remoção deste resíduo cultural resultam em reduções de 1,1 e 1,3 Mg C ha^{-1} ano^{-1} em solos arenosos e argilosos, respectivamente.

No âmbito desta temática, se insere o estudo "***Dinâmica do carbono do solo e balanço de gases de efeito estufa: implicações da remoção da palha de cana-de-açúcar para produção de bioenergia***"[24], que utiliza o modelo de simulação DayCent. Em 2018, os resultados obtidos sugerem que no longo prazo a manutenção da palha no campo resultará em aumentos significativos de carbono no solo. Opostamente, a remoção total de palha reduzirá a estocagem de carbono no longo prazo e, consequentemente, reduzirá o potencial produtivo do solo (Figura 124).

[24] FAPESP 2017/23978-7: Dinâmica do carbono do solo e balanço de gases de efeito estufa: implicações da remoção da palha de cana-de-açúcar para produção de bioenergia.

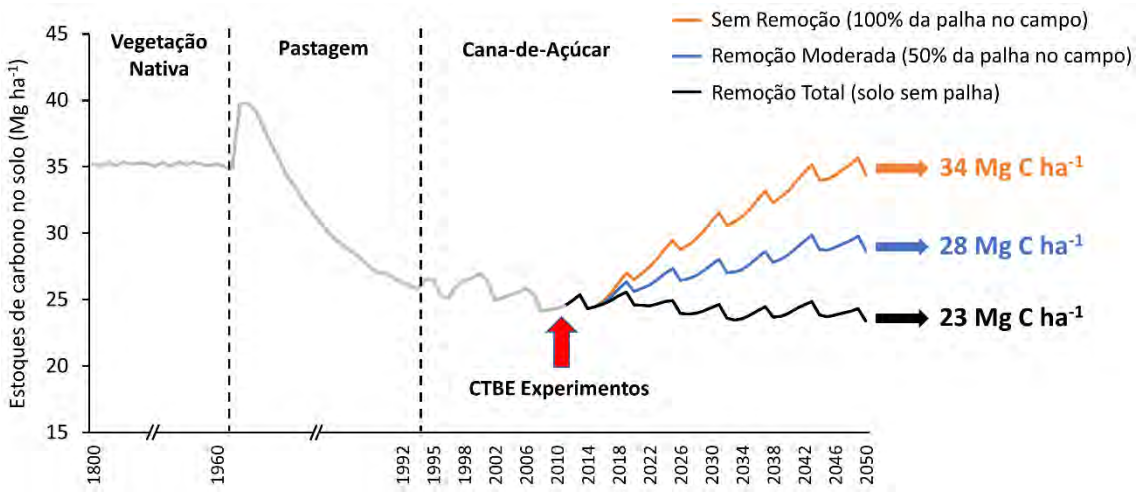


Figura 124. Simulação de longo prazo (até 2050) dos impactos da remoção de palha sobre os estoques de carbono do solo (Mg C ha^{-1}) na camada de 0-30 cm, em área de solo arenoso cultivado com cana-de-açúcar

Por outro lado, a remoção de palha para a produção de bioenergia apresenta alguns benefícios para o sistema solo-planta-atmosfera, incluindo a redução da infestação de pragas no solo e a mitigação das emissões de óxido nitroso (N_2O) – principal gás do efeito estufa emitido pelos solos sob produção de cana-de-açúcar. Ainda no âmbito do Projeto SUCRE, os resultados evidenciam que a manutenção de palha no campo aumenta as emissões de N_2O em solos cultivados com cana-de-açúcar na região centro-sul do Brasil (Figura 125). O próximo passo será realizadar o balanço global de gases do efeito estufa no sistema solo-planta-atmosfera, considerando as mudanças nos estoques de carbono do solo e as emissões de gases associadas aos diferentes cenários de uso e manejo da palha de cana-de-açúcar. O estudo "***Impactos Agronômicos e Ambientais da remoção de palha***", encontra-se em fase final e seus resultados servirão de base para a elaboração de um Guia de Boas Práticas, indicando os prós e contras da remoção de palha para a produção de bioenergia.

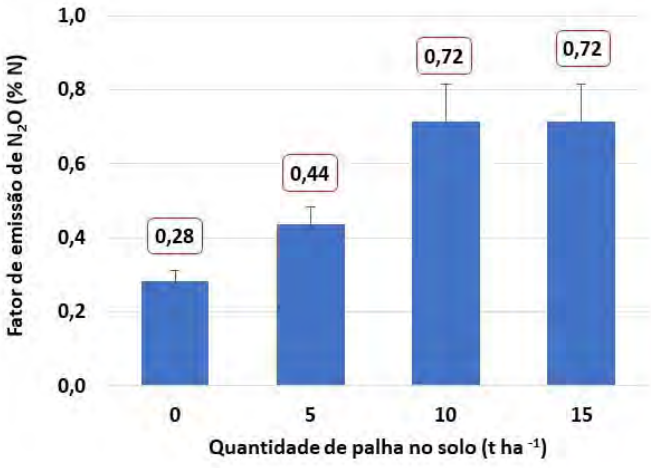


Figura 125. Impacto da quantidade de palha no solo nas emissões de N_2O em solos cultivados com cana-de-açúcar na região centro-sul do Brasil

No que se refere aos estudos relacionados às emissões de gases de efeitos estufa do solo, o CTBE concluiu a pesquisa que trata das "***Emissões de N_2O em cana-de-açúcar adubada com nitrogênio contendo inibidor de nitrificação sobre diferentes quantidades de palha*"**.** Os resultados revelaram que o uso de inibidores de nitrificação reduziu em média 75% as emissões de N_2O resultantes da aplicação de fertilizante nitrogenado, a qual é a principal fonte individual de emissão na produção de etanol da cana-de-açúcar. Também nessa linha, o CTBE está finalizando o estudo **"*Emissões de N_2O do solo relacionadas com formas de aplicação de N-Fertilizante em soqueira de cana-de-açúcar*"**[25], financiado pela FAPESP. Os resultados deste estudo indicam que a aplicação de fertilizante nitrogenado em contato direto com o solo aumenta a produtividade de cana-de-açúcar e reduz as emissões de N_2O para a atmosfera. Neste mesmo estudo, também foram testados "***o impacto da aplicação dos principais tipos de N-fertilizante*"** (ureia, nitrato de amônio, sulfato de amônio e mono-amônio fosfato). Os resultados revelaram que as maiores emissões de N_2O estão associadas à aplicação de ureia e que essa maior emissão está altamente correlacionada com o grupo de bactérias oxidadoras de amônio, o que indica que em solos tropicais bem drenados a nitrificação é a principal rota de formação de N_2O. Os resultados destes estudos permitem elencar estratégias de mitigação das emissões de N_2O do solo e representam significativa contribuição para a produção mais sustentável de etanol de cana-de-açúcar. Ademais, tais resultados poderão servir de base para o estabelecimento políticas públicas no âmbito do programa de governo Renovabio.

Também relacionado à interação solo e planta, o CTBE realizou estudos de "***Caracterização, produção e avaliação de biofertilizante organomineral a base de palha de cana-de-açúcar pirolisada*"**. Os experimentos utilizaram diferentes solos com cana-de-açúcar e os resultados revelaram um incremento de aproximadamente 30% na produção da cultura com o uso do biofertilizante. Este resultado pode ser atribuído às características do fertilizante, aumento da porosidade do biocarvão e fusão do sal fertilizante com a matriz de carbono estável[26]. No estudo foi utilizada a técnica de espectroscopia de absorção de raio-X (XANES) e seus resultados mostraram que a aplicação do fósforo junto ao biocarvão foi capaz de, ao longo do tempo, manter uma maior quantidade de fósforo ligada a fração orgânica do solo – o que indica que o nutriente está mais disponível para as plantas.

Em 2018, ainda na temática interação solo e planta, o CTBE direcionou esforços de pesquisa para a cana energia, uma cultura que despertou o interesse do setor sucroenergético, mas que ainda possui poucos estudos desenvolvidos. O estudo "***Extração e exportação de nutrientes por genótipos de cana energia*"** visou avaliar a produção de biomassa, qualidade tecnológica e extração nutrientes em genótipos de

[25] FAPESP 2015/23186-8: Emissões de N_2O do solo relacionadas com formas de aplicação de N-fertilizante em soqueira de cana-de-açúcar.

[26] PATENTE CNPEM: INPI BR1020170236323. Fertilizante preparado a partir de biocarvão, processo de obtenção e material para propagação vegetal.

cana energia e compará-los com uma variedade de cana-de-açúcar. Os resultados indicaram que as variedades de cana energia apresentaram uma produção média de biomassa seca de 53 Mg ha^{-1} (variando de 43 a 63 Mg ha^{-1}), sendo a produtividade em média 28% superior à cana-de-açúcar. Entretanto, a extração de macronutrientes por tonelada de massa seca de cana energia (12,7 kg K; 3,7 kg N; 1,6 kg Mg; 1,4 kg S e 0,8 kg P) foi superior à quantidade extraída pela cana-de-açúcar. Tal fato revela que a adubação da cana energia não deve ser realizada usando as recomendações padronizadas para a cana-de-açúcar. Também com relação a cana energia, outros estudos[27] estão sendo desenvolvidos visando "***avaliar a reposta da cultura à adubação nitrogenada, as emissões de gases do efeito estufa e o processo de brotação e crescimento inicial modulados por reguladores de crescimento***". Embora seja reportado que a cana-energia possui um ótimo crescimento, nenhum estudo sistemático foi realizado, sobretudo em estágios iniciais do seu desenvolvimento. Um estudo pioneiro realizado pelo CTBE verificou uma brotação e crescimento da parte aérea mais rápido da cana-energia, apesar do desenvolvimento radicular ser mais lento em relação a cana convencional. Resultados preliminares também mostraram que a cana energia é mais resistente ao estresse hídrico do que a cana-de-açúcar. Tais resultados são fundamentais para avaliação da viabilidade econômica e ambiental da cana energia como matéria prima para produção de bioenergia.

A linha de pesquisa Sustentabilidade do Solo também abrange a temática de sua microbiologia. Destaca-se neste tema, os resultados associados ao projeto **"*Identificação e uso de voláteis bacterianos contra patógenos da cana-de-açúcar*"**[28] que propõe o estudo de compostos orgânicos voláteis (COVs) microbianos contra patógenos que causam doenças em cana-de-açúcar. A identificação de cepas bacterianas, que possam ser utilizadas como controle biológico destes patógenos, prevista neste trabalho é importante, pois permite a redução do uso de agroquímico. Alguns patógenos e doenças de cana-de-açúcar estão sendo estudados. Em 2018, foram identificadas duas cepas que, em dada quantidade, são capazes de inibir em até 100% o crescimento e germinação (Figura 126) do fungo *Sporisorium scitamineum* – causador da doença do carvão em cana-de-açúcar e cana energia. Além disso, verificou-se que as cepas também inibem o crescimento do fungo *Ceratocystis paradoxa*, que causa a podridão do abacaxi em cana-de-açúcar.

[27] FAPESP 2016/18853-8: Eficiência de uso N, acúmulo e exportação de macro e micronutrientes em cana energia submetida a doses de N-fertilizante. FAPESP 2018/04992-1: Emissão de gases de efeito estufa associada a microbiologia do solo em áreas sob manejo da cana energia.

[28] FAPESP - 2017/24395-5: Identificação e uso de voláteis bacterianos contra patógenos da cana-de-açúcar.

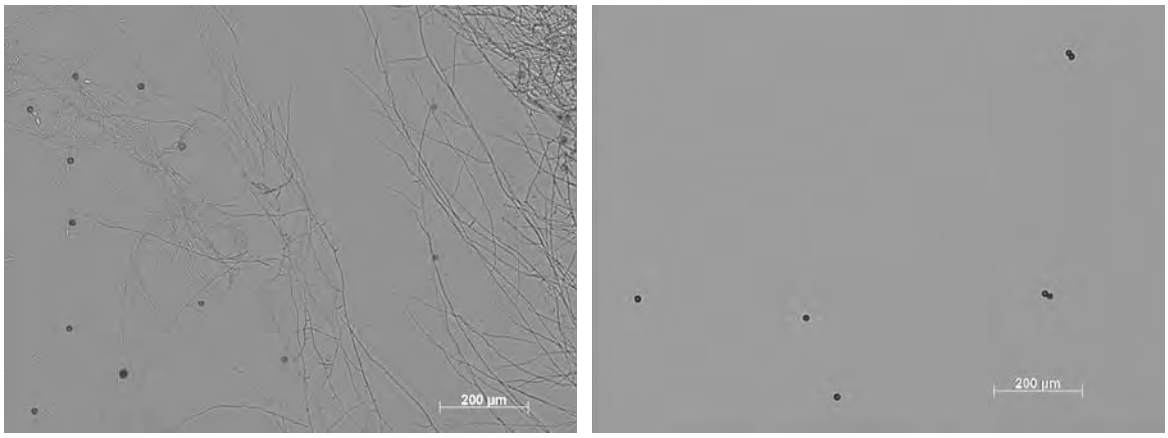


Figura 126. Imagem de microscopia mostrando a inibição da germinação dos esporos de S. scitamineum:(esquerda) esporos sem a presença de voláteis bacterianos, com hifas já em desenvolvimento, (direita) esporos com a presença de voláteis bacterianos, mostrando a não germinação dos mesmos

Outro estudo de microbiologia do solo é o "***Análise de voláteis bacterianos promotores de crescimento vegetal***"[29]. Diversas bactérias promotoras de crescimento vegetal podem aumentar a produtividade de culturas agrícolas através de uma série de mecanismos, como compostos orgânicos voláteis (COVs). O uso de bactérias na agricultura representa uma maneira sustentável de substituir, pelo menos em parte, os produtos químicos usualmente utilizados, aumentar a produtividade agrícola e reduzir os custos de produção de alimentos, fibras e biomassa. Neste ano, foram identificadas algumas cepas capazes de promover o crescimento da planta modelo *Arabidopsis thaliana* e *Setaria viridis* (Figura 127) pela produção de COVs, gerando um aumento do peso seco da biomassa em mais de 2,5 vezes, e do volume e área de raízes em 3 vezes, nas duas espécies de planta.

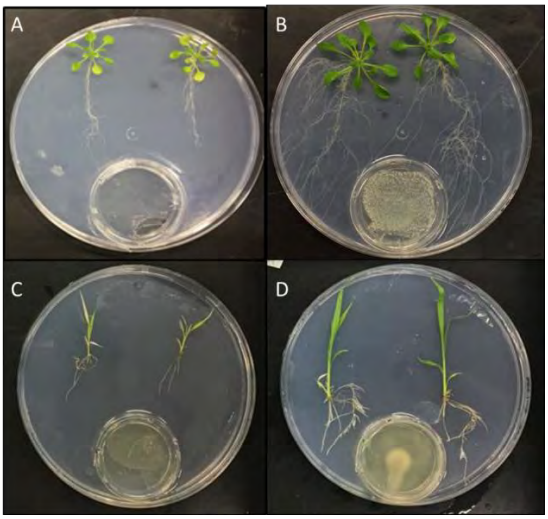


Figura 127. Promoção de crescimento de *A. thaliana* e *S. viridis* por COVs bacteriano. *A. thaliana* sem (A) e com (B) volátil bacteriano, *S. viridis* sem (C) e com (D) volátil bacteriano

[29] FAPESP - 2017/20521-6: Agilent - PITE. Plataforma HS-GC/MS para a análise de voláteis promotores de crescimento vegetal.

Ainda no âmbito da microbiologia do solo, o estudo "***Seleção de bactérias solubilizadoras de fosfato e fixadores de nitrogênio***"[30] visa a prospecção de bactérias capazes de contribuir para a fixação de nitrogênio e no aumento da solubilização do fosfato, consequentemente, promovendo o crescimento vegetal e propiciando a redução do uso de fertilizantes químicos. Cabe destacar, que além de serem onerosos, os fertilizantes químicos podem ter impactos negativos sobre o meio ambiente. Em 2018, foram pré-selecionadas cepas potencialmente promissoras para solubilização de fósforo. Também estão previstos a realização de outros testes *in vitro* que comprovem tais características, para a validação i*n vivo* em planta modelo (*A. thaliana*) e, em seguida, em cana-de-açúcar.

3.3.4 Programa de Avaliação de Sustentabilidade

Atualmente, a sustentabilidade é uma das principais preocupações mundiais relacionadas à produção de biomassa, biocombustíveis e bioprodutos. O CTBE, desde sua criação, buscou criar ferramentas que permitam avaliar quantitativamente os impactos na sustentabilidade (econômica, ambiental e social) das tecnologias em desenvolvimento, bem como dos impactos globais em ecossistemas. Esta atuação do CTBE tem recebido reconhecimento nacional e internacional através de trabalhos realizados utilizando a plataforma denominada Biorrefinaria Virtual de Cana-de-açúcar (BVC). Este Programa Temático envolve a avaliação tecnológica integrada de processos produtivos (Biomassa, Biocombustíveis e Bioprodutos e Química Verde), incluindo o estudo e otimização das cadeias produtivas e o desenvolvimento de metodologias de avaliação econômica, ambiental e social. Para estes estudos se faz necessário também o desenvolvimento e a contínua atualização de ferramentas de modelagem e simulação de processos agroindustriais envolvidos nas cadeias produtivas em estudo. A atuação na avaliação de ecossistemas tem enfatizado os impactos das mudanças de uso da terra e seus recursos naturais, como a água, em áreas de expansão da produção de cana-de-açúcar e outras biomassas complementares.

Subprograma Avaliação Tecnológica Integrada

O subprograma de Avaliação Tecnológica Integrada tem como objetivo a avaliação de diversas rotas tecnológicas envolvendo os processos de produção e processamento de cana-de-açúcar e biomassas complementares. Para tanto, emprega-se a plataforma Biorrefinaria Virtual de Cana-de-açúcar (BVC), que através de simulação e modelagem agroindustrial e da aplicação de metodologias de avaliação, permite quantificar os impactos (técnico-econômicos, ambientais e sociais) de diferentes configurações de biorrefinarias, bem como a otimização da cadeia produtiva como um todo. Os estudos realizados utilizando a plataforma BVC permitem orientar ensaios para

[30] FAPESP - 2017/20521-6: Agilent - PITE. Plataforma HS-GC/MS para a análise de voláteis promotores de crescimento vegetal.

desenvolvimento das tecnologias em estudo, bem como quantificar as vantagens técnicas, econômicas, ambientais e sociais advindas da implantação destas tecnologias. Destacam-se como exemplos da atuação do subprograma de Avaliação Tecnológica Integrada a avaliação da viabilidade do recolhimento e processamento de palha para produção de energia elétrica, e o estudo da produção do coquetel enzimático e das leveduras a serem empregadas na tecnologia de etanol de segunda geração.

Modelagem e Simulação de Processos Agroindustriais

Esta linha de pesquisa visa a modelagem e simulação das etapas agrícolas e industriais para avaliação tecnológica dos processos de produção e processamento de biomassa de cana-de-açúcar e culturas complementares. Tem foco no desenvolvimento e atualização de uma ferramenta (CanaSoft) capaz de modelar o sistema agrícola de produção de cana-de-açúcar e outras biomassas. Na etapa industrial, são realizadas avaliações de diferentes rotas ou tecnologias no contexto de biorrefinaria. Os resultados dos modelos e simulações agroindustriais são utilizados para a avaliação de impactos técnicos, econômicos, ambientais e sociais no contexto de biorrefinarias.

No âmbito do estudo da **"*Mecanização e Regionalização dos Custos Agrícolas*",** foi realizada a avaliação técnico-econômica, ambiental e social da produção agroindustrial do setor sucroenergético em diferentes regiões brasileiras. O modelo CanaSoft recebeu a atualização dos índices de custos de produção agrícola para cada região considerada. Os resultados[31] revelaram que o sistema de colheita mecanizada de cana-de-açúcar apresenta menores custos de produção por tonelada de colmo em São Paulo e na região Centro-Oeste. Já para a região Nordeste, os menores custos estão associados ao sistema de colheita manual. Considerando os impactos sociais, os cenários com colheita manual apresentam maior número de empregos, porém maior taxa de acidentes ocupacionais e menores salários. A avaliação ambiental mostra que os cenários com colheita mecanizada e recolhimento de palha apresentam o melhor desempenho para as regiões avaliadas. Neste ano, foi finalizada a **"*Avaliação do Uso da Agricultura de Precisão na Cultura da Cana-de-açúcar*"**, em que as estruturas de cálculo do modelo foram ajustadas para avaliação da agricultura de precisão, inserindo maquinário e operações necessárias. Neste estudo foram realizadas simulações de cenários com e sem a utilização de agricultura de precisão, considerando a sistematização dos talhões e a distribuição de insumos a taxa variada. A adoção das tecnologias GNSS (Sistema Global de Navegação por Satélite) e VRT (Aplicação à Taxa Variada) apresentaram potencial para reduzir o custo total de produção da cana-de-açúcar em aproximadamente 10%. Do ponto de vista ambiental, a adoção de tecnologias apresentou potencial de reduzir em cerca de 20% o impacto na categoria de mudanças climáticas, em comparação ao cenário sem o emprego da agricultura de precisão.

[31] Cardoso, T.F., Watanabe, M.D.B., Souza, A., Chagas, M.F., Cavalett, O., Morais, E.R., Nogueira, L.A.H., Leal, M.R.L.V., Braunbeck, O.A., Cortez, L.A.B., Bonomi, A. (2019). A regional approach to determine economic, environmental and social impacts of different sugarcane production systems in Brazil. Biomass and Bioenergy, 120, 9-20.

Com relação à modelagem e simulação industrial das biorrefinarias, foram realizados diversos estudos detalhando os processos de produção de etanol em 2018. O estudo **"*Modelagem, simulação e otimização da extração dos açúcares da cana por processos de difusão/lixiviação*"** gerou uma nova plataforma de simulação registrada sob o título de D-DiSim[32], aplicada à operação do difusor, equipamento responsável pela extração dos açúcares da cana-de-açúcar e substituto da moenda em algumas usinas. Esta ferramenta possibilita prever resultados, como a extração de sacarose e a curva de distribuição de sólidos solúveis (Brix) ao longo do equipamento.

Como resultado do estudo **"*Modelagem de Usinas de 1ª Geração*"** destaca-se a elaboração da estrutura de cálculo de um modelo flexível que permite realizar, por meio de uma interface amigável, balanços de massa e energia para qualquer proporção de produção de açúcar e etanol, bem como diferentes capacidades de processamento industrial, aproveitamento de palha, entre outras características. A validação do modelo foi realizada com um software comercial amplamente utilizado e apresentou desvios menores do que 5%. O modelo desenvolvido é útil para casos em que um número elevado de simulações seja necessário, como, por exemplo, análise de incertezas e geração de modelos simplificados.

No contexto do estudo **"*Avaliação técnico-econômica da destoxificação de hidrolisado hemicelulósico no processo integrado de 1ª e 2ª geração*"**, destaca-se a realização de avaliação, através de simulação computacional, do processo de destoxificação do hidrolisado hemicelulósico por extração líquido-líquido utilizando diferentes solventes para remoção dos compostos inibitórios à subsequente fermentação. A seleção do solvente com melhor desempenho técnico-econômico foi realizada através de uma análise comparativa, que incorporou resultados experimentais de fermentação e de eficiência de extração, bem como os preços dos solventes.

O projeto **"*Avaliação técnico-econômica e ambiental de biorrefinarias integradas de cana-de-açúcar e microalgas*"** resultou em um artigo de revisão[33], no qual são apresentadas as vantagens da integração de processos entre usinas de cana-de-açúcar e plantas de microalgas em escala industrial para produção de biocombustíveis e bioprodutos.

No âmbito do estudo de **"*Modelagem de biorrefinarias termoquímicas*"**, foi realizada a comparação de rotas tecnológicas para obtenção de bioquerosene de aviação. Os resultados demonstraram que a conversão termoquímica de bagaço/palha de cana-de-açúcar e de eucalipto são promissoras, tanto em termos econômicos quanto ambientais.

Ainda nesta temática, destaca-se em 2018 a participação do CTBE no projeto Temático FAPESP **"*Recalcitrância da biomassa de cana-de-açúcar: fundamentos relacionados à formação da parede celular, ao pré-tratamento e à digestão enzimática, aplicados no desenvolvimento de novos modelos de biorrefinarias*"**, coordenado pela Escola de Engenharia de Lorena (EEL-USP). Foi realizada uma avaliação técnico-econômica da

[32] Registro INPI BR 512018051738-2. D-DiSim.

[33] Klein BC, Bonomi A and Maciel Filho R, Integration of microalgae production with industrial biofuel facilities: A critical review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 82, 1376-1392 (2018).

produção de etanol de 1ª e 2ª geração a partir de híbridos de cana-de-açúcar, considerando o pré-tratamento sulfito alcalino. Os resultados mostraram que o pré-tratamento mais severo (com maior adição de catalisador) possibilita uma maior produção de etanol; no entanto, a contribuição do insumo no custo do produto é impeditiva para alcançar a viabilidade econômica. Assim, concluiu-se que a produção local do insumo ou o melhor aproveitamento do subproduto (resíduo de lignina) podem auxiliar na obtenção de custos de produção competitivos do etanol de 2ª geração.

Cadeias Produtivas

Esta linha de pesquisa tem como objetivo o desenvolvimento e aprimoramento de metodologias de avaliação econômica, ambiental e social, bem como o estudo e otimização de cadeias produtivas integradas à produção de biocombustíveis. As atividades envolvidas englobam a atualização e desenvolvimento dos seguintes tópicos: metodologia e banco de dados de investimentos, avaliação de viabilidade econômica e análise de fluxo de caixa, desenvolvimento de indicadores de impacto social, avaliação ambiental e bancos de dados para avaliação do ciclo de vida. Além disso, esta linha de pesquisa trata da elaboração de metodologias para otimização de cadeias produtivas e do desenvolvimento de um modelo capaz de avaliar as etapas de distribuição e uso dos produtos de biorrefinarias.

Em 2018, destaca-se a participação do CTBE no projeto Temático FAPESP "***Bioenergy contribution of Latin America, Caribbean and Africa to the GSB project - LACAF-Cane I***", coordenado pelo NIPE/UNICAMP. No âmbito deste projeto, foi realizada a avaliação (técnico-econômica e ambiental) de diferentes configurações tecnológicas agroindustriais para produção de bioenergia no Brasil, Colômbia e Moçambique. Além disso, foram realizadas análises de incertezas variando os principais parâmetros agroindustriais nos diversos cenários avaliados. Os resultados[34] revelaram que as soluções tecnológicas serão diferentes a depender do contexto de país em que se inserem e dos indicadores considerados na tomada de decisão do investimento.

No âmbito do projeto "***Avaliação da Integração Cana-Pecuária***", foi realizado um estudo exploratório sobre a integração de uma biorrefinaria de cana-de-açúcar com um sistema intensivo de pecuária bovina. Destaca-se como resultado que a integração permitiu ampliar em cerca de quatro vezes a produção de cana-de-açúcar e de seus produtos (etanol de 1ª e 2ª geração, açúcar e eletricidade) e disponibilizar subprodutos para a compor a ração animal, permitindo dobrar a produção de alimento nesta mesma área – em comparação ao cenário de referência (pecuária extensiva e uma biorrefinaria processando 2 Mt de cana em uma área de 100 mil ha). Além disso, o potencial de

[34] Cardoso, T.F.; Watanabe, M.D.B.; Souza, A. M.; Chagas, M.F.; Cavalett, O.; Morais, E.R.; Nogueira, L.A.H.; Leal, M. R. L. V.; Braunbeck, O.; Cortez, L.A.B.; Bonomi, A. Sugarcane bioenergy production systems: technical, socioeconomic and environmental assessment. In: Luis A. B. Cortez; Manoel Regis L. V. Leal; Luiz A. Horta Nogueira. (Org.). Sugarcane Bioenergy for Sustainable Development Expanding Production in Latin America and Africa. 1ed.Abingdon, Oxon: Routledge, 2018, v. 1, p. 299-316.

mitigação de gases de efeito estufa deste cenário é cerca de 4 vezes maior do que do cenário de referência, quando se considera que os produtos obtidos podem substituir seus equivalentes (gasolina, eletricidade pela média da matriz brasileira e carne produzida a partir de pecuária extensiva). O resultado deste estudo foi apresentado no iconBM 2018 – *International Conference on Biomass* na Itália[35]. Em outro cenário estudado no tema Avaliação da Integração Cana-Pecuária foi considerado que a diferença entre o tempo de abate dos animais em confinamento (120 dias) e a pasto (365 dias) gerou créditos de carbono que foram considerados como renda extra e tiveram grande influência na viabilidade econômica da produção de gado de corte. Como resultado, numa mesma área (200 mil ha) que antes produzia apenas carne bovina, foi possível incluir 4 usinas anexas (4 Mt de cana cada) e manter a terminação de 200 mil cabeças de gado. Comparado ao sistema não-integrado, a integração apresentou viabilidade econômica e ambiental, além da produção de alimento, ração e combustível.

No estudo voltado à "***Avaliação de impactos sociais***", destaca-se o cálculo do Índice de Desenvolvimento Humano Setorial (IDH_{setor}), que busca avaliar o impacto de setores econômicos ou atividades produtivas no desenvolvimento humano dos trabalhadores. Em 2018, foi realizada a customização das configurações metodológicas para o cálculo deste índice. Além disso, os resultados mostraram que cenários utilizando colheita mecanizada estão associados à melhores valores de IDH_{setor} comparativamente aos cenários com colheita manual. Os resultados também revelaram que o cenário com a produção de etanol 2G apresentou ligeira vantagem em relação ao cenário com a tecnologia 1G[36].

Para o estudo "***Comparison of Biofuel Life Cycle Assessment Tools***", o primeiro grande objetivo foi a comparação de cinco modelos de Avaliação do Ciclo de Vida (ACV) – BioGrace, GHGenius, GREET, JRC e BVC – para a produção de biodiesel, diesel renovável e bioquerosene de aviação a partir de três matérias-primas – soja, palma e óleo de cozinha usado. Este estudo é desenvolvido para o Task 39 (*Commercializing Liquid Biofuels*) da *International Energy Agency* (IEA) sendo uma colaboração com o Laboratório Nacional de Argonne (ANL/EUA), $(S\&T)^2$ Consultants Inc. (GHGenius/Canadá), Joint Research Center da European Comission (JRC/Itália) e Massachusetts Institute of Technology (MIT/EUA). Em 2018, para o caso do biodiesel de soja, os modelos foram harmonizados, padronizando-se os dados de entrada e obtendo resultados muito próximos para a intensidade de carbono do biocombustível, evidenciando a coerência metodológica dos diferentes modelos.

[35] Junqueira, T. L., Chagas, M. F., Watanabe, M. d. B., Souza, N. R. D., Jesus, C. D. F., Maciel Filho, R., Bonomi, A. (2018). Sustainable Production of Food and Bioenergy: Techno-economic and Environmental Assessment of Sugarcane Ethanol and Livestock Integration. Chemical Engineering Transactions, 65, 631-636.

[36] Souza, A., Watanabe, M.D.B., Cavalett, O., Ugaya, C.M.L., Cunha, M.P., Bonomi, A. Development of a social impact indicator to evaluate workers' status: the case of ethanol biorefineries in Brazil. In: Eco-Bio 2018 – team up to accelerate the global bioeconomy, 2018, Dublin (Congresso).

No âmbito do estudo "***Cost Reduction Potential for Advanced Biofuels***" destacam-se como resultados a identificação dos custos atuais de produção de biocombustíveis avançados – como etanol 2G, biometano a partir da biodigestão de vinhaça e bio-óleo através da pirólise rápida de materiais lignocelulósicos. Este estudo é desenvolvido para o *Executive Committee* da *International Energy Agency* (IEA). Em 2018, foram contatados diversos atores do setor de bioenergia brasileiro para coleta de dados a respeito de seus processos produtivos e entendimento de suas visões de futuro para identificação de possibilidades e escopo para redução dos custos de produção. Adotou-se como base de comparação destes custos aqueles de biocombustíveis convencionais e derivados de petróleo.

Para a **"*Projeção da oferta e demanda de biocombustíveis*"**, foi realizado em 2018 um estudo interno sobre a demanda potencial de etanol no país por veículos leves (ciclo Otto) até 2030. Dentre as principais premissas do estudo, foram considerados o fim da importação da gasolina pelo país até o final do período, os ganhos de eficiência em motores *flex* e a introdução gradativa de carros elétricos na frota brasileira. Os resultados revelaram que, a depender das taxas de crescimento do consumo energético da frota de veículos leves do país, a produção de etanol pode variar entre 51 a 72 bilhões de litros em 2030, considerando apenas o potencial do mercado interno**.**

Ainda no tema de metodologias de avaliação econômica, ambiental e social, o CTBE participa, juntamente com EMBRAPA, UNICAMP e Agroicone, do desenvolvimento da "***RenovaCalc***", uma ferramenta de cálculo do desempenho ambiental da produção de biocombustíveis no RenovaBio. Nesta ferramenta os aspectos agrícolas e industriais dos processos produtivos são detalhados com base na metodologia de Avaliação do Ciclo de Vida. Em 2018, a ferramenta foi entregue à ANP e passou por um processo de consulta pública. Após o processo de consulta púbica, as instituições envolvidas na construção da RenovaCalc trabalharam na implementação das alterações pertinentes para atender às sugestões acatadas, juntamente com ANP e MME. Também foram fornecidos os subsídios técnicos para elaboração, pela ANP, da minuta de resolução que irá regulamentar o processo de certificação das unidades produtoras de biocombustíveis no RenovaBio**.**

Por fim, o projeto "***Modelagem da Análise de Ciclo de Vida***" visa realizar aprofundamentos e atualizações de estudos ambientais da produção de etanol de 1ª e 2ª geração, considerando diferentes tecnologias e alternativas de integração de processos agrícolas, industriais e de uso. Destaca-se como um dos principais desenvolvimentos a realização de uma avaliação comparativa de diferentes alternativas de motorização para veículos leves, apresentado no "*23rd International Symposium on Alcohol Fuels*"[37], que ocorreu em Hangzhou, China. Nesse estudo, foram comparados os impactos ambientais, em termos da emissão de gases de efeito estufa no ciclo de vida da fabricação e operação de veículos leves, considerando diferentes alternativas de

[37] Chagas, M. F., Cavalett, O., Maciel Filho, R., Cortez, L. A. B., Bonomi, A. Evaluation of different technological alternatives for light vehicles operation in the Brazilian context. In: *23rd International Symposium on Alcohol Fuels*, 2018, Hangzhou, China.

motorização (veículos a combustão interna, híbridos, elétricos e a células a combustível) e diferentes fontes de energia (gasolina, diesel, etanol, biodiesel e eletricidade - mix da rede, biomassa, solar, eólica e térmica a gás natural). Os resultados revelaram que os veículos a combustão interna abastecidos com biocombustíveis podem ser tão eficientes, em termos ambientais, quanto os veículos elétricos movidos a energias limpas.

Avaliação de Ecossistemas

A avaliação de ecossistemas tem papel fundamental na consolidação da sustentabilidade do bioetanol frente aos seus substitutos fósseis. A avaliação dos efeitos da expansão da produção de cana-de-açúcar para fins energéticos e seus impactos no esgotamento de recursos naturais, na manutenção dos benefícios sociais e na viabilidade econômica da produção do biocombustível, permite evidenciar e garantir o desempenho do bioetanol como promotor da sustentabilidade na matriz energética brasileira. O CTBE aplica a avaliação ecossistêmica para monitorar, abordar e avaliar os impactos no esgotamento de recursos naturais, derivados de mudanças passadas ou futuras, na tecnologia de produção de etanol, manejo da cana ou expansão da área da cana (distúrbios do ecossistema) causados pelo aumento da produção de bioenergia. Destaca-se, como exemplo da aplicação da avaliação de ecossistemas, o monitoramento via processamento de imagens de satélite das mudanças de uso da terra, visando quantificar o desmatamento direto causado pela expansão da cultura da cana-de-açúcar. Além disso, o monitoramento do uso da terra e balanço hídrico em bacias hidrográficas, através de modelagem hidrológica, possibilita o entendimento dos efeitos quantitativos da expansão e cultivo da cana-de-açúcar na vazão de rios e disponibilidade de recursos hídricos.

Recursos Naturais e Meio Ambiente

Esta linha de pesquisa tem como objetivo o estudo dos impactos das mudanças nos ecossistemas derivadas da produção de biomassa e bioenergia e a quantificação dos custos (ambientais, sociais e econômicos) do retorno e manutenção do equilíbrio dos mesmos. O trabalho tem foco no monitoramento e avaliação georreferenciados da expansão e desmatamento da cana-de-açúcar, e na modelagem espacialmente explícita e simulação do balanço hídrico em bacias hidrográficas com expansão da cana-de-açúcar. Outros trabalhos incluem o processamento de imagens por satélite e práticas de irrigação da cana-de-açúcar e seus impactos na produtividade da cana-de-açúcar, disponibilidade de água, pegada hídrica e custos de produção.

No âmbito do projeto "***Expansão sustentável da produção de etanol***" foram realizados estudo para estimar quantas e onde devem ser alocadas geograficamente as novas unidades produtoras de bioenergia, derivadas do aumento da demanda esperada pela aprovação do RenovaBio. Para a estimativa, foram consideradas como ponto de partida as áreas adequadas do Zoneamento Agroecológico da Cana-de-Açúcar (ZAE). Além

disso, uma série de estudos buscou localizar as melhores regiões para a possível expansão, levando em consideração a mitigação de impactos e a minimização do esgotamento dos recursos naturais.

No âmbito do estudo "***Monitoramento das mudanças de uso da terra em áreas de expansão da cana-de-açúcar*"**, foi desenvolvida uma metodologia semi-automatizada de mapeamento de imagens de satélite, que monitora as áreas de produção de cana-de-açúcar, a fim de estimar a quantidade de palha presente no campo durante a safra. A metodologia foi criada a partir do algoritmo de classificação de imagens da *Random Forest* e foi calibrada com dados de usinas parceiras. Como resultado, em 2018 foi gerado o primeiro mapa de disponibilidade de palha, utilizando esta metodologia, que associada aos indicadores ambientais e agronômicos gerados no próprio estudo, permite uma visualização customizada da disponibilidade espacial da palha.

Ainda no âmbito da avaliação de ecossistemas o estudo "***Avaliação dos impactos da mudança de uso da terra e manejo na disponibilidade de água das bacias***" revelou um efeito regulador da cultura da cana-de-açúcar em relação à cultura anual e pastagem. Destaca-se como resultado o aumento de até 10% na disponibilidade real de água das bacias, em resposta a substituição de até 40% de áreas ocupadas com pasto e/ou culturas anuais por novas áreas de cana-de-açúcar. Para tanto, foram avaliadas duas bacias hidrográficas brasileiras, uma no sul de Goiás e outra na região de Piracicaba. Além disso, destaca-se a geração e divulgação mensal do "***Boletim de Monitoramento de Cana-de-Açúcar nos estados de São Paulo e Goiás***"[38], pelo CTBE. O Boletim, apoiado pela UNICAMP e pelo INPE, permite monitorar e dimensionar os ganhos e perdas das culturas através de índices de vegetação satélites e do balanço hídrico climatológico, fornecendo subsídios para a tomada de decisão regional.

3.4 Apoio à geração de inovação

Em 2018, o CTBE assinou três acordos de cooperação: i) acordo de cooperação com a startup TecBeer para a produção de coquetéis enzimáticos para indústria de bebidas e alimentos; ii) acordo com empresa do setor de energia para o desenvolvimento de rotas de produção de etanol de segunda geração; iii) acordo com a Usina Zilor para estudo de qualidade dos solos das unidades. Foram efetivados dois licenciamentos de duas patentes para a empresa Tecbeer, com aplicação na indústria de alimentos e bebidas. As duas patentes licenciadas, resultantes de trabalhos conjuntos do LNBio e do CTBE, envolvem o desenvolvimento de coquetéis enzimáticos que atuarão no melhoramento

[38] Boletim de Monitoramento de Cana-de-açúcar nos Estados de São Paulo e Goiás. Todas edições disponíveis em: http://ctbe.cnpem.br/eventos/boletim-monitoramento-cana.

do processo de produção de cerveja e de extrato de guaraná. Adicionalmente, foram depositados dois novos pedidos de patente, e um registro de software junto ao INPI[39].

3.4.1 Projetos desenvolvidos em parceria com empresas

SUCRE – Sugarcane Renewable Electricity - PNUD/Global Environment Facility (GEF)

União da Indústria de Cana-de-Açúcar (ÚNICA), UNICAMP, Grupo Zilor, Usina Santa Isabel, Usina Alta Mogiana, Pedra Agroindustrial, Usina Granelli, Cerradinho Bioenergia, Grupo São Martinho, Usina Ester, Agrícola BPZ, Usina da Barra (Raizen), Usina São Luiz de Ourinhos, Usina Santa Therezinha, Usina São José da Estiva, Usina Ferrari e Usina Caeté (Granbio)

O objetivo deste projeto é catalisar o estabelecimento de um mercado de energia elétrica, baseado na coleta e processamento da palha de cana-de-açúcar nas usinas, de forma a substituir fontes fósseis e aumentar a oferta e a participação de energia de baixa emissão de gases de efeito estufa (GEE) na matriz energética brasileira. Para tanto, foram estabelecidas ações que visam superar as barreiras tecnológicas, financeiras, legais e regulatórias do recolhimento e do processamento da palha nas usinas brasileiras. Além disso, serão avaliados os efeitos ambientais da remoção da palha nos canaviais, de forma a garantir a manutenção da qualidade do solo e da água, e também a produtividade da cana-de-açúcar. Os resultados serão avaliados de forma integrada, buscando as soluções econômica e ambientalmente mais viáveis para a produção de energia elétrica nas usinas.

Em 2018, o projeto focou no desenvolvimento de possíveis ***"soluções técnicas para os problemas das impurezas minerais e granulometria da palha"***. Foram testados três sistemas de coleta, todos resultaram em palha com alto teor de impurezas minerais, indicando que a solução pode estar no processamento da palha da cana antes da queima em caldeiras. Assim, as atividades de campo e de laboratório focaram em testes de um sistema alternativo. Este sistema consiste em lavar a palha de cana-de-açúcar e triturá-la junto com o bagaço no último terno da moenda. Resultados preliminares mostraram que, além da remoção de impurezas minerais (de 20% a 50%, em média) e outros contaminantes críticos (Cl, S, K), o sistema fornece palha de cana com distribuição de tamanho de partículas e umidade muito semelhantes ao bagaço, o que beneficia o desempenho da caldeira. Outro desafio técnico significativo foi o desempenho dos sistemas de limpeza a seco, que apresentaram uma eficiência muito abaixo do esperado e relatado na literatura. Neste caso, o projeto está ajustando e testando um equipamento que trabalha acoplado à colhedora e tritura a palha durante o processo de colheita. Entre os possíveis benefícios, se destaca uma possível melhora no desempenho destes sistemas de limpeza a seco e um ganho na densidade de carga do transporte de colmos + palha, uma vez que um menor tamanho de partícula permite melhor

[39] Patente: BR 10 2018 003572 0. Composição para hidrólise enzimática com atividade arabinofuranosidase e método de hidrólise de biomassa vegetal.

Patente: BR 10 2018 003593 2. Composição para hidrólise enzimática com atividade exomananase, método de hidrólise e uso.

Software: BR 51 2018 051738 2. D-DiSim.

acomodação da palha de cana entre os toletes no transbordo e caminhão. No âmbito de soluções técnicas para os problemas das impurezas minerais e granulometria da palha, destaca-se como um dos principais resultados a implementação de mudanças nas configurações operacionais e de equipamentos, com base nas recomendações da equipe do Sucre, por algumas das usinas parceiras. Também se destaca como resultado o "***modelo de avaliação de viabilidade econômica*",** que está sendo aprimorado com foco nos parâmetros operacionais da usina Quatá. Este modelo pode avaliar a viabilidade econômica não apenas para os cenários base, mas também para a expansão da coleta e processamento da palha da cana-de-açúcar visando a produção de eletricidade em qualquer usina de cana-de-açúcar.

Ainda no âmbito do projeto SUCRE, foram obtidos resultados importantes na temática de "***efeito da palha deixada no solo na produtividade da cana-de-açúcar e nas emissões de gases de efeito estufa***". Foram realizados mais de trinta testes de campo espalhados pelas áreas de cana-de-açúcar no Brasil que, amparados pela literatura, permitiram observar e descrever o efeito da palha deixada no solo na produtividade da cana-de-açúcar, assim como nas emissões de gases de efeito estufa do solo. Em 2018, a equipe Sucre preparou um Zoneamento de Remoção de Palha de Cana (Figura 128), com o objetivo de indicar áreas mais adequadas para remoção de palha de cana no Brasil. O Zoneamento se baseia nas condições climáticas, resultados de produtividade e outras práticas de conservação (como mitigação de erosão do solo e emissões de gases de efeito estufa) e permitirá a elaboração de um mapa com classificação por aptidão para remoção de palha, complementado por um algoritmo/recomendações específicas para cada uma das áreas classificadas, baseado em parâmetros locais como textura do solo, declividade do solo, época de colheita e outros. Em geral, os resultados do mapeamento apontam para uma remoção adequada da palha em áreas frias (com temperatura mínima abaixo de 10˚C). Por outro lado, em áreas com radiação intensa e altas temperaturas, quantidades de cerca de 7 a 8 toneladas de palha por hectare (massa seca) deixadas no solo beneficiam a produtividade da cana (círculos maiores no mapa da Figura 128), principalmente pela manutenção da umidade e diminuição da amplitude térmica do solo.

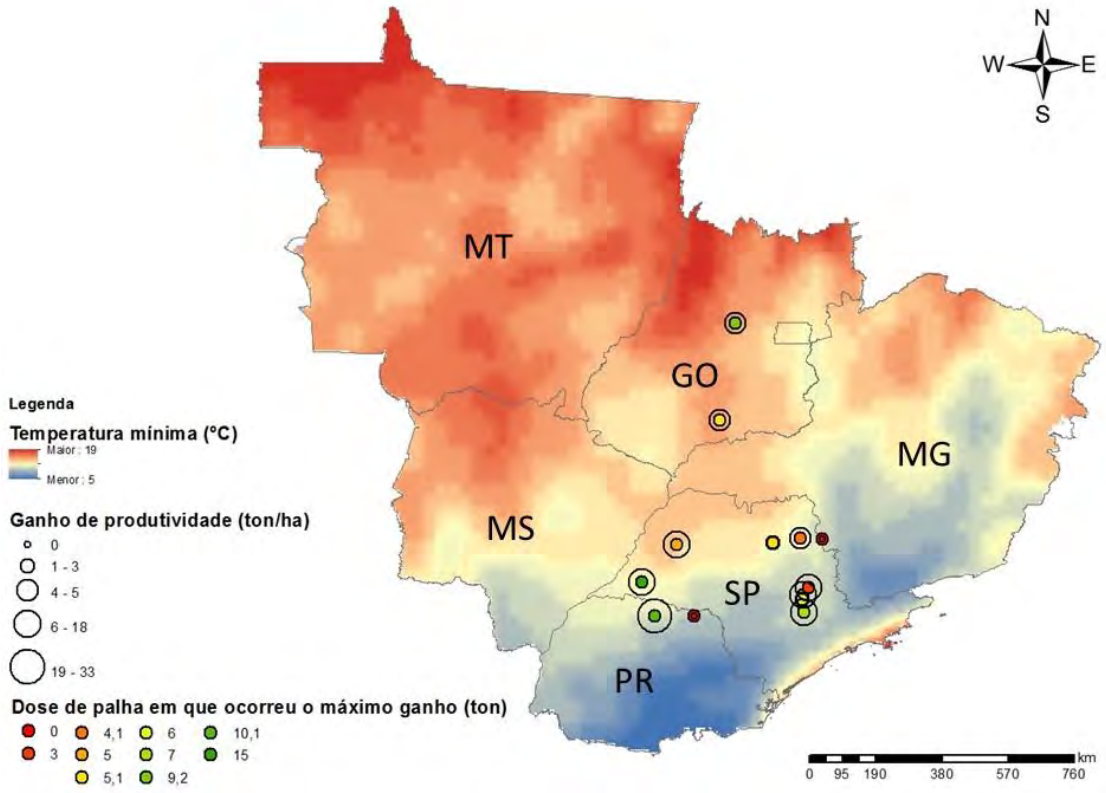


Figura 128. Zoneamento de Remoção de Palha de Cana para os seis estados maiores produtores de cana-de-açúcar. Ganhos máximos de produtividade e doses de palha associadas plotados sobre a temperatura mínima

O CTBE deu continuidade a avaliação completa das usinas do primeiro estágio (Quatá, Alta Mogiana, Pedra, Barra/Raízen) cuja conclusão está prevista para 2019. Os resultados obtidos servirão de base para a elaboração de ***diretrizes para coleta, processamento e queima de palha de cana para fins de produção de eletricidade***. Ademais, prevê-se implementação de uma estrutura de avaliação das melhores práticas gerais, emergente de resultados anteriores, que será aplicada na avaliação das usinas do segundo estágio – oito usinas integram o segundo estágio: Santa Isabel, São Luiz de Ourinhos, Santa Therezinha, São José da Estiva, Boa Vista, Granbio / Caeté (CESM), Cerradinho e Ferrari. Com relação à ***coleta, processamento e queima da palha da cana para a produção de eletricidade***, as usinas parceiras investiram mais de 160 milhões de dólares em novos equipamentos desde 2015. De fato, houve um interesse crescente na eletricidade de biomassa proveniente de importantes agentes sucroenergéticos, como o Grupo Raízen, apontando para um cenário otimista de coleta e queima de palha para a produção de eletricidade. Destaca-se como outro resultado importante em 2018, a ***avaliação dos impactos sociais relacionados à introdução da coleta***, processamento e queima da palha de cana nas usinas. O objetivo desta avaliação é comparar indicadores sociais selecionados (por exemplo, empregos criados, renda associada e igualdade de gênero) derivados de diferentes sistemas de coleta de palha, com indicadores sociais de outras fontes de produção de eletricidade (como gás natural, eólica e solar). A avaliação social, juntamente com os aspectos ambientais e econômicos (viabilidade econômica,

emissões de GEE, desmatamento, uso de recursos hídricos e outros), permitirá uma avaliação integrada dos aspectos de sustentabilidade associados à eletricidade baseada em palha.

Desenvolvimento de plataforma tecnológica multifuncional visando a obtenção de energia e nutrientes de biomassa para etanol e nutrição de animais

O projeto é desenvolvido em parceria com uma empresa do setor de nutrição animal e visa otimizar a disponibilidade de energia e nutrientes extraídos de biomassa fibrosa para aplicação na produção de bioetanol e na nutrição de ruminantes. Em 2018, foram identificadas enzimas com grande potencial de aumentar a biomassa fibrosa. Estas enzimas foram modificadas visando gerar aumentos ainda mais significativos na hidrólise de biomassa lignocelulósica, quando comparados a coquetéis não suplementados. As enzimas estão sendo produzidas e avaliadas em maior escala a fim de validar os resultados obtidos em escala laboratorial.

Novas tecnologias para processo fermentativo de etanol

O projeto em parceria com a empresa Mahle Metal Leve busca analisar os efeitos da tecnologia de fermentação alcoólica especificada pela empresa, com foco no aumento do rendimento fermentativo. O objetivo é comprovar a funcionalidade desse processo em escala piloto, por meio de ensaios de fermentação alcoólica em diferentes condições. Em 2018, foram realizados experimentos em escala de laboratório a fim de avaliar os substratos de fermentação e inferir os parâmetros de escalonamento e condições operacionais da referida tecnologia.

Etanol 2G - Desenvolvimento das etapas críticas do processo de produção de etanol de segunda geração

O projeto é desenvolvido em parceria com empresa do setor de energia e visa o desenvolvimento das etapas críticas do processo de produção de etanol de segunda geração, empregando estudos em escala laboratorial e planta piloto. Em 2018, foram realizados o pré-tratamento, hidrólise enzimática e fermentação alcoólica escala laboratorial. Além disso, a biomassa foi recebida, condicionada e pré-tratada em planta piloto.

Enzimas para tratamento de biomassa vegetal em aplicações do setor alimentício

O objetivo do projeto, realizado com a empresa Tecbeer desenvolvimento tecnológico, é a otimização e aumento da escala de produção de enzimas mediante a utilização de micro-organismos seguros para o consumo humano (GRAS) em meios de cultura de baixo custo. Foi realizada, em 2018, a seleção e otimização dos meios de cultura para a produção das enzimas, utilizando sistema de expressão eucariótico industrial. Nos meios de cultura desenvolvidos, foram utilizados subprodutos agroindustriais que

possibilitaram a redução dos custos de obtenção das enzimas. Também foram realizados estudos de ampliação da escala de produção das enzimas em reatores de 3 litros e 20 litros.

Avaliação integrada da qualidade do solo

O projeto desenvolvido em colaboração com o Grupo Zilor pretende avaliar os indicadores químicos, físicos e biológicos de qualidade do solo em áreas de cana-de-açúcar com produtividades reais discrepantes do potencial produtivo baseado nos ambientes de produção.

Em 2018, o projeto iniciou suas atividades e foram realizadas análise de bancos de dados e imagens de satélites para seleção inicial das áreas a serem avaliadas. Também foram efetuadas as primeiras coletas de solo nas áreas experimentais (Figura 129). Além disso, a equipe CTBE/CNPEM realizou atividades de capacitação para os produtores rurais parceiros das Usinas do Grupo Zilor e de técnicos do laboratório de análises da empresa.

Figura 129. Medição da profundidade do solo (esq); aferição da umidade do solo em cada camada de solo (centro) e; coleta de amostras indeformadas para avaliações no laboratório (dir)

Efeito do plantio direto e do manejo da palha da cana-de-açúcar nos atributos do solo e no desenvolvimento do canavial

Este projeto é realizado em colaboração com as empresas São Martinho, Zilor e Cerradinho Bioenergia e está focado na obtenção de indicadores agronômicos e ambientais na adoção de práticas conservacionistas de manejo da cultura da cana-de-açúcar. Destacam-se como exemplos destas práticas: plantio direto na palha, implantação de rotação de cultivos com leguminosas na reforma do canavial, adoção de estratégias de controle e redução do tráfego, e manejo da palha do canavial.

Finalizado em 2018, o projeto avaliou as seguintes práticas: o efeito do plantio direto da cana-de-açúcar com a eliminação do preparo do solo, a adoção da rotação de culturas com leguminosas, a redução de tráfego de máquinas e a remoção de palha de cana-de-açúcar. Os resultados revelaram que o preparo convencional do solo tem um elevado custo, reduz os estoques de carbono do solo e não apresenta benefícios duradouros ao longo do ciclo da cultura. Por sua vez, a rotação de culturas com leguminosa teve efeito positivo ao longo do ciclo de cultivo da cana-de-açúcar, aumentando o potencial produtivo da área em 12 Mg ha^{-1} de cana-de-açúcar. A criação de linhas fixas de tráfego e eliminação do pisoteio da soqueira de cana-de-açúcar resultou em melhorias da qualidade física e biológica do solo e não afetou a produtividade da cana-de-açúcar. De modo geral, observou-se que a manutenção da palha no campo melhorou a qualidade do solo e aumentou significativamente a produtividade da cultura. Os resultados do projeto indicam que a adoção de um sistema composto por boas práticas de manejo (tais como, menor revolvimento do solo, rotação de culturas com leguminosas, redução do pisoteio de soqueiras e manutenção da palha no campo) melhora as condições químicas, físicas e biológicas do solo e aumenta a sustentabilidade da produção de cana-de-açúcar.

3.4.2 Serviços tecnológicos especializados

Prover informações sobre a produção de cana-de-açúcar e seus derivados, como açúcar, etanol e eletricidade, para Inventário de Ciclo de Vida (ICV)

A Biorrefinaira Virtual de Cana-de-açúcar (BVC) foi responsável pelo serviço prestado a empresa EcoInvet no âmbito do Programa de Indústrias de Reciclagem Sustentável, (*Sustainable Recycling Industries* – SRI), financiado pelo governo suíço. O objetivo do trabalho era desenvolver a Avaliação do Ciclo de Vida (ACV) e o fornecimento de dados de inventários das grandes indústrias e dos principais setores da economia para a América Latina, Índia e África do Sul.

3.5 Treinamento, Educação e Extensão

A atuação do CTBE em treinamento, educação e extensão envolve, principalmente, realização de eventos científicos e de capacitação direcionados ao treinamento e a divulgação científica. Além disso, há a participação do CTBE em eventos externos, onde se realizam divulgação cientifica e importantes interações com o meio cientifico e industrial. Por fim, há a atuação na orientação e co-orientação de bolsistas e estagiários internos, assim como a participação em bancas em universidades. A seguir os principais destaques deste ano em treinamento, educação e extensão.

3.5.1 Ações de Capacitação

Em 2018, o CTBE promoveu em suas instalações dois eventos de capacitação, totalizando em cinco edições. A seguir maiores detalhes.

Curso de Caracterização Química de Bagaço e Palha de Cana-de-Açúcar

Em 2018, o CTBE promoveu três edições do ***Curso de Caracterização Química de Bagaço e Palha de Cana-de-açúcar***[40], nos meses de janeiro, agosto e novembro. Neste curso de três dias de duração foram apresentados conceitos envolvendo a metodologia analítica, bem como os cálculos utilizados para balanço de massa no processo. O curso teve como público alvo alunos de graduação, pós-graduação e profissionais cujos estudos se relacionem com o processamento de biomassas. Ao todo, o curso capacitou 17 participantes (Figura 130) oriundos de diversos estados brasileiros (São Paulo, Bahia, Minas Gerais, Santa Catarina e Rio Grande do Norte), além de estrangeiros vindos da Argentina.

Figura 130. Equipe e participantes das três edições do Curso de Caracterização Química de Bagaço e Palha de Cana-de-Açúcar

Curso para Operação de Biorreatores de Bancada

Foram promovidas duas edições do ***Curso para Operação de Biorreatores de Bancada***[41], nos meses de junho e outubro de 2018. O curso teve duração de três dias e apresentou alguns conceitos envolvendo tipos e classificação dos biorreatores, com ênfase em biorreatores agitados mecanicamente (*Stirred Tank Reactor* - STR). O curso também contou com parte prática envolvendo calibração, configuração, montagem, monitoramento e operação do Biorreator de bancada. Participaram ao todo 16 pessoas (Figura 131) dos estados brasileiros de São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco, Paraná, Rio Grande do Sul, além do Distrito Federal.

[40] Site: http://pages.cnpem.br/cursodecaracterizacao.
[41] Site: http://pages.cnpem.br/biorreatores.

Figura 131. Equipe e participantes das duas edições do *Curso para Operação de Biorreatores de Bancada*

3.5.2 Eventos Científicos

Em 2018, o CTBE promoveu em suas instalações quatro eventos científicos, que reuniram cerca de 270 participantes (internos e externos ao CNPEM). A seguir maiores detalhes.

Workshop Valorization of Renewable Resources – Recent Advances and Prospects: A Brazilian-German Technology Alliance

O Workshop ***Valorization of Renewable Resources – Recent Advances and Prospects: A Brazilian-German Technology Alliance***[42] (Workshop Estratégico CTBE: TUM/Fraunhofer), que aconteceu dia 9 de março no Auditório do CTBE promoveu interações entre membros da academia, centros de pesquisa e indústrias da Alemanha e do Brasil. A proposta deste evento, que contou com 56 participantes externos (Figura 132), foi ventilar ideias para levar a futuros projetos colaborativos de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) entre os dois países, na área de recursos renováveis. O Workshop teve enfoque em três áreas que abrangem diferentes plataformas tecnológicas com vias à valorização da biomassa: (i) Processos biocatalíticos; (ii) Quimioterapia e química verde e; (iii) Eletrocatálise: energia como recurso renovável. Participaram do evento colaboradores do CTBE e representantes da Unesp, TUM, Fraunhofer, Unicamp, Fibria, Nitro Química, DFG, DAAD e Fapesp.

[42] Site: https://pages.cnpem.br/wectbe/renewable-resources-program.

Figura 132. Participantes do *Workshop Valorization of Renewable Resources – Recent Advances and Prospects: A Brazilian-German Technology Alliance*

Workshop de Co-produtos - Full use of sugarcane, residues and wastes – maximizing efficiency and profits

O Workshop de ***Co-produtos – Full use of sugarcane, residues and wastes – maximizing efficiency and profits***[43], organizado pelo CTBE em parceria com a *International Society of Sugar Cane Technologists* (ISSCT), foi realizado em agosto de 2018. O Workshop teve como objetivo promover discussões sobre as principais alternativas de coprodutos de cana-de-açúcar. Os 25 participantes inscritos, majoritariamente de outros países (Austrália, Tailândia, Mauricius, Ilha de Reunião, Argentina e Guatemala, além do Brasil), se reuniram para discutir sobre como melhorar e/ou aperfeiçoar processos, além de exporem casos de sucesso já aplicados em seus respectivos países. O evento contou com visitas às plantas industriais da Raízen (Piracicaba) e da Usina Ferrari (Pirassununga). A programação foi dividida em quatro dias, sendo dois dedicados as discussões e dois de visitas. Durante o evento palestraram colaboradores do CTBE e os inscritos no workshop.

Workshop de Remoção de Palha e suas Implicações

O ***Workshop de Remoção de Palha e suas Implicações***[44] é um dos workshops de divulgação dos resultados do Projeto SUCRE (*Sugarcane Renewable Electricity*). O objetivo desse evento, realizado em 17 de outubro de 2018, foi apresentar informações validadas pela equipe do SUCRE sobre os impactos da palha nas condições do solo e no desenvolvimento da cana-de-açúcar na região centro sul do Brasil. Foram apresentadas informações indicando as limitações, os impactos e os locais onde a remoção da palha deve ser priorizada visando aumentar a sustentabilidade da produção de bioenergia sem comprometer o ambiente produtivo e o fornecimento de serviços ecossistêmicos. Participaram do evento 64 externos.

[43] Site: https://pages.cnpem.br/issct.
[44] Site: http://pages.cnpem.br/sucre/workshop-remocao.

Workshop de Resultados do Projeto SUCRE

Em sua 3ª edição, o *Workshop de Resultados do Projeto SUCRE*[45], realizado em 29 de novembro de 2018, teve como objetivo apresentar os principais resultados do Projeto. No Workshop foram discutidas a remoção, o recolhimento, o processamento da palha e a sua viabilidade econômica e ambiental. Além disso, o evento também tratou dos gargalos e sugestões de melhorias para a comercialização de bioeletricidade. O evento reuniu ao todo cerca de 62 participantes externos. Além de palestrantes internos, da equipe do SUCRE, representantes de usinas parceiras do Projeto foram convidados a contarem suas experiências com o recolhimento de palha.

3.5.3 Orientação e Supervisão

O CTBE apresenta contínuo esforço na formação de pesquisadores e jovens cientistas. Durante o ano de 2018, contou com 99 bolsistas, sendo 20 de pós-doutorado, 46 de doutorado, 13 de mestrado, 16 de iniciação científica e outros 9 jovens associados a outras modalidades de bolsas. Foram também supervisionados 12 estagiários de nível superior. Cerca 63% dos bolsistas do CTBE são de doutorado e pós-doutorado, refletindo a prioridade atual do Laboratório na orientação e supervisão de alunos com maior experiência científica. O apoio à formação de alunos de pós-graduação ocorre por meio do credenciamento de pesquisadores do CTBE como orientadores em Programas de Pós-graduação regulares de instituições de ensino e pesquisa. Excepcionalmente, pesquisadores do CTBE puderam atuar como co-orientadores. Os colaboradores também participaram de 47 bancas de avaliação de trabalhos acadêmicos, incluindo qualificações e defesas de mestrado e doutorado. A seguir, alguns destaques dessas ações em 2018:

1. Conclusão do projeto de pesquisa de pós-doutorado “Brotação e crescimento inicial de *Saccharum spp*. modulados por reguladores de crescimento e estresses abióticos” da doutora Camila Cunha Pinto.

2. Conclusão do projeto de pesquisa de pós-doutorado, “Estudo de mecanismos moleculares de hidrolases glicosídicas” da doutora Mariane Noronha Dominguez.

3. Conclusão do projeto de pesquisa de pós-doutorado “Produção de hidrocarbonetos renováveis via rota enzimática: da obtenção da enzima à avaliação econômica do processo integrado” da doutora Leticia Leandro Rade.

4. Conclusão de estágio de pesquisa no exterior do Pós-doutorado “Detectando a microbiota do solo associada com os fluxos de N_2Oem cultivo de cana-de-açúcar” do doutor Clovis Daniel Borgesno Massachusetts Institute of Technology (MIT) financiado pela FAPESP (período de julho de 2017 a junho de 2018).

5. Conclusão de estágio de pesquisa no exterior do Pós-doutorado “Biocharfertiliser in sugarcane - understanding residual effects” do doutor Bernardo Melo Montes Nogueira Borgesna University of Edinburgh, School of GeoSciences (Reino Unido), financiado pela FAPESP (período de agosto de 2017 a julho de 2018).

[45] Site: http://pages.cnpem.br/sucre/iii-workshop-resultados.

6. Defesa de tese de doutorado “Establishing Sugarcane-Microalgae Biorefineries” na Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP, do aluno Bruno Colling Klein.

7. Defesa de tese de doutorado “Variabilidade nanoestrutural de celuloses vegetais e seu impacto na produção de nanocristais de celulose” na Escola de Engenharia de São Carlos, USP, do aluno Marcelo Miranda de Oliveira.

8. Defesa de tese de doutorado “Spatial and temporal variability of soil attributes and their relationship with crop yield, topographic parameters and apparent electrical conductivity (ECa) in sugarcane fields” na Faculdade de Engenharia Agricola, UNICAMP, do aluno Guilherme Martineli Sanches.

9. Defesa de tese de doutorado “Estudos do efeito da fosforilação na conformação e seletividade da miosina Va humana” no Instituto de Biologia, UNICAMP do aluno Luciano Dolce.

10. Conclusão de estágio de pesquisa no exterior do doutorado “Modelling to predict sugarcane productivity in different planting spacing” do aluno João Rossi Neto na University of Florida (EUA), financiado pela Capes (período de janeiro de 2018 a junho de 2018).

11. Defesa da dissertação de mestrado “Emissões de N_2O em cana-de-açúcar adubada com nitrogênio contendo inibidor de nitrificação sobre diferentes quantidades de palha” no Instituto Agronômico de Campinas, IAC, do aluno Leandro Carolino Gonzaga.

12. Defesa da dissertação de mestrado “O efeito de inibidores do hidrolisado hemicelulósico e seu impacto no desempenho da fermentação etanólica de *Scheffersomyces stipitis* NRRL Y-7124 e *Spathaspora passalidarum* NRRL Y-27907” na Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP, da aluna Lauren Bergmann Soares.

13. Defesa da dissertação de mestrado “Avaliação da produção de bioetanol sob diferentes condições de transferência de oxigênio para a levedura *Spathaspora passalidarum* NRRL Y-27907” na Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP, da aluna Carolina Bonan.

14. Defesa da dissertação de mestrado “Genômica comparativa de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* produtoras de etanol” no Instituto de Biologia, UNICAMP, da aluna Mirta Natália Coutouné.

15. Conclusão do projeto de iniciação científica “Estudos estruturais de proteínas de uma nova família de hidrolases glicosídicas”, com bolsa CNPq, da aluna Beatriz Paiva de Souza.

16. Conclusão do projeto de iniciação científica “Levantamento de dados para uso do modelo DayCent na avaliação da dinâmica do carbono do solo associada à remoção da palha de cana-de-açúcar para produção de bioenergia”, com bolsa CNPq, do aluno Guilherme Nobre de Araujo.

17. Conclusão do projeto de iniciação científica “Screening de bactérias promotoras de crescimento vegetal através da produção de compostos orgânicos voláteis e solubilização de fosfato”, com bolsa CNPq, da aluna Ana Carolina Teixeira.

18. Conclusão do projeto de iniciação científica “Avaliação técnico-econômica da destoxificação de hidrolisado hemicelulósico no processo integrado de 1ª e 2ª geração”, com bolsa CNPq, do aluno Rafael Boni.

19. Conclusão do projeto de pesquisa de iniciação científica “Tratamentos Estatísticos de Dados Socioeconômicos Aplicados à Biorrefinarias”, com bolsa CNPq, do aluno Vitor Massami Barroso Hirashima.

20. Conclusão do projeto de pesquisa de iniciação científica “Expressão heteróloga de putativos transportadores de xilose de Candida soja e em *Saccharomyces cerevisiae* visando a produção de etanol 2G “, do aluno João Gabriel Ribeiro Bueno.

21. Conclusão do projeto de pesquisa de iniciação científica “Utilização de uma nova lipase recombinante para a hidrólise e transesterificação de óleos vegetais visando a produção de biohidrocarbonetos e biocombustíveis”, com bolsa CNPq, do aluno Melque Natã Pereira da Silva.

22. Conclusão do projeto de iniciação científica “Caracterização de biofertilizante organomineral a base de palha de cana-de-açúcar pirolisada”, com bolsa CNPq, da aluna Priscilla Camelo Alves.

23. Conclusão de estágio de Bruna Cristina Gama Campagnuci no âmbito do Programa Unificado de Estágios (PUE/CNPEM),"Identificação de áreas potenciais para remoção da palha de cana-de-açúcar".

24. Conclusão de estágio de Júlia Gandolphicom o tema “Cultivo de *Xanthomonas citri* para estudos de expressão gênica”.

25. Conclusão de estágio de Felipe de Oliveira no âmbito do Programa Unificado de Estágios (PUE/CNPEM), “Levantamento de Custos de Equipamentos na indústria para rotas de recolhimento de palha integral e enfardada”.

26. Conclusão de estágio de Karina Maria Berbert Bruno no âmbito do Programa Unificado de Estágios (PUE/CNPEM), “Zoneamento agroclimático de remoção da palha: espacialização dos parâmetros climáticos”.

27. Conclusão de estágio de Kathiana Aznarán Luk no âmbito do Programa Bolsa de Verão (CNPEM), “Estudo de bactérias promotoras de crescimento e saúde vegetal”.

28. Conclusão de estágio de Luana Oliveira de Moraes no âmbito do Programa Unificado de Estágios (PUE/CNPEM), “Avaliada da macrofauna do solo associada a remoção de palha de cana-de-açúcar”.

29. Conclusão de estágio de Mirella Romanelli Vicente Bertolo no âmbito do Programa Unificado de Estágios (PUE/CNPEM),"Avaliação de potencial de ligninas de bagaço de cana-de-açúcar para a produção de emulsões".

30. Conclusão de estágio de Natália Milan no âmbito do Programa Unificado de Estágios (PUE/CNPEM), “Expressão, purificação e caracterização de enzimas pertencentes à cadeia produtiva de biocombustíveis”.

31. Conclusão de estágio de Pilar Dib no âmbito do Programa Unificado de Estágios (PUE/CNPEM),“Desenvolvimento de um modelo para o balanço de massa e energia do processo de produção de etanol de primeira geração”.

32. Prêmio de melhor pôster para o pós-doutorando Bernardo Melo Montes Nogueira Borges no Elsevier ECO-BIO2018 - *Team up to accelerate the global bioeconomy*, Dublin, Irlanda.

33. Prêmio de melhor pôster na categoria Biologia Molecular e Análise Estrutural de Enzimas com o trabalho "*Beta-mannosidase from human gut microbiome displays a novel molecular architecture*" no XIII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática (ENZITEC, 2018), Florianópolis, para a aluna Rosa Lorizolla Cordeiro.

34. Menção Honrosa ao pesquisador Leandro Vieira dos Santos no prêmio Capes de tese de 2018 pelo trabalho “From science to industry - metabolic engineering and adaptive evolution of Saccharomyces cerevisiae for second-generation ethanol production".

3.5.4 Seminários e Palestras

Em 2018, colaboradores e bolsistas do CTBE realizaram 51 apresentações orais em reuniões e eventos científicos nacionais e internacionais. Também foram apresentados 30 pôsteres. A seguir, detalhamento das apresentações orais.

1. *Straw management options in a changing industry, Workshop on Soil Sustainability in a Bio-Based Society*, Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Campinas, Brasil, fevereiro de 2018.

2. *Deconstructing the multiscale architecture of sugarcane biomass*, Workshop Estratégico CTBE: *Valorization of Renewable Resources*, CNPEM, Campinas, Brasil, março de 2018.

3. *Unraveling the genetic basis of xylose consumption in engineered Saccharomyces cerevisiae strains*, Workshop Estratégico CTBE: *Valorization of Renewable Resources*, CNPEM, Campinas, Brasil, março de 2018.

4. *Can alternative N-fertilization method influence GHG emission and biomass production in sugarcane fields?* ECO-BIO 2018 – Team up to accelerate the global bioeconomy, BEBASIC, Dublin, Irlanda, março de 2018.

5. *RenovaCalc: como vai funcionar a certificação do RenovaBio*, Abertura de safra cana, açúcar e etanol 2018/19, Datagro e Banco Santander, Ribeirão Preto, Brasil, março de 2018.

6. *Compactación en la cosecha de caña de azucar*, Seminário anual dos Ingenios de produção de azucar, Cengicaña, Santa Lucia Cotzumalguapa, Guatemala, março de 2018.

7. *Cosecha en la caña de azucar*, Seminário anual dos Ingenios de produção de azucar, Cengicaña, Santa Lucia Cotzumalguapa, Guatemala, março de 2018.

8. *Siembra en la caña de azucar*, Seminário Anual dos produtores de azucar, Cengicaña, Santa Lucia Cotzumalguapa, Guatemala, março de 2018.

9. *The mechanism by which a novel GH51 arabinofuranosidase can cope with di-substitutions in arabinoxylans*, Symposium on biotechnology for fuels and chemicals, Society for Industrial Microbiology and Biotechnology, Clearwater Beach, Florida, Estados Unidos, abril de 2018.

10. *Integrated Sugarcane-Microalgae Biorefineries: CO_2 Uptake and Product Portfolio Diversification in the Brazilian Sugar-Energy Sector*, 40th Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals, Clearwater Beach, Florida, Estados Unidos, abril de 2018.

11. *Design and development of biological platforms for biofuels and biochemicals production from renewable energy sources*, Encontro Grantees Serrapilheira, Instituto Serrapilheira, Rio de Janeiro, Brasil, abril de 2018.

12. RenovaBio - Brazilian National Biofuel Policy, Task-39 Meeting, International Energy Agency (IEA) - Bioenergy Technology Collaboration Program (IEA Bioenergy), Beijing, China, abril de 2018.

13. *Coleta e uso de dados genéricos: o uso da Análise de Insumo-Produto para gerar inventário na ACV-S*, IV Workshop de ACV-S: interagindo com as ciências sociais aplicadas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Curitiba, Brasil, abril de 2018.

14. *Multiscale Biomass Architecture in Sugarcane Biorefineries*, HYBER Symposium, Alto University, Espoo, Finlândia, maio de 2018.

15. *Novas Tecnologias para a produção de Cana-de-açúcar*, SECAF - Semana de Ciências Agrárias da FAEF, Garça/SP, Brasil, maio de 2018.

16. *Mini-curso "Análise econômica em biorrefinarias",* Lorena, Brasil, maio de 2018.

17. *Virtual Sugarcane Biorefinery: a framework for sustainability assessment of the production chains*, Visita ao Consortium "Lignocellulosic Biofuels for the Autotransport Sector", Instituto de Ingeniería, Universidad Autónoma de México, Querétaro, México, maio de 2018.

18. *Conceitos, Objetivos e Ferramentas do RenovaBio - Explorando a RenovaCalc, Bioquerosene e RenovaBio*, CNPq, Brasília, Brasil, maio de 2018.

19. *An odyssey to industry: molecular basis of xylose fermentation and acetic acid tolerance in engineered Saccharomyces cerevisiae*, Metabolic engineering 12, Society for biological engineering, Munique, Alemanha, junho de 2018.

20. *Sustainable Production of Food and Bioenergy: Techno-economic and Environmental Assessment of Sugarcane Ethanol and Livestock Integration*, iconBM 2018 – International Conference on Biomass, AIDIC, Bolonha, Itália, junho de 2018.

21. *Biojet fuel production in integrated sugarcane biorefineries,* Making Sustainable Alternative Fuels Viable in Brazil, São Paulo, Brasil, junho de 2018.

22. *Sugarcane Trash Processing Alternatives*, ISSCT (International Society of Sugarcane Technologists) Co-Products Workshop 2018, CNPEM, Campinas, Brasil, agosto de 2018.

23. *Burning bagasse and trash in boiler*, ISSCT (International Society of Sugarcane Technologists) Co-Products Workshop 2018, CNPEM, Campinas, Brasil, agosto de 2018.

24. *Regional impacts of different sugarcane production systems in Brazil: a multicriteria decision analysis approach*, ISSCT (International Society of Sugarcane Technologists) Co-Products Workshop 2018, CNPEM, Campinas, Brasil, agosto de 2018.

25. *Techno-economic assessment of retrofit projects applied to cogeneration system in Brazil: the use of sugarcane trash to increase electricity production*, ISSCT (International Society of Sugarcane Technologists) Co-Products Workshop 2018, CNPEM, Campinas, Brasil, agosto de 2018.

26. *RenovaBio, o que esperar para o setor sucroenergético*, Megacana Tech Show 2018, Canacampo e SIAMIG, Campo Florido, Brasil, agosto de 2018.

27. *Implication of straw removal for bioenergy production on soil N_2O emissions in sugarcane fields in Brazil*, 21st World Congress of Soil Science, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Rio de Janeiro, Brasil, agosto de 2018.

28. *Tópicos de Pesquisa visando aprimorar o RenovaBio*, BIOEN-FAPESP RenovaBio: ciência para a sustentabilidade e competitividade da bioenergia, FAPESP, São Paulo, Brasil, agosto de 2018.

29. *Tillage management effects on soil physical properties in sugarcane fields*, 21st World Congress of soil science, IUSC (International Union of Soil Science), Rio de Janeiro, Brasil, agosto de 2018.

30. *Bioinformática Aplicada à Biotecnologia*, XVI Semana da Informática Biomédica, USP, Ribeirão Preto, Brasil, setembro de 2018.

31. *Biorrefinaria virtual: impactos na sustentabilidade da produção de etanol de 2ª geração*, Encontro Técnico da ABRISCO com as Indústrias de Bioenergia e Petroquímica, São Paulo, Brasil, setembro de 2018.

32. *Efecto de la velocidad del extractor primario de la cosechadora en la calidad de la cosecha de caña de azúcar*, XI Congreso ATALAC Tecnicaña Agroindustria Inteligente para la Competividad y Sostenibilidad, Atalac e Tecnicaña, Cali, Colômbia, setembro de 2018.

33. *Structural and functional characterization a novel β-xylosidase from Xanthomonas axonopodis citri*, XIII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática (ENZITEC), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil, setembro de 2018.

34. *New enzymatic strategies to overcome biomass recalcitrance*, XIII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática (ENZITEC), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil, setembro de 2018.

35. β-*mannosidase From Human Gut Microbiome Displays a Novel Molecular Architecture*, XIII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática (ENZITEC), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil, setembro de 2018.

36. *Mapas de remoção de palha*, Workshop de Remoção de Palha: implicações na qualidade do solo, nas emissões de GEE e na produção de cana-de-açúcar, CNPEM, Campinas, Brasil, outubro de 2018.

37. *Zoneamento Agroclimático da Remoção de Palha no Brasil*, Workshop de Remoção de Palha: implicações na qualidade do solo, nas emissões de GEE e na produção de cana-de-açúcar, CNPEM, Campinas, Brasil, outubro de 2018.

38. *Qual o impacto do recolhimento de palha na produtividade de cana-de-açúcar?* Workshop de Remoção de Palha: implicações na qualidade do solo, nas emissões de GEE e na produção de cana-de-açúcar, CNPEM, Campinas, Brasil, outubro de 2018.

39. *Dinâmica do carbono do solo induzida pela remoção de palha em médio e longo prazo*, Workshop de Remoção de Palha: implicações na qualidade do solo, nas emissões de GEE e na produção de cana-de-açúcar, CNPEM, Campinas, Brasil, outubro de 2018.

40. *Emissões de N_2O do solo em áreas de recolhimento de palha*, Workshop de Remoção de Palha: implicações na qualidade do solo, nas emissões de GEE e na produção de cana-de-açúcar, CNPEM, Campinas, Brasil, outubro de 2018.

41. *Techno-economics of renewable electricity from sugarcane straw in retrofit projects in Brazil*, 7TH International Symposium on Energy from Biomass and Waste, Veneza, Itália, outubro de 2018.

42. *Rotas de recolhimento de palha de cana de açúcar para a Geração de Energia Elétrica*, XVI Semana Agronômica, Universidade Federal do Goiás (UFG), Jataí, Brasil, outubro de 2018.

43. *Tecnologias para a produção comercial de bioquerosene de aviação*, Era da Bioenergia: Ciência, Tecnologia e Sustentabilidade, Unicamp, Campinas, Brasil, novembro de 2018.

44. *Evaluation of different technological alternatives for light vehicles operation in the Brazilian context*, 23rd International Symposium on Alcohol Fuels, Zhejiang University, Hangzhou, China, novembro de 2018.

45. *The rise of electric vehicles and consequences for the development of sugarcane bioenergy in Latin America and Africa*, 23rd International Symposium on Alcohol Fuels, Zhejiang University, Hangzhou, China, novembro de 2018.

46. *Rotas de recolhimento de palha de cana de açúcar para a Geração de Energia Elétrica*, III Seminário de Motomecanização, Grupo de Motomecanização (GMEC), Ribeirão Preto, Brasil, novembro de 2018.

47. *Prós e contras das rotas de palha*, III Workshop de Resultados do Projeto Sucre, CNPEM, Campinas, Brasil, novembro de 2018.

48. *Avaliação da queima da mistura de palha e bagaço em caldeiras*, III Workshop de Resultados do Projeto Sucre, CNPEM, Campinas, Brasil, novembro de 2018.

49. *Deciphering the molecular basis for efficient 2G ethanol production in yeast*, 7th Brazilian Biotech Congress and 2nd Biotech Ibero-American Congress, CBBIOTEC, Brasília, Brasil, novembro de 2018.

50. *Comparison of GHG Emissions Assessment Models - Phase II*, Task-39 Meeting, International Energy Agency (IEA) - Bioenergy Technology Collaboration Program (IEA Bioenergy), São Francisco, Estados Unidos, novembro de 2018.

51. *Processos de Obtenção de Etanol de 2ª Geração e Caracterização de Lignina E2G*, Workshop em Bioenergia, Instituto de Pesquisas em Bioenergia – IPBEN, Rio Claro, dezembro de 2018.

3.6 Infraestrutura, Operação e Melhorias Técnicas

Em 2018, o CTBE reestruturou suas instalações a fim de ajustar sua estrutura física a nova estrutura organizacional e evidenciar as competências do laboratório. Além das sete instalações abertas a usuários externos, o CTBE também possui laboratórios de apoio com ampla utilização pelo corpo de pesquisadores.

Central Analítica (CA): dispõe de equipamentos e protocolos analíticos padronizados, capazes de atender a um amplo espectro de análises para a caracterização química e física da biomassa lignocelulósica, dos derivados do processo de obtenção do etanol celulósico, de intermediários químicos e outros produtos. São realizadas análises de carboidratos e seus produtos de degradação, ácidos orgânicos, alcoóis, composto fenólicos, tamanho de partícula, termogravimetria, calorimetria exploratória diferencial, análise de sorção de vapor de água, análises elementares, análises espectroscópicas por infravermelho e por emissão atômica por plasma. Possui competências para avaliar e implementar novas necessidades de análises para pesquisas e projetos de desenvolvimento internos e com empresas.

Bioquímica e Biologia Molecular (BBM): conta com uma completa infraestrutura laboratorial, disponibilizando numerosos recursos que possibilitam uma variada gama de análises nas áreas de biologia molecular e microbiologia, tais como, cultivo e seleção de micro-organismos, manipulação e sequenciamento de material genético (RNA e DNA), cromatografia liquida para a separação de biomoléculas, ensaios para estudos de caracterização enzimática e outras técnicas que atualmente são utilizadas principalmente na seleção, prospecção de enzimas e engenharia de micro-organismos, destinados a conversão de biomassa vegetal em biocombustíveis renováveis, como etanol de segunda geração e biodiesel; engenharia genética de leveduras para fermentação de pentoses e hexoses e estudo de micro-organismos que promovem a saúde e o crescimento vegetal. Além disso, o Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular abriga e fornece suporte a três instalações abertas do CTBE: Laboratório de Metabolômica (MET), Laboratório de Análises de Macromoléculas (LAM) e Laboratório de Alto Desempenho em Sequenciamento e Robótica (NGS).

Experimentação Agrícola (EAG): focado em análises de plantas, solo e água. Conta com uma casa de vegetação para cultivo e desenvolvimento de experimentos equipada com sistema de irrigação automática e com certificação de qualidade em biossegurança para o trabalho com OGMs da classe de risco 1. Preparado para atender demanda interna além da condução e avaliação de experimentos de campo alocados fora do campus do CNPEM. Possui infraestrutura para armazenamento (freezers e containers) e processamento (balanças, estufas e diversos modelos de moinhos) de amostras. Abriga salas destinadas a avaliação de solos, sendo capaz de realizar análises de densidade, agregados e conteúdo de nitrogênio mineral, e de fisiologia vegetal, com equipamentos para medição de potencial hídrico foliar, trocas gasosas e fluorescência da clorofila.

3.6.1 Planta Piloto para Desenvolvimento de Processos (PPDP)

A Planta Piloto de Desenvolvimento de Processos (PPDP) contou com a instalação de dois novos equipamentos que ampliarão o escopo de seu atendimento a usuários internos e externos. O primeiro deles é um **refinador de discos** (Figura 133)**,** equipamento que processa, por meio de refino mecânico, biomassas de diferentes origens como madeira, bagaço e palha de cana-de-açúcar. Este equipamento permitirá avaliar o impacto dos processos de refino nas etapas subsequentes ao pré-tratamento

como hidrólise enzimática, processos de separação/purificação e fermentação. O pré-tratamento físico de refino da biomassa como complemento aos pré-tratamentos convencionais, proporcionará um aumento substancial na área superficial das fibras da lignocelulose, ocasionando uma maior acessibilidade à celulose a ação química ou biológica e com isso obtendo-se um ganho na conversão da celulose em glicose de até 40%, além de facilitar a remoção da lignina. O equipamento encontra-se operacional e tem a capacidade de refinar de 10 a 100 kg de biomassa (base seca) por hora.

Figura 133. Refinador de discos (capacidade: 10-100 kg/hr - base seca - potência 48 kW)

Outro equipamento instalado e comissionado é um **Secador Multipropósito de Biomassa** (Figura 134). Este equipamento apresenta funções de secagem e limpeza a seco, resultando na redução do teor de impurezas minerais. O equipamento, com capacidade para alimentação de 50 a 100 kg de biomassa por hora (dependendo da densidade do material).

Figura 134. Secador Multipropósito de Biomassa (secagem e limpeza a seco) em finalização de montagem

3.6.2 Central Analítica (CA)

Em 2018, deu-se início a operação do Espectrômetro de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente (Perkinelmer/Optima 8000), instalado no final de 2017. Este equipamento permitiu ampliar o portfólio de análises realizadas no CTBE, incluindo a quantificação de diferentes elementos – alumínio, cálcio, cromo, chumbo, selênio, zinco, arsênio, cádmio, ferro, molibdênio, estrôncio, berílio, cobalto, lítio, níquel, titânio, boro, cobre, manganês, magnésio e vanádio. Também este ano foi instalado o Analisador Elementar CN (LECO/686) e reinstalado o Analisador Elementar CHNS/O (PerkinElmer/2400). A operação destes novos equipamentos permitiu obter maior confiança e maior reprodutibilidade nos resultados das análises, dos elementos carbono e nitrogênio, realizadas pela Central Analítica, pois permitem trabalhar em quantidades macro (3g) e micro (0,001g) de amostra aprimorando a representatividade do material analisado. Destaca-se a utilização destes três equipamentos em experimentos desenvolvidos pelo projeto SUCRE e a utilização do Espectofotometro de Emissão Atômica por Plasma em análises de amostras pelo LNNano.

3.6.3 Biorrefinaria Virtual de Cana-de-açúcar (BVC)

Foram realizados desenvolvimentos na Plataforma Biorrefinaria Virtual com o objetivo de aumentar a abrangência e confiabilidade da ferramenta. Dentre estes, destacam-se: regionalização dos modelos para os sistemas de produção de cana-de-açúcar, construção de modelos mais flexíveis e amigáveis para representação de balanços de massa e energia de usinas de primeira geração, além de aprimoramentos metodológicos voltados à avaliação econômica, ambiental e social (com a atualização de dados e introdução de novas estratégias de cálculo).

3.6.4 Laboratório de Apoio de Experimentação Agrícola (EAG)

Uma das salas do Laboratório de Apoio de Experimentação Agrícola foi destinada para os trabalhos relacionados à Fisiologia Vegetal. Nela foram reunidos todos os equipamentos já disponíveis no CTBE de forma a otimizar sua utilização e avalição dos experimentos. Dentre os equipamentos realocados estão uma câmara de Scholander, destinada a medição do potencial hídrico de folhas, e um fluorímetro (modelo Dual-PAM 100) empregado nas análises de fluorescência da clorofila in vivo. Estes dois equipamentos apesar de já comporem a infraestrutura do CTBE ainda não haviam sido utilizados, ampliando este ano a capacidade de realização destas análises.

3.6.5 Atividade e-LN (LIMS)

Em setembro de 2015, os Laboratórios Nacionais CTBE, LNBio e LNNano implantaram conjuntamente o sistema e-LN, como solução para o gerenciamento eletrônico dos laboratórios. A empresa LabWare Brasil, personalizou a sua Enterprise Laboratory

Platform, intitulada LabWare 7, para as diferentes necessidades do CNPEM. A solução tecnológica da LabWare contempla as funcionalidades de *Laboratory Information Management System* (LIMS) e de *Electronic Laboratory Notebook* (ELN). O objetivo desta iniciativa é digitalizar e padronizar as informações relacionadas à execução de experimentos e facilitar o acesso dos profissionais aos dados experimentais produzidos em diferentes áreas. Além disso, a iniciativa permite conferir uma gestão mais profissional da informação, com maior segurança e confidencialidade aos seus resultados. Em 2018, foram cadastradas 4.861 novas amostras, 248 novas solicitações de ensaios, 22 novas análises e 6 novos instrumentos no CTBE. Também foram finalizados os módulos de “Controle de Estoque” e “Controle de Acervo Biológico”, e desenvolvido a primeira versão do módulo “Impressão de Etiquetas”. Também se encontra em desenvolvimento a conexão do sistema e-LN (LIMS) com os demais sistemas de banco de dados do grupo de pesquisa da área de Biomassa (Sistemas desenvolvidos pelo CTBE/CNPEM: BDAgro, APPAgro, BDGeo e WEBAgro e o SharePoint®), conforme previsto no “Plano de Gestão de Dados do Projeto SUCRE”.

4. LABORATÓRIO NACIONAL DE NANOTECNOLOGIA

4.1 O LNNANO em 2018

O Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano) é hoje um Laboratório consolidado, reconhecido pela nossa comunidade. A pesquisa desenvolvida e o atendimento aos usuários externo são pontos de destaques. Hoje, embora com um número reduzido de pesquisadores, temos buscado a excelência nos quatro eixos de nossa missão. O crescimento de nossas 4 divisões científica vem sendo realizado de forma equilibrada, principalmente com um olhar para melhor atender a demanda da comunidade e consequentemente uma maior aproximação com o setor produtivo. Hoje o LNNano é uma referência na América Latina em caracterização de materiais com destacado parque de microscopia, eletrônica e de força atômica. Na Divisão Dispositivos tivemos recentemente aprovado pela FINEP a compra de um equipamento de nano litografia de elétrons, com demanda de ampliação de nossa "sala limpa" proporcionando maiores aplicações na fabricação de nano-sensores e nano-dispositivos.

Neste ano buscando aumentar a diversificação dos recursos instrumentais oferecidos, implementamos novas técnicas de microscopia de varredura por sonda, destacando-se o modo de força pulsada senoidal com técnicas de análises nano-mecânicas e técnicas de medidas elétricas de condutividade e de potencial elétrico em frequência modulada. Essa melhor precisão no controle de forças resulta em uma imagem de AFM com maior resolução, mais consistente para uma ampla gama de amostras, desde as amostras poliméricas macias até materiais muito duros.

Na área biológica, notamos que a comunidade está cada vez mais buscando as instalações de microscopia de varredura por sonda. Verificou-se um crescimento na procura por análises envolvendo amostras biológicas, desde sistemas bio-nanoestruturados até medidas espectroscópicas diretas em células vivas. Buscando ampliar o leque dos recursos instrumentais oferecidos, estamos adquirindo um bio-AFM. Nesse sistema, um AFM com operação em meio líquido permitirá experimentos que envolvem medidas de força em membranas biológicas, adesão de células em diferentes substratos, injeção e extração de fluídos celulares, funcionalização de sondas e medidas de interação com a superfície de células e tecidos, além de estudos topográficos da rede de sinalização e proliferação celular. Com esta ampliação, a posição de liderança será ainda mais consolidada, cumprindo nossa missão com a excelência requerida pelo CNPEM.

A partir de fevereiro, o laboratório de Criomicroscopia (Crio-EM) contará com a mais poderosa ferramenta de Crio-EM, o novo Titan Krios, um novo microscópio eletrônico de transmissão de 300 Kv, com porta amostras crio automático, câmera K-3, corretor de aberração esférica e filtro de energia que permitirá a determinação de estruturas biológicas com resolução de 0,2nm. Este é o primeiro microscópio a ser instalado na

América Latina com estas características. Além disso, novos equipamentos de caracterização entrarão em operação, como o Micro-Raman, com câmara de aquecimento e resfriamento e um sistema de difração de raios-X de última geração que permitirá fazer analise "*in-situ*"e PDF com tubo de Mo. Também no início do ano, o LNNano contará com um novo laboratório de síntese de nano-materiais, que permitirá desenvolver nanopartículas com um elevado controle, distribuição de tamanho e morfologia de partículas.

Finalizando, o LNNano com uma equipe de 13 pesquisadores vem mantendo uma altíssima produção científica com publicações em revistas de alto impacto e merecendo destaques em capas de revistas especializadas e reportagens na mídia. O Laboratório continua com um olhar na inovação tecnológica atuando junto ao setor produtivo. Firmamos novos projetos com a Petrobras, participamos da EMBRAPII, coordenamos o SIBRATEC-nano, sempre firmando novas parcerias com empresas.

Temos certeza que em 2019 continuaremos crescendo e vencendo os novos desafios de fazermos o LNNano cada vez mais um protagonista na nanotecnologia mundial.

Adalberto Fazzio

Diretor do LNNano

Instalações abertas a Usuários Externos

Instalações	Propostas	Beneficiários	Horas
CPM	26	54	2.502
LCS	84	162	2.815
LME	220	395	6.303
LMF	44	94	1.688
LMN	115	209	1.548
DSF	13	27	846
Totais sem duplicatas	502	764	15.682

ABRANGÊNCIA DOS BENEFICIÁRIOS

Brasileiros | 95,4% (86,6% Sudeste)
Estrangeiros | 4,6%

ARTIGOS EXTERNOS

113 artigos que fizeram referência ao uso das instalações do LNNano em 2018

Apoio à geração de inovação nos setores AIS

Horas totais dedicadas ao apoio à geração de inovação	7.430
Acordos vigentes com empresas dos setores AIS	15
Proteção de Propriedade Intelectual	1

P&D in house

Horas totais dedicadas a Pesquisa e Desenvolvimento internos	12.916
Número de artigos publicados por pesquisadores internos	113
Mediana do Fator de Impacto das Revistas	3,794
Percentual de artigos classificados em Quartis Q1 e Q2	86%
Pós-doutores supervisonados	35
Novos auxílios contratados em 2018	6
Acordos vigentes com Instituições de P&D	5

Treinamento, Educação e Extensão

Eventos de Capacitação	7th Transmission Electron Microscopy (TEM) Summer School
	III Curso de Introdução à Nanotecnologia & Nanotoxicologia
	MINICURSO "Introdução aos Métodos de Microfabricação"
	MINICURSO "Microscopias/Ferramentas em Nanotecnologia"
	São Paulo School of Advanced Science on Colloids (SPSAS Colloids)
	The 8th Brazil School for Single Particle Cryo-EM
Eventos Científicos	1º Workshop em Crescimento Epitaxial - WCE
	2ª Reunião de Usuários de Criomicroscopia Eletrônica
	VIII Workshop in Microfluidics - I Brazil-Argentina Microfluidics Congress

Bolsistas	
Doutorado	27
Mestrado	11
Iniciação científica	11
PCI	5
Outras Modalidades	13

4.2 Instalações Abertas a Usuários Externos

4.2.1 Divisão de Síntese

Laboratório de Materiais Nanoestruturados

O número de usuários atendidos se manteve alto em 2018, assim como o número de publicações externas, entre as quais destaca-se o trabalho divulgado em revista de fator de impacto 11,384 na área catálise e sensores. Neste trabalho da Universidade de São Paulo, "***Activity and Stability of Pt/IrO2 Bifunctional Materials as Catalysts for the Oxygen Evolution/Reduction Reactions***", publicado na *ACS Catalysis*, v. 8, p. 2081-2092, 2018, os resultados de XPS foram utilizados para determinar o estado de oxidação do irídio e da platina em catalisadores preparados com diferentes razões molares de Pt/IrO_2.

4.2.2 Divisão de Caracterização

Laboratório de Ciência de Superfícies

Este Laboratório é responsável pelas técnicas de Microscopia de Força Atômica e Síntese. Atualmente, as instalações abertas de microscopia varredura por sonda (SPM) operam com quatro microscópios, equipados com grande variedade de técnicas relacionadas às áreas de física, química e biologia. Em 2018 ocorreu um aumento na demanda e grande parte do tempo disponível para usuários externos foi utilizado para o atendimento de 84 propostas de pesquisa externas.

Confirmou-se a notada diferença no perfil da comunidade de usuários, cada vez mais voltada na busca por resultados envolvendo as técnicas mais avançadas de SPM. Buscando incrementar a diversificação dos recursos instrumentais oferecidos, continuamos o trabalho de desenvolvimento interno de instrumentação e estudos de aplicações de novas técnicas de microscopia de varredura por sonda. Destacamos a utilização da microscopia de força pulsada (Peakforce), com técnicas de análises nanomecânicas e técnicas de medidas elétricas de condutividade (C-AFM) e de potencial em frequência modulada (KPFM). Ainda em relação ao atendimento a usuários externos, este laboratório dedica parte de suas atividades ao treinamento básico de novos usuários.

Aliado às instalações de SPM, o laboratório realiza pesquisas em semicondutores nano estruturados baseados em crescimento por epitaxia de feixe molecular (MBE), que a partir de 2018 abriu esta instalação para usuários externos, atraindo pesquisadores do Estado de São Paulo e da Amazônia.

Laboratório de Microscopia Eletrônica

Em 2018, este Laboratório operou e disponibilizou nove diferentes microscópios, totalizando o atendimento de 220 propostas de pesquisa externas.

Com foco na disponibilização de novas técnicas para a comunidade de pesquisa externa, o LME implementou em 2018 novas técnicas associadas ao microscópio Titan Themis Cubed, tais como: tomografia de elétrons, aquisição de padrões de difração de elétrons em modo sonda, aquisição de imagens de alta resolução com detector segmentado para mapeamento de campos eletrônicos e magnéticos e/ou visualização de colunas atômicas de elementos leves (e.g. Oxigênio), análises a 80 kV, análises com feixe monocromado e mapeamento de composição química em alta resolução. Além disso, destaca-se também a implementação da técnica de "*Pair Distribution Function* (PDF)" utilizando difração de elétrons. Esta técnica permite uma análise quantitativa das distâncias entre átomos, obtendo assim informação quantitativa da estrutura do material amorfo ou cristalino.

O grupo de criomicroscopia eletrônica (CME) atua juntamente com o Laboratório de Microscopia Eletrônica (LME) na implantação e operação da técnica de criomicroscopia eletrônica de transmissão (Crio-TEM) no LNNano. Em setembro de 2018, após breve período de comissionamento, o avançado microscópio TEM Talos Arctica G2 equipado com Falcon III – Thermo Fisher Scientific passou a executar propostas de usuários externos.

4.2.3 Divisão de Dispositivos

Laboratório de Dispositivos e Sistemas Funcionais

Em 2018, foram atendidas 13 propostas externas de pesquisa, e um dos principais elementos que tem atraído novos usuários é a possibilidade combinar a fabricação de dispositivos com ensaios elétricos.

Em 2018, foi adicionado ao parque de instrumentos do laboratório um sistema para medidas Hall (ezHEMS-500 da Nanomagnetics), que possibilita a determinação de uma série de parâmetros físicos de materiais incluindo a resistividade, resistência de folha, magnetorresistência, concentração de dopantes e mobilidade Hall. Os primeiros agendamentos para usuários externos estão programados para o primeiro semestre de 2019.

Laboratório de Microfabricação

Como nos anos anteriores, o Laboratório de microfabricação (LMF) manteve a média anual de usuários, envolvidos em 44 propostas de pesquisa. Pelo segundo ano consecutivo, o processo de recebimento de novas propostas foi encerrado no início de outubro devido ao elevado número de propostas e ausência de datas disponíveis. As propostas de pesquisa revelam um aumento de projetos multidisciplinares, envolvendo

pesquisadores de diversas instituições. A área de sensores e microfluídica continua sendo o maior destaque da instalação. O artigo "***Microfluidic-Based Genosensor To Detect Human Papillomavirus (HPV16) for Head and Neck Cancer",*** publicado por pesquisadores da Universidade de São Paulo, Universidade Estadual de Maringá e Hospital de Câncer de Barreto, no periódico *ACS Applied Materials & Interfaces*, exemplifica o atendimento destas propostas.

4.3 Pesquisa e Desenvolvimento in-house

Programa de Interfaces

O projeto **"*Nanocompósitos poliméricos e exploração de suas interfaces híbridas para aplicações avançadas*"** tem como objetivo preparar nanocompósitos poliméricos contendo nanocargas de celuloses (nanocristais - CNC e nanofibrilas - CNF) e materiais 2D (com características elétricas, de barreiras, entre outras), visando a obtenção de novos materiais com propriedades diferenciadas.

Entre os objetivos específicos e os resultados esperados estão: (i) a obtenção e aperfeiçoamento de métodos de modificação da superfície das nanocargas, visando a sua compatibilização com as matrizes poliméricas; (ii) a produção de nanocompósitos utilizando matrizes poliméricas originadas de fontes não renováveis e renováveis/biodegradáveis, em escala semi piloto por processamento. Avaliar suas propriedades mecânicas, térmicas e de reprocessabilidade. Caracterizar a morfologia e microquímica de interface dos melhores materiais. Avaliação da biodegradabilidade para os materiais originados de matrizes poliméricas biodegradáveis; e (iii) a produção de bionanocompósitos híbridos porosos e não porosos por mistura/*casting*; Caracterização morfológica de suas interfaces e diferentes propriedades.

No âmbito deste projeto, ressalta-se o depósito recente de uma patente[46] de um adesivo "verde" de base aquosa. Esta invenção é um adesivo de contato produzido pela simples mistura de matérias-primas naturais de látex de borracha natural (fonte: seringueira), lignina (fonte: bagaço de cana-de-açúcar) e nanocelulose (fonte: eucalipto). Este resultado pode influenciar diretamente diversos segmentos produtivos, como as indústrias de papel, embalagens, têxtil, automobilística, aeroespacial, de produção de brinquedos e de processamento de madeiras como insumos para a construção civil e para a produção de móveis.

O novo material é um potencial candidato para substituir formulações a base de fenol-formaldeído, uma vez que a Organização Mundial de Saúde classificou o formaldeído como carcinogênico.

[46] Gouveia R. F. e Orra N. M. Formulação de adesivos verdes para diferentes substratos e seus usos. Patente BR PI 10 2018 009673-7.

As formulações desenvolvidas neste projeto apresentaram desempenho semelhante ao padrão comercial (a base de PVA), como mostra os ensaios de tração para diferentes substratos (Figura 135, topo, direita). Imagens da interface entre as madeiras são visualizadas por microtomografia da raios-X (Figura 135, base, esquerda), mostrando uma interface imperceptível entre os dois substratos. A interface entre o adesivo e a madeira é mais resistente que o próprio substrato, como está apresentado na foto do rompimento da madeira na Figura 135 (base, direita) após o ensaio mecânico de tração.

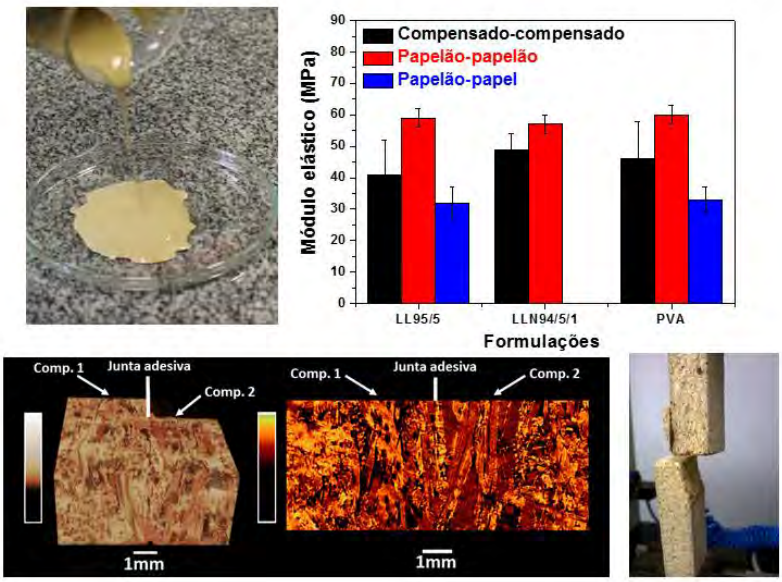


Figura 135. Foto da formulação do adesivo (topo, esquerda). Ensaios de tração para diferentes substratos (topo, direita). Imagens de microtomografia de raios-X (base, esquerda). Foto das madeiras e junta adesiva após o ensaio de tração. LL: látex e lignina. LLN: látex, lignina e nanocelulose

Este resultado repercutiu em diversos meios de comunicação regionais e nacionais (BBC Brasil, G1, UOL Notícias, Época Negócios, GloboNews, Jornal EPTV Campinas e Jornal Nacional da Record) e algumas empresas, nacionais e multinacionais, já mostraram interesse no licenciamento dessa tecnologia.

Além da aplicação em adesivos, essas matérias-primas “verdes” também estão sendo exploradas na produção de bionanocompósitos porosos para utilização como descontaminante de água principalmente como absorvente de óleo. A Figura 136 mostra a reconstrução tridimensional do nanocompósito poroso e sua respectiva distribuição de espessura de parede obtidas por microtomografia de raios-X. Esse material é altamente poroso (porosidade total de aproximadamente 90 %), sendo um ótimo candidato para sorção de óleos para descontaminação de óleo em água. Atualmente, experimentos de sorção em diferentes solventes orgânicos estão sendo realizados no laboratório, mostrando que esse material possui uma capacidade de adsorção (g/g) de aproximadamente 50 vezes, em relação a sua massa inicial, como mostra os exemplos da Figura 137.

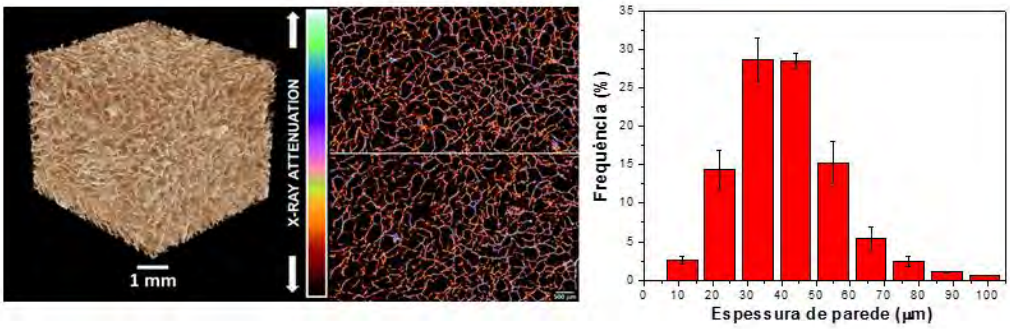


Figura 136. Imagens de microtomografia de raios-X para o nanocompósito poroso de nanocelulose (esquerda). Distribuição de espessura de parede (direita)

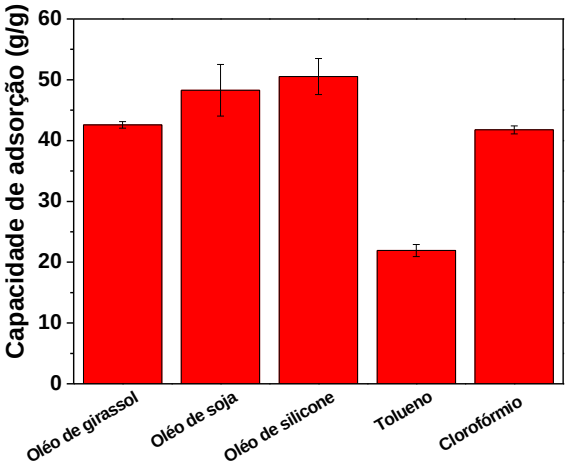


Figura 137. Capacidade de adsorção do bionanocompósito em diferentes solventes

Em cooperação com o *Fraunhofer Institute for Applied Polymer Research* (IAP), o projeto **"*Produção de compósitos poliméricos: processamento termoplástico*"** visou à obtenção de compósitos poliméricos com utilização de fibras ricas em celulose de bagaço de cana-de-açúcar como fase dispersa. Esse projeto foi finalizado em março de 2018, e teve duração de 3 anos e 6 meses. Para este projeto foram produzidos compósitos de polietileno e celulose (modificadas e não modificadas com hexametildisilazano) em diversas concentrações de celulose. O melhor desempenho mecânico foi apresentado pelo compósito com 20% de fibras modificadas, como mostra a Figura 138. Essa melhoria foi atrelada a melhor dispersão de fibras de celulose no interior da matriz polimérica, que foi comprovada pelos dados quantitativos de área superficial obtidos por microtomografia de raios-X. O compósito com 20% de celulose modificada possui uma dispersão de fibras superior, com uma área superficial total de fibras 110% maior que o seu compósito correspondente (sem modificação química).

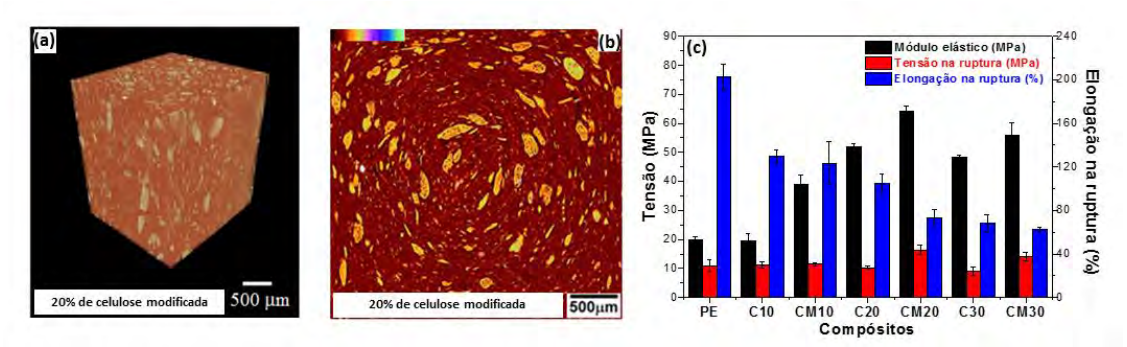


Figura 138. Imagem de microtomografia de raios-X para o compósito com 20% de celulose modificada: (a) reconstrução 3D (b) imagem 2D no interior do compósito. (c) Ensaios de tração dos compósitos. PE: polímero puro. C: celulose e CM: celulose modificada com HMDS

Ainda associado ao Programa de Interfaces Híbridas e em cooperação com a *FEQ-UNICAMP*, o projeto "**Obtenção de nanocelulose para o desenvolvimento de nanocompósitos"** produziu em 2018 avanços na obtenção e caracterização das nanoestruturas de bagaço de cana-de-açúcar, esses resultados já foram publicados[47]. Atualmente, a nanocelulose está sendo incorporada em biopolímeros para a produção de materiais para aplicações biomédicas e embalagens. Nanocompósitos de poli (adipato de butileno-co-tereftalato) - PBAT e nanocelulose para aplicações em embalagens foram produzidos e caracterizados, e os resultados foram submetidos para publicação.

Recentemente, nanocompósitos de nanocelulose com biovidro estão sendo produzidos para aplicações biomédicas na regeneração óssea. A Figura 139 mostra fotos e imagens 3D e 2D dos nanocompósitos, os materiais são altamente porosos e leves, possuindo boas propriedades mecânicas. Os testes *in vivo* destes bionanocompósitos porosos estão sendo desenvolvidos em colaboração com o *IB-UNICAMP*. A cirurgia para os implantes dos nanocompósitos nas calvárias dos ratos foram iniciadas (Figura 140) e posteriormente a eficiência da aplicação dos nanocompósitos na reconstituição óssea será caracterizada por microtomografia, histologia e ensaios biológicos.

[47] F.V. Ferreira, M. Mariano, S.C. Rabelo, R.F. Gouveia, L.M.F. Lona, Isolation and surface modification of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse waste: From a micro- to a nano-scale view, Appl. Surf. Sci. 436, 2018, 1113.

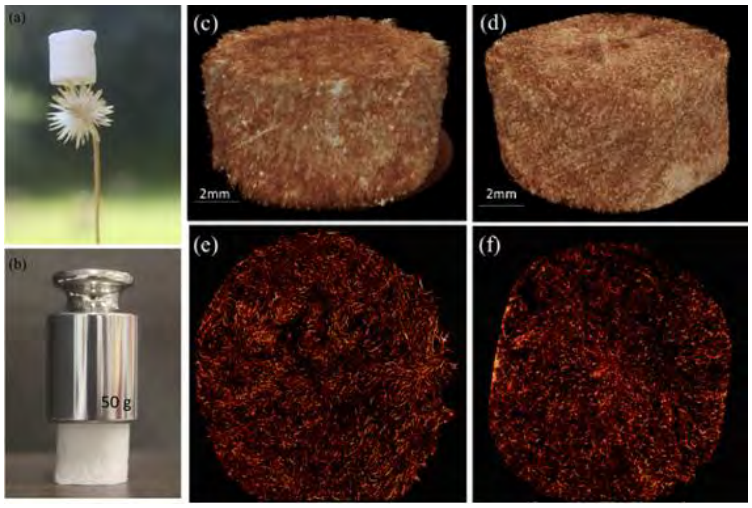


Figura 139. Fotos dos nanocompósitos (esquerda, a e b). Imagens obtidas por microtomografia de raios-X. (c-e): nanocelulose. (d-f): nanocompósitos com nanocelulose e biovidro

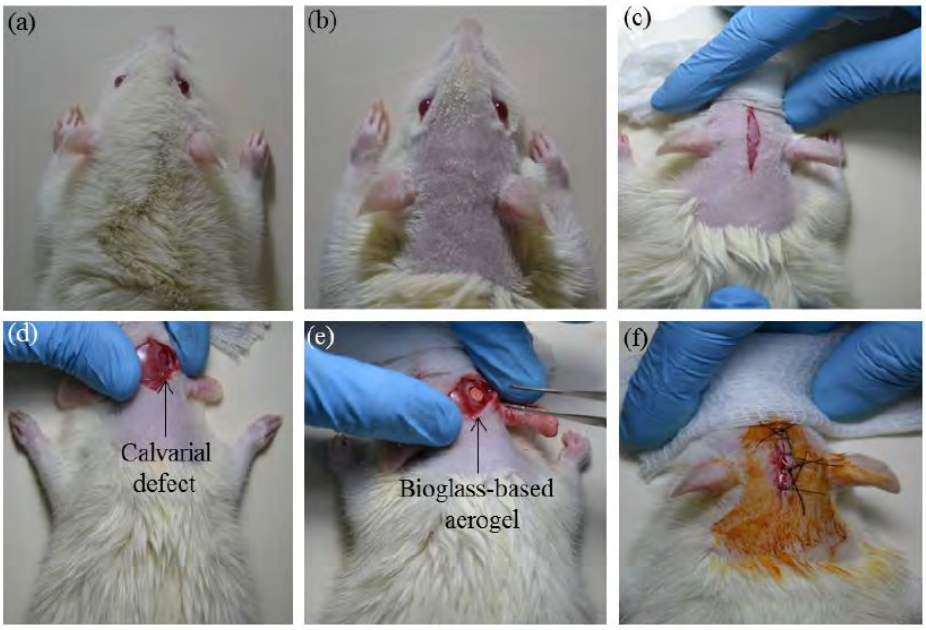


Figura 140. Imagens da cirurgia na calvária dos ratos. (a-c) Início da cirurgia e introdução do corte. (d) Indução do defeito na calvária. (e) Introdução do nanocompósito de nanocelulose e biovidro. (f) Imagem pós cirúrgica

O objetivo do projeto ***"Plataformas multifuncionais baseadas em materiais nanoestruturados de carbono de biomassa para aplicação em energia, materiais compósitos e meio ambiente"*** é obter materiais de carbono nanoestruturados de valor agregado a partir de recursos renováveis, que possam ser aplicados em áreas de energia, materiais compósitos e meio ambiente. Estes campos de aplicação são chave para o desenvolvimento tecnológico e econômico de nossa sociedade, o bem-estar da população e preservação dos ecossistemas. Neste contexto, o projeto posiciona-se na interface da ciência aplicada, na área de materiais, com o alicerce da ciência básica. São objetivos específicos desta linha de pesquisa:

(i) Estabelecer rotas de conversão de biomassa (nanocelulose, celulose, lignina, etc.) e materiais com conteúdo orgânico (polímeros, siloxanos, complexos, etc.) em nanomateriais de carbono. As rotas devem apresentar viabilidade técnica e preferencialmente econômica. São alvo rotas que permitam a obtenção de carbonos na forma de nanopartículas (0D), nanofibras/bastões (1D), lamelas/folhas/filmes finos (2D) e materiais nanoestruturados bulk (3D) para aplicação dos materiais em armazenamento/conversão de energia, materiais compósitos poliméricos e cimentícios, descontaminação de água e ar, e condicionadores de solo.

ii) Propor mecanismos de conversão das biomassas em carbonos empregando técnicas de caracterização com resolução temporal e análises *in situ*.

iii) Estabelecer processos físicos e químicos capazes de alterar as propriedades críticas dos nanomateriais de carbono que impactem positivamente a sua performance nas aplicações alvo. Exemplos das propriedades chave que se pretende controlar: nanopororidade, morfologia, condutividade, tamanho/razão de aspecto das partículas, grau de grafitização, química da superfície e nanoestruturação hierárquica.

iv) Compreender como o arranjo em nível atômico e do arranjo hierárquico das estruturas em micro e nanoescala destes materiais de carbono afetam as suas propriedades críticas para as aplicações alvo.

v) Correlacionar as rotas de conversão e as propriedades críticas dos materiais de carbono para: (a) energia, construção de dispositivos elétricos e eletroquímicos flexíveis via rotas de impressão principalmente a jato de tinta e 3D, e casting; (b) materiais compósitos, preparar nanomateriais de carbono capazes de melhorar as propriedades mecânicas, térmicas e elétricas de compósitos híbridos poliméricos (termoplásticos e elastômeros) e cimentícios; (c) meio ambiente, preparar carbonos nanoestruturados com capacidade de adsorção controlável de poluentes, nutrientes e água para processos de descontaminação de água/ar e condicionamento de solos.

A atuação interna na preparação de materiais compósitos contendo biocarbonos esteve focada na obtenção de materiais elastoméricos (borracha natural) contendo cargas oriundas de bagaço de cana pirolisado. O objetivo é substituir os negros de fumo oriundos de fontes fósseis por aditivos de origem sustentável. O foco dos trabalhos é reduzir os tamanhos de partículas, teores de cinzas e polaridade dos biocarbonos a fim de torná-los compatíveis com a borracha natural e levar a propriedades mecânicas comparáveis a compósitos aditivados com negro de fumo comercial (Tabela 6).

Tabela 6. Resultados do desempenho de compósitos de borracha natural contendo negro de fumo comercial em diferentes teores comparados a aditivação com diferentes bionegros de fumo. Os resultados destacados em negrito correspondem as amostras que são equivalentes em desempenho.

Amostra	Teor de aditivo	Dureza	Resistência à tração na Ruptura (MPa)	Módulo a 100% (MPa)	Módulo a 300% (MPa)
Negro de fumo comercial	0%	31,3	14,6 ± 0,9	0,75 ± 0,01	1,71 ± 0.04
	10%	39,0	**16,2 ± 1,4**	0,94 ± 0,03	3,16 ± 0,20
	20%	41,5	24,0 ± 1,0	1,2 ± 0,02	5,64 ± 0,17
	30%	**47,6**	25,0 ± 1,3	**1,50 ± 0,04**	**8,58 ± 0,31**
	40%	52,7	25,8 ± 0,8	**1,91 ± 0,03**	11,10 ± 0,27
Bionegro de fumo	40% Bio	40,3	12,0 ± 1,1	1,23 ± 0,05	5,58 ± 0,20
	40% Bio-T1	**46,2**	**15,2 ± 0,2**	**1,76 ± 0,02**	**8,21 ± 0,22**
	40% Bio-T2	43,8	14,6 ± 1,2	1,42 ± 0,05	5,92 ± 0,19

Com o encerramento do Projeto Biocarb do Centro Brasil-China de Pesquisa e Inovação em Nanotecnologia em 2017, os esforços deste projeto na área de descontaminação de água estiveram, em 2018, focados no suporte ao ***"Projeto Biosafety"*** também do Centro Brasil-China. Este projeto foca no estudo dos efeitos ecotoxicológicos de nanomateriais de carbono em co-exposição com poluentes de relevância ambiental. Em 2018, as amostras de carvão ativo nanoestruturado de bagaço de cana foram caracterizadas quanto às suas propriedades físico químicas. Estes materiais estão sendo empregados em ensaios de toxicidade frente ao organismo *C. elegans* em co-exposição com íons de Pb^{2+}.

Na temática de biocarbonos para remediação ambiental, a partir de 2019 haverá esforços para a utilização destes materiais em dispositivos de eletrosorção. A perspectiva é que sejam explorados para a construção de dispositivos capazes de realizar a dessalinização capacitiva de água.

Na área de condicionadores de solo, o projeto esteve focado em duas frentes. Na primeira delas foram estudados fertilizantes nanoestruturados de biocarvão contendo diferentes teores de KCl como sal nutriente. Os estudos mostraram que o uso destes fertilizantes nanoestruturados melhora a capacidade de retenção de água e promove a liberação controlada de potássio no solo. Os estudos mostram que estas propriedades estão intimamente ligadas a micro e nanoestrutura das partículas do biocarvão.

A segunda frente de trabalho nesta temática, esteve focada na aplicação de fertilizantes nanoestruturado fosfatados de biocarvão de palha de cana. Este trabalho está associado a um projeto de pós-doc da FAPESP (2016/13813-8) em co-supervisão junto a

pesquisadores do CTBE. Os estudos estão bastante avançados no âmbito de ensaios em casa de vegetação, e mostram que a aplicação destes tipos de fertilizante ao solo pode resultar em ganhos na produção de cana de açúcar de até 30% a depender do tipo de solo (vide Tabela 7 que apresenta a produtividade da cana em diferentes solos sem fertilizante, com fertilizante comercial e com fertilizante nanoestruturado de biocarvão em casa de vegetação, Figura 141). Este aumento na produção de biomassa da cana decorre do aumento da eficiência na utilização de fósforo pelas plantas devido à presença do biocarvão nanoestruturado. Os resultados parciais deste trabalho foram apresentados no congresso internacional ECO-BIO 2018 na Irlanda, sendo premiado com a láurea de melhor pôster do evento. Além disto, os dados estão sendo organizados na forma de um artigo para publicação. O pós-doc responsável por estes trabalhos está realizando desde o início do 2º sem/2018 um estágio na Universidade de Edimburgo. Os objetivos destes trabalhos são avaliações das alterações físico-químicas dos biocarvões em ambiente agrícola.

Figura 141. Fotografia do ensaio de desenvolvimento de cana em casa de vegetação

Tabela 7. Produção de biomassa de cana em diferentes solos com o fertilizante nanoestruturado

Tipo de solo	Massa da parte aérea da cana de açúcar (g) após 60 dias		
	Biocarvão nanoestruturado	Sem fertilizante	Fertilizante comercial
Arenoso	63,0	45,5	62,6
Argiloso	99,8	19,9	67,9
Médio	72,8	10,6	64,4

Avanços significativos foram alcançados no entendimento da estrutura e composição química de bionegros de fumo de lignina de bagaço de cana que receberam tratamentos termoquímicos para se tornarem condutores utilizando técnicas avançadas de caracterização. Análises de TEM/EELS em colaboração com o laboratório de microscopia eletrônica (LME) da Divisão de Caracterização do LNNano mostraram que o tratamento termoquímico empregado enriquece as partículas de bionegros de fumo com espécies de carbono grafítico (como mostrado na Figura 142). E que este enriquecimento é relacionado a formação de domínios condutores nas partículas que são responsáveis pelas propriedades elétricas observadas anteriormente destes materiais.

Este método de tratamento de dados EELS é novo no LNNano e com ótimo potencial para diferentes materiais de carbono. Por conta disto, espera-se que ele seja utilizado não só internamente, mas também como uma nova ferramenta aos usuários externos que por ventura possam se beneficiar do mesmo. Internamente, o LNNano pretende

aprofundar o seu uso para compreender os mecanismos de conversão de biomassa em biocarbonos, assim como elucidar as propriedades estruturais e químicas dos biocarbonos. Neste contexto, as perspectivas para o próximo ano são explorar as técnicas de microscopia eletrônica de transmissão para elucidar a estrutura de biocarbonos obtidos a partir de (nano)partículas de celulose e de lignina. Serão realizados ensaios em que a pirólise destas nanopartículas ocorre *in situ* com o objetivo de descrever as alterações estruturais que ocorrem nestes biocarbonos em função da temperatura, bem como propor mecanismos de conversão dos precursores nos materiais de interesse. Nesta linha serão de fundamental utilidade os novos equipamentos de espectroscopia Raman e de difração de raios-X que o LNNano está adquirindo por intermédio do SiSNano.

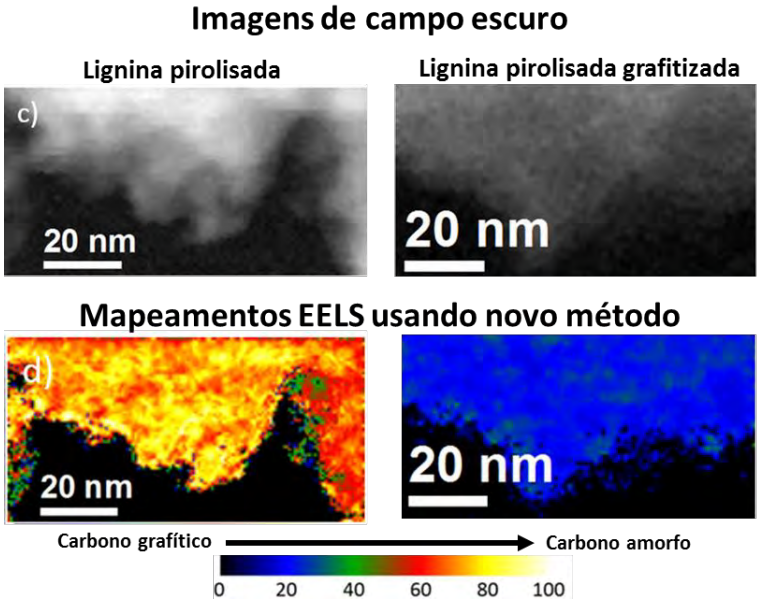
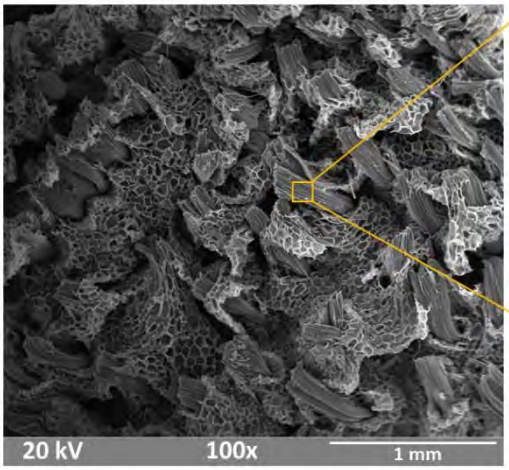


Figura 142. Imagens TEM de campo escuro e mapeamento EELS usando método desenvolvido no LME em parceria com o grupo para o mapeamento do teor de carbono grafítico/amorfo

Por fim, o grupo tem explorado a utilização da estrutura celulósica de colmos de cana de açúcar e do cerne de madeira balsa para obter materiais de carbono com estrutura hierárquica inspirada na natureza. Neste trabalho, monólitos de colmos de cana ou de madeira são delignificados via tratamento químicos e a estrutura de celulose resultante é pirolisada para obtenção das estruturas de carbono. Os materiais de carbono obtidos mantêm majoritariamente a estrutura da celulose precursora (vide Figura 143) e a aplicação de métodos de modificação química dos mesmos está sendo explorada para a obtenção de materiais que tiram proveito desta estrutura hierárquica de origem natural para aplicação em energia e descontaminação de água. Um dos primeiros estudos neste sentido mostrou que o tratamento termoquímico do material de carbono em atmosfera de etanol promove a formação de nanotubos de carbono na superfície do suporte, e que há uma anisiotropia de condutividade elétrica nos materiais (como mostrado na Figura 143).



Condutividade (S/m)	Com tratamento	Sem tratamento
Topo	48,08	19,22
Lateral	21,42	3,82

Figura 143. Imagem de microscopia eletrônica de varredura da estrutura dos colmos de cana pirolisados e tabela de condutividade elétrica dos materiais

Neste ano, foram publicados 4 trabalhos em revistas indexadas que são resultado ou suportam as pesquisas de materiais nanoestruturados de carbono de fontes renováveis. Um deles é uma revisão curta[48] que discute a aplicação deste tipo de materiais em armazenamento e conversão de energia e compósitos leves, levando para a literatura os alicerces chave da estratégia desta linha de pesquisa. Outros dois artigos versam sobre a produção de espumas de nanocelulose na qual a sua microestrutura é controlada pela adição de surfactantes[49] ou pelo método de congelamento da dispersão precursora[50]. Também foi submetido um trabalho que relata a adição de biocarbonos ao solo como uma alternativa para acelerar a degradação de polímeros biodegradáveis e seus compósitos com nanopartículas de prata, devido a melhoria nas condições do solo para o desenvolvimento e manutenção das comunidades microbianas responsáveis pela degradação[51]. Estes resultados demonstram avanços significativos que suportam os futuros trabalhos acerca da produção de espumas e aerogéis de carbono para aplicações em armazenamento de energia e processos de remediação ambiental.

Em 2018, o projeto "***Comportamento coloidal de suspensões complexas de nanocelulose*"** dedicou-se ao estudo do efeito da oxidação no isolamento de nanofibras de celulose extraídas de bagaço de cana. A adição de grupos iônicos (COO^-) na superfície das fibras celulósicas facilita o processo de desfibrilação, pois desfaz ligações de hidrogênio que são responsáveis pela alta coesão fibrilar, promovendo também a repulsão entre as fibras em água. Surpreendentemente verificou-se que aumentando o grau de oxidação da polpa de bagaço é possível isolar celulose nanofibrilada (CNF) sem a etapa dispendiosa de tratamento mecânico (ultrassonicação ou homogeneização de alta pressão), o que não é possível com celulose de eucalipto ou pinus. A lignina do

[48] Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry 2018, 12, 22-26; DOI: 10.1016/j.cogsc.2018.04.009
[49] Carbohydrate Polymers 2018, 195, 153-162; DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.04.075.
[50] Materials Letters 2018, 225, 167-170; DOI: 10.1016/j.matlet.2018.05.013.
[51] Environmental Science & Technology, *no prelo*; DOI: 10.1021/acs.est.8b01524.

bagaço é mais facilmente extraída durante as etapas de pré-tratamento e oxidação, facilitando assim a desfibrilação do material lignocelulósico, como esquematicamente ilustrado na Figura 144.

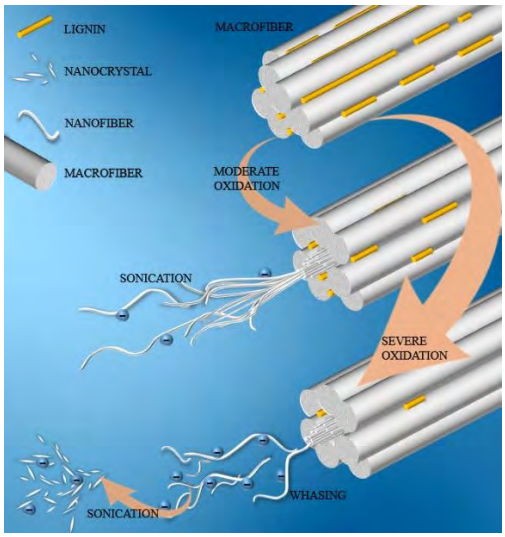


Figura 144. Esquema ilustrando o efeito do grau de oxidação na desagregação de fibras de celulose de bagaço

O uso de celulose nanofibrilada como espessante de fluidos é uma das aplicações mais promissores desse nanomaterial, pois em baixas concentrações de sólido a suspensão possui viscosidade elevada. Em 2018, avaliou-se a microestrutura de CNFs na presença de carboximetilcelulose (CMC), espessante usualmente utilizado em formulações. O efeito sinérgico no aumento da viscosidade da dispersão CMC + CNF está relacionado com a floculação por depleção, uma vez que o polímero aniônico não deve adsorver na superfície das nanofibras oxidadas. Através de imagens de Cryo-TEM, observou-se domínios ricos com CNFs alinhadas, como esperado em sistemas floculados. Além disso, as nanofibras estão distribuídas ao longo de todo o material, formando uma rede de percolação que justifica o aumento da viscosidade e da estabilidade coloidal desses sistemas, como ilustrado na Figura 145.

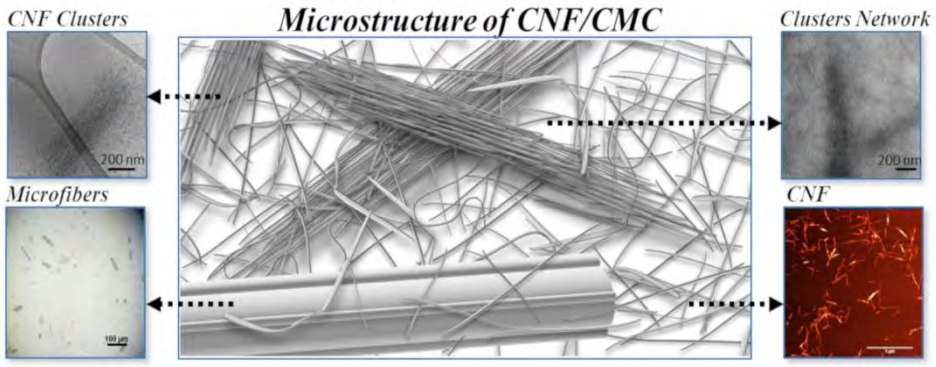


Figura 145. Microestrutura da dispersão de CNF na presença de CMC

Espumas de nanocelulose contendo surfactantes com diferentes tamanhos de cadeia carbônica foram preparados. Esses resultados foram publicados na *Carbohydrate Polymers*. A adição de surfactantes catiônicos na dispersão de CNF comercial leva a floculação das fibras devido a diminuição do potencial zeta, que em alguns casos passa de -35 para -8mV, afetando assim a morfologia (como ilustrado na Figura 146) e as propriedades mecânicas dos materiais porosos obtidos.

Em um outro trabalho publicado na *Materials Letter*, foram preparadas espumas com diferentes morfologias e propriedades mecânicas alterando apenas o molde utilizado durante o congelamento das dispersões de CNF.

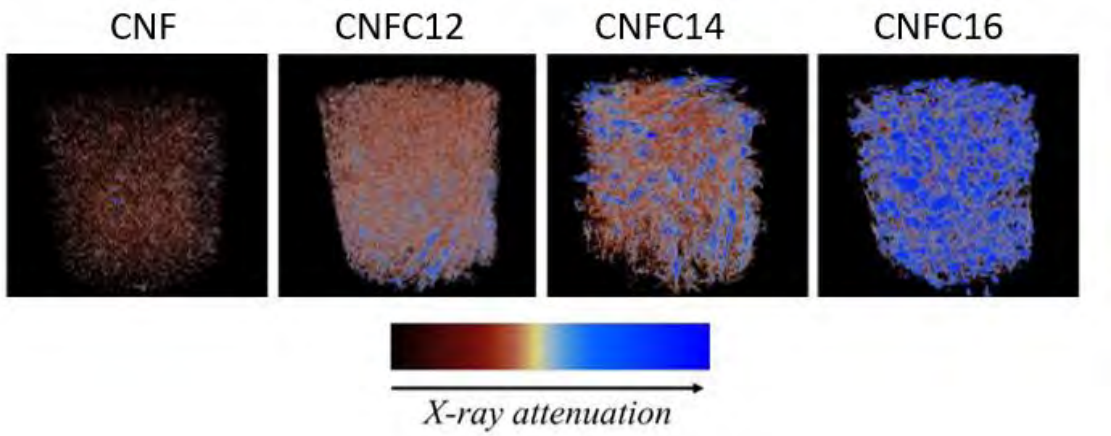


Figura 146. Microtomografia de espumas de CNFs preparadas na presença de surfactantes

Tintas condutoras a base de celulose nanofibrilada (CNF) e negro de fumo foram preparadas e depositadas por *screen printing* sobre substratos transparentes e flexíveis de CNF. Além de funcionar como ligante no filme seco, a nanocelulose de bagaço também aumenta a estabilidade coloidal da tinta, fator crucial para uma boa impressão. Um dos grandes desafios relacionados ao uso de CNF em dispositivos é sua alta sensibilidade à água, podendo limitar bastante seu uso. Em vista disso, técnicas de hidrofobização da superfície foram desenvolvidas e mostraram-se bastante promissoras, como pode ser observado na Figura 147, uma vez que reduziram significativamente a resposta elétrica advinda de mudanças na umidade relativa do ambiente.

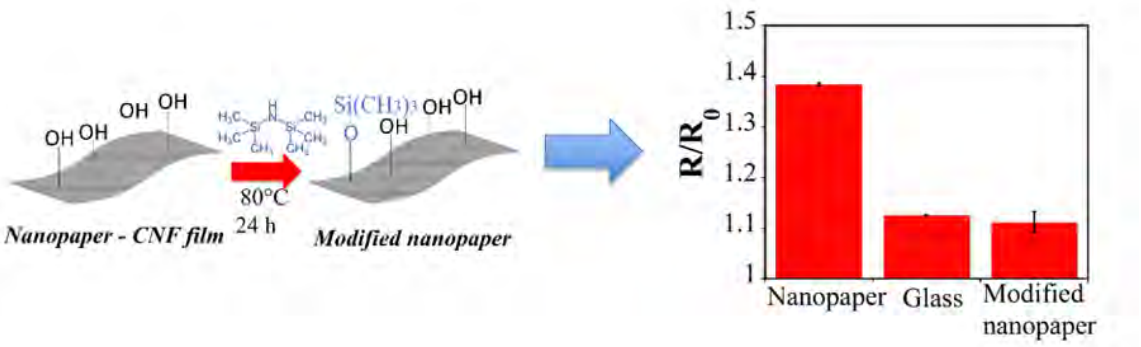


Figura 147. Modificação química do *nanopaper* e o efeito na resposta elétrica

A pobre reprodutibilidade de síntese e funcionalização de nanomateriais é o maior desafio para o desenvolvimento e comercialização de nanotecnologias. Logo, levando em consideração a demanda crescente de escalonamento da produção de nanomateriais e o impacto da sua química de superfície sobre diversas aplicações, o monitoramento desses materiais torna-se imprescindível para ambas a indústria e a academia. O projeto ***"Sensores para nanomateriais"*** visa desenvolver plataformas analíticas microfluídicas para o controle de qualidade, estrutural e quantitativo, de nanomateriais. O objetivo dos pesquisadores não é substituir as técnicas tradicionais de análise de superfície, mas propor um método com vantagens complementares para o monitoramento simples, rápido, rotineiro e de baixo custo de nanomateriais na indústria e na academia.

Esta área de pesquisa segue em fase de investigação com o aprimoramento de métodos e estudo de novas aplicações. Em 2018, foi desenvolvido um novo tipo de língua eletrônica microfluídica (sensor que mimetiza a língua humana a partir do uso de eletrodos, sondas sensíveis, diferentes para gerar resposta diversificada visando ao reconhecimento de padrões) que se baseia em uma única medida e evita quaisquer modificações químicas de superfície do eletrodo. Ademais, os dispositivos foram obtidos em polidimetilsiloxano (PDMS) por meio de uma prototipagem livre de ambiente de 'sala-limpa', que consistiu essencialmente em etapas de polimerização e remoção de *scaffold* (PSR, *polymerization and scaffold removal*).

De forma inédita, aplicamos a língua eletrônica de resposta única baseada em capacitores de dupla-camada elétrica para o monitoramento da química de superfície de nanopartículas de sílica e nanotubos de carbono de acordo com graus diferentes de modificação de superfície induzidas pela funcionalização com moléculas orgânicos e oxidação. A língua eletrônica conseguiu discriminar as amostras a partir de uma rotina simples e rápida (menos de 2 minutos de análise por amostra). Os resultados foram publicados no periódico *ACS Sensors* da *American Chemical Society*.

O estudo das formas de nanocristais metálicos e seus óxidos, em função dos parâmetros de síntese e composição do meio, são ilimitados sendo uma área promissora para desenvolver novos métodos para o projeto de novas nanoestruturas. As técnicas de síntese hidro- e solvotérmicas possibilitam também a obtenção de nanocompósitos e

heteroestruturas que podem abrir caminho para novos desenvolvimentos no campo de nanocatalizadores multifuncionais avançados com várias aplicações.

Neste cenário, o projeto **"*Síntese hidro- e solvotérmica de nanocristais metálicos*"** destaca-se por: (i) otimizar as condições de síntese em condições sub- e supercrítica, selecionar precursores, surfactantes, agentes de encapsulamento e agentes redutores para obter suspensões coloidais de nanocristais metálicos e seus óxidos, com morfologia e orientações cristalográficas definidas; (ii) testar técnicas para a obtenção de filmes finos a partir das suspensões coloidais de nanopartículas; (iii) acompanhar as transformações de fases, formação/evolução de grãos e interfaces durante tratamentos térmicos; e (iv) caracterizar a atividade catalítica dos filmes finos de nanocristais e compósitos para diferentes reações.

Nessa primeira fase do projeto, foram testadas rotas de síntese para o compósito TiO_2-Fe_3O_4 e as nanopartículas foram caracterizadas. Para melhor controle da velocidade da síntese hidrotérmica o precursor usado para o ferro foi Fe(II) com proporções variadas de ácido oleico e PEG. Nos primeiros experimentos, apenas Fe_3O_4 foi sintetizado para posterior introdução do precursor de TiO_2. Como resultado, a rota de síntese escolhida proporcionou nanopartículas de Fe_3O_4 pouco menores que 5 nm, como mostrado na Figura 148.

Na sequência, a suspensão coloidal de nanopartículas foi usada para a deposição de filmes sobre vidro condutor para a medida de fotocorrentes sob condições padrão de iluminação AM 1.5. Considerando o caráter magnético das nanopartículas de Fe_3O_4, a secagem e formação do filme se deu sob a ação de um campo magnético.

Nota-se na Figura 149 (A e B) que, embora não haja diferenças significativas nas áreas de contorno de grãos quando se usa o campo magnético, o filme resultante é mais ordenado e mais uniforme. As descontinuidades e microfissuração resultantes da secagem sem campo magnético ficam bastante atenuadas na presença do campo magnético. A maior uniformidade do filme crescido com orientação de um campo magnético tem proporcionado valores maiores de fotocorrentes. Após a formação dos filmes Fe_3O_4 sobre vidro condutor, estes foram submetidos a um tratamento térmico na temperatura de 800^oC durante 10 minutos para a conversão em hematita. Na Figura 150 observa-se que as diferenças quanto à uniformidade do filme se mantêm. Enquanto o filme de hematita produzido sem campo magnético apresenta descontinuidades, aquele formado sob orientação do campo magnético é mais compacto apresentando valor de fotocorrente três vezes maior em 1,23 V *vs.* EPH.

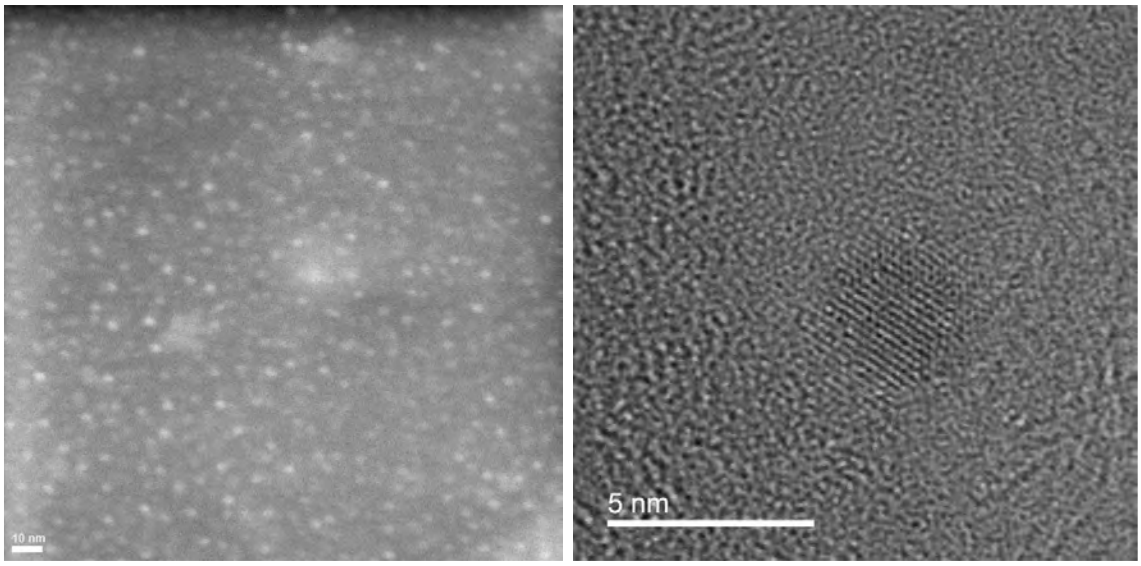


Figura 148. Nanopartículas de Fe_3O_4 sintetizadas a partir de $FeCl_2$, NH_4OH e proporções variadas de ácido oleico e PEG

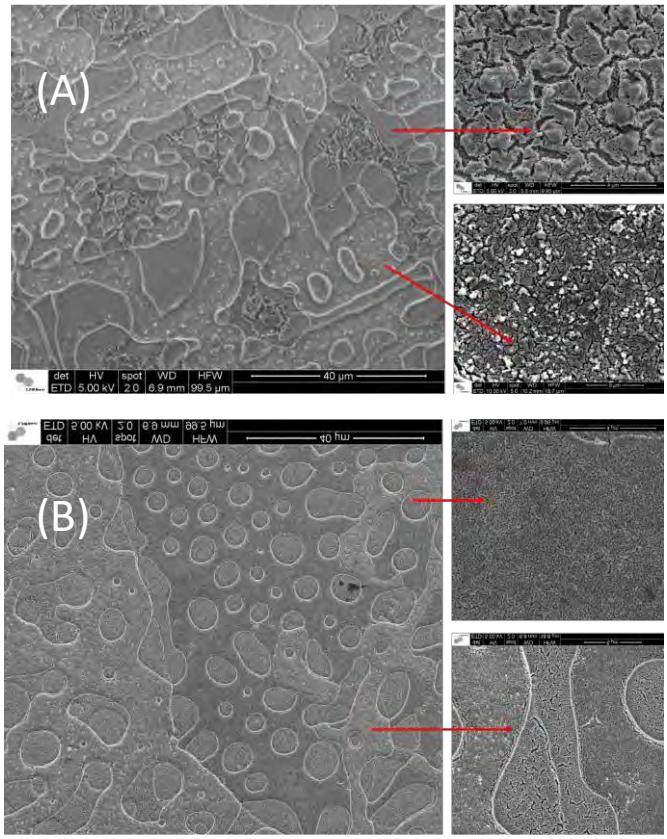


Figura 149. Filmes produzidos a partir da suspensão coloidal de Fe_3O_4 (A) consolidado sem a ação de campo magnético e (B) sob campo magnético

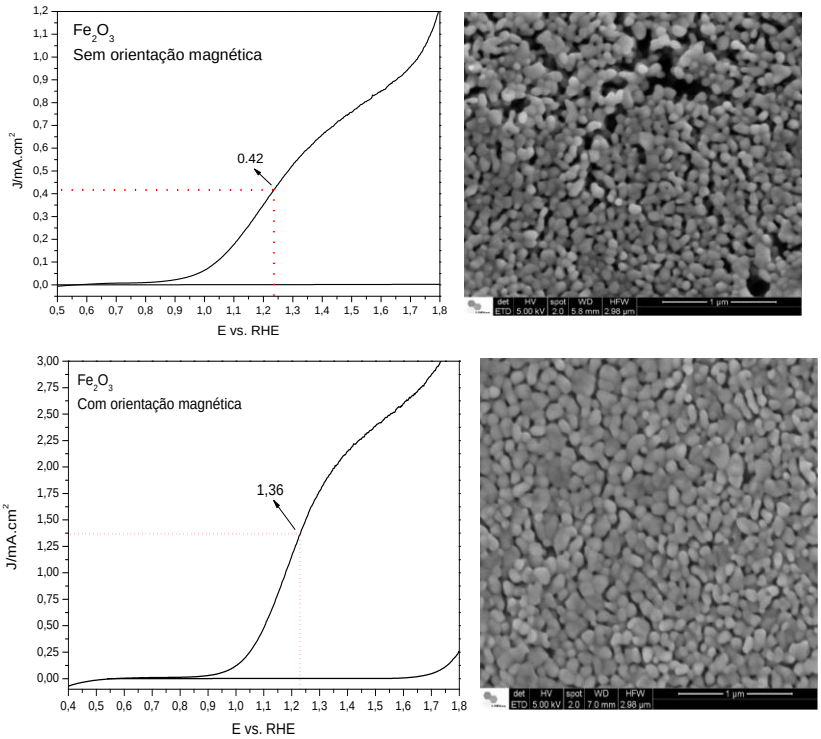


Figura 150. Valores de fotocorrentes sob iluminação padrão AM 1.5. Imagens das superfícies dos filmes de Fe_2O_3 após tratamento térmico a 800 °C, 10 min. Sol. 1M NaOH

Após esse estudo preliminar e, considerando que o objetivo é a produção de heterojunções TiO_2/Fe_2O_3, o reagente precursor para a formação do dióxido de titânio foi introduzido no meio de síntese. A suspensão coloidal resultante, de TiO_2/Fe_3O_4, tem tamanho de partículas maior (30X), variando com a razão TiO_2/Fe_2O_3, conforme mostrado na Figura 151.

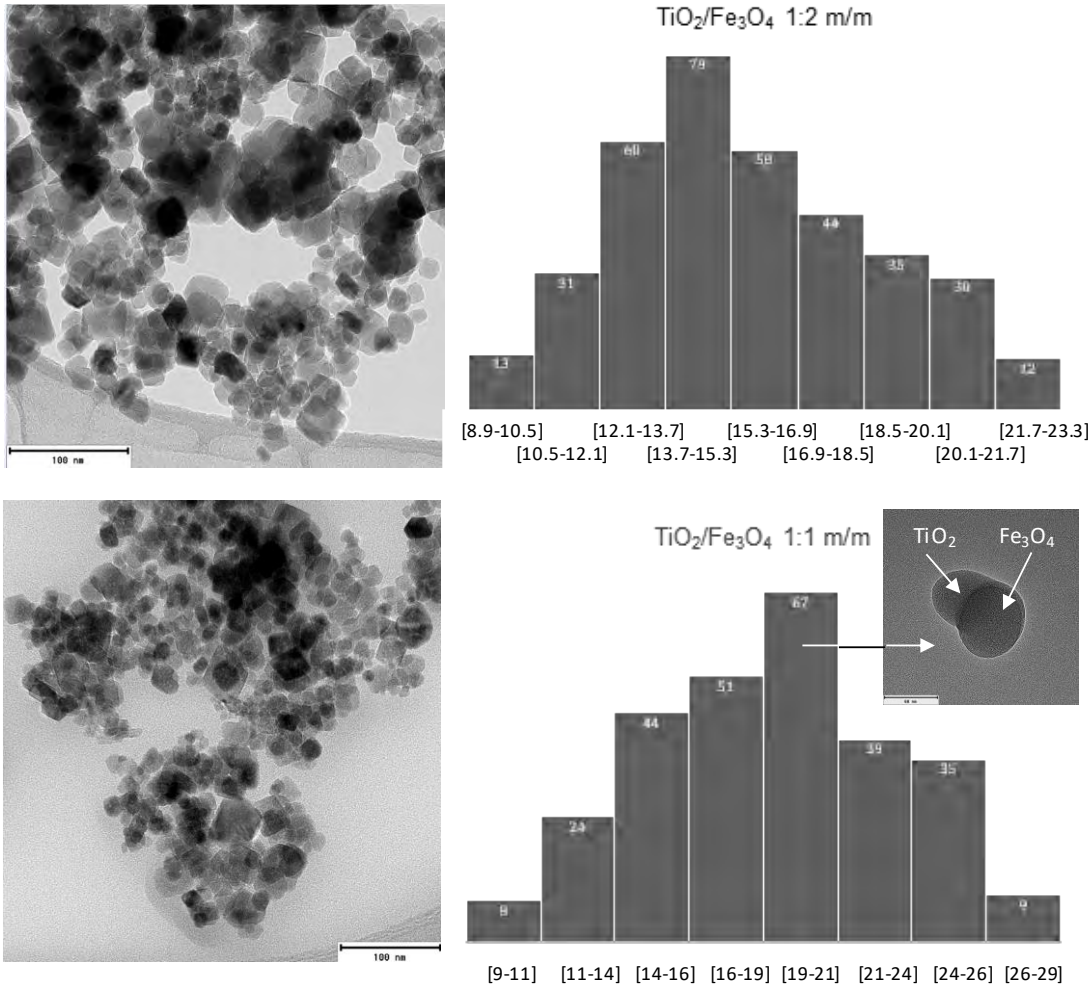


Figura 151. Nanopartículas de TiO_2/Fe_3O_4 e distribuição de tamanho em função da proporção entre ambos

Após secagem, os pós de TiO_2/Fe_3O_4 passaram por um tratamento térmico a 800°C por 10 minutos, dos quais foram feitos os primeiros testes para a produção de filmes. A Figura 152 mostra os filmes de TiO_2/Fe_2O_3 que foram obtidos por (a) "*dip coating*" e por (b) eletrodeposição, sendo o último capaz de produzir filmes mais homogêneos e compactos. Na sequência, o objetivo será a caracterização da fotoatividade da junção TiO_2/Fe_2O_3 e obtenção da energia de *bandgap*.

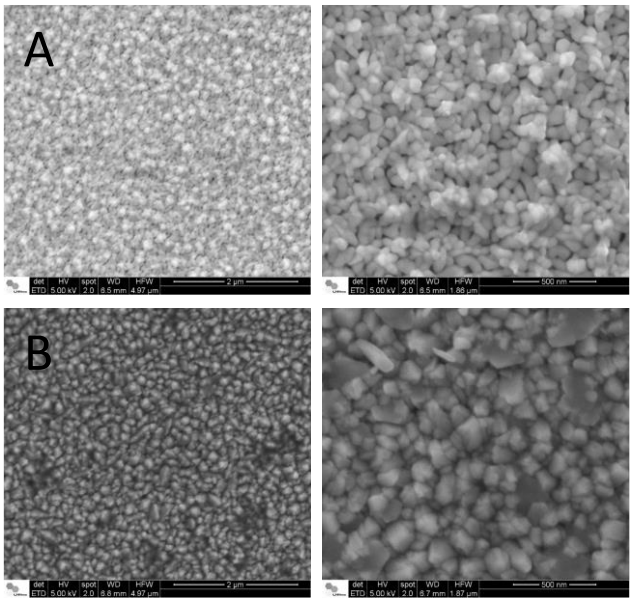


Figura 152. Filmes de TiO_2/Fe_2O_3 (1:1 m/m) produzidos por (A) *"dip coating"* e por (B) eletrodeposição.

Ainda relacionado ao projeto de ***Síntese Hidro- e Solvotérmica de Nanocristais Metálicos*** estão sendo desenvolvidas rotas de síntese de $Ba_xSr_{1-x}TiO_3$ com x < 0.75. O interesse em perovskitas está diretamente relacionado ao seu potencial de aplicações eletrônicas e ópticas. Individualmente, o titanato de estrôncio (SrTiO3) e titanato de bário ($BaTiO_3$), em suas formas cristalinas, apresentam um comportamento semicondutor. Titanato de estrôncio é um tipo-perovskita com uma grande constante dielétrica e propriedades fotoelétricas e óticas. Titanato de bário é um cerâmico típico material ferroelétrico que é usado em capacitores multicamadas, termistores e em transdutores piezelétricos. O titanato de bário e estrôncio possui uma constante dielétrica elevada acoplada com boa estabilidade térmica. Consequentemente, é um material interessante para as aplicações acima.

Os trabalhos iniciais sintetizaram $BaTiO_3$ a partir dos precursores tetrabutil titanato, cloreto de bário, ácido oleico, etanol (para a amostra 1) e butanol e octanol (para a amostra 2), sendo mantidos em autoclave a 160°C por 12h e a 180°C por 48h respectivamente.

As imagens de microscopia eletrônica de transmissão mostraram que as amostras possuem morfologia ligeiramente irregular, com morfologia mais próximas da esférica para amostra BaTiO3_1 (Figura 153) e com morfologia cuboidal para a BaTiO3_2 (Figura 154). As distancias interplanares corroboram com os dados obtidos por DRX e podem ser atribuídas a fase tetragonal do $BaTiO_3$.

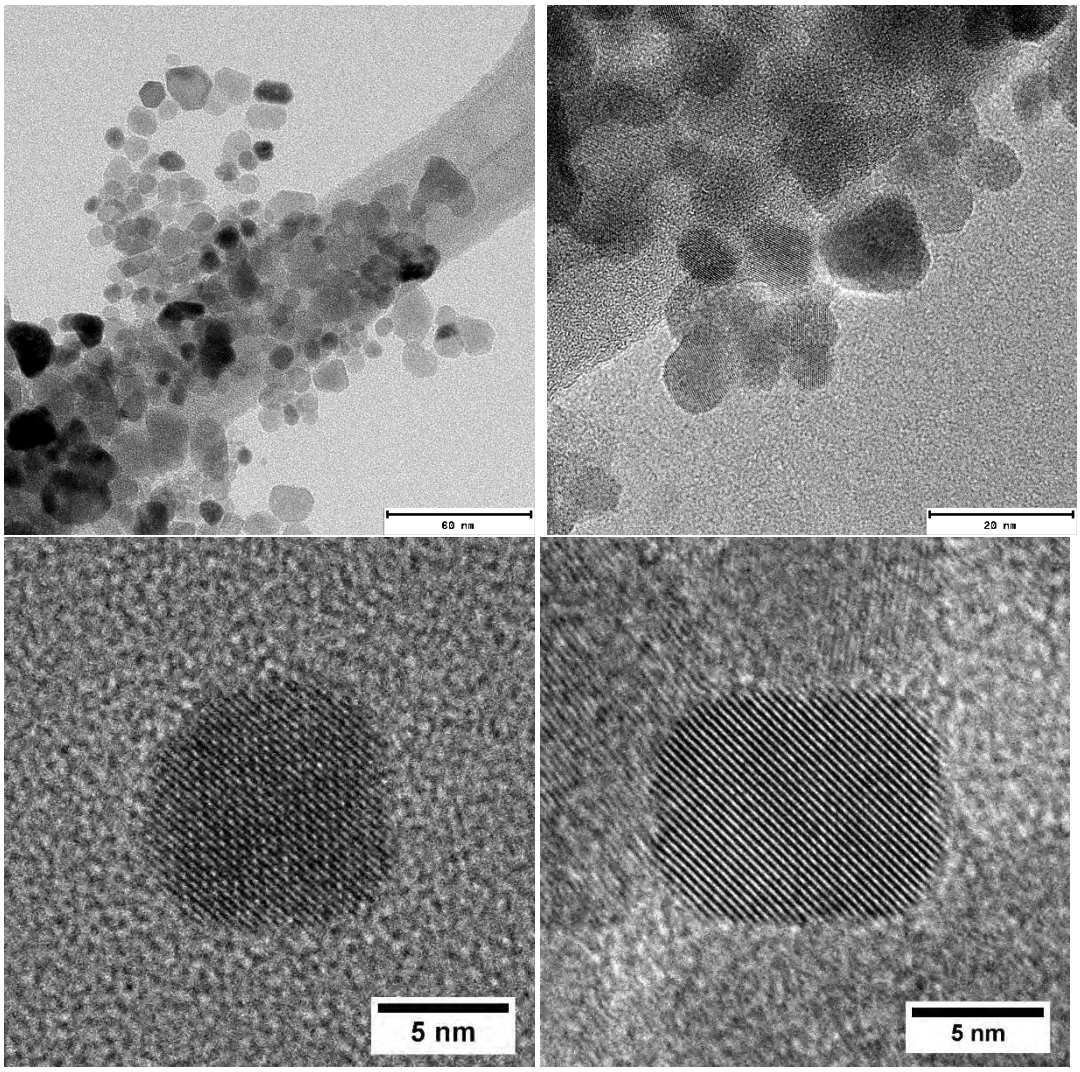


Figura 153. Imagens da amostra BaTiO3_1 evidenciando morfologia próxima da esférica

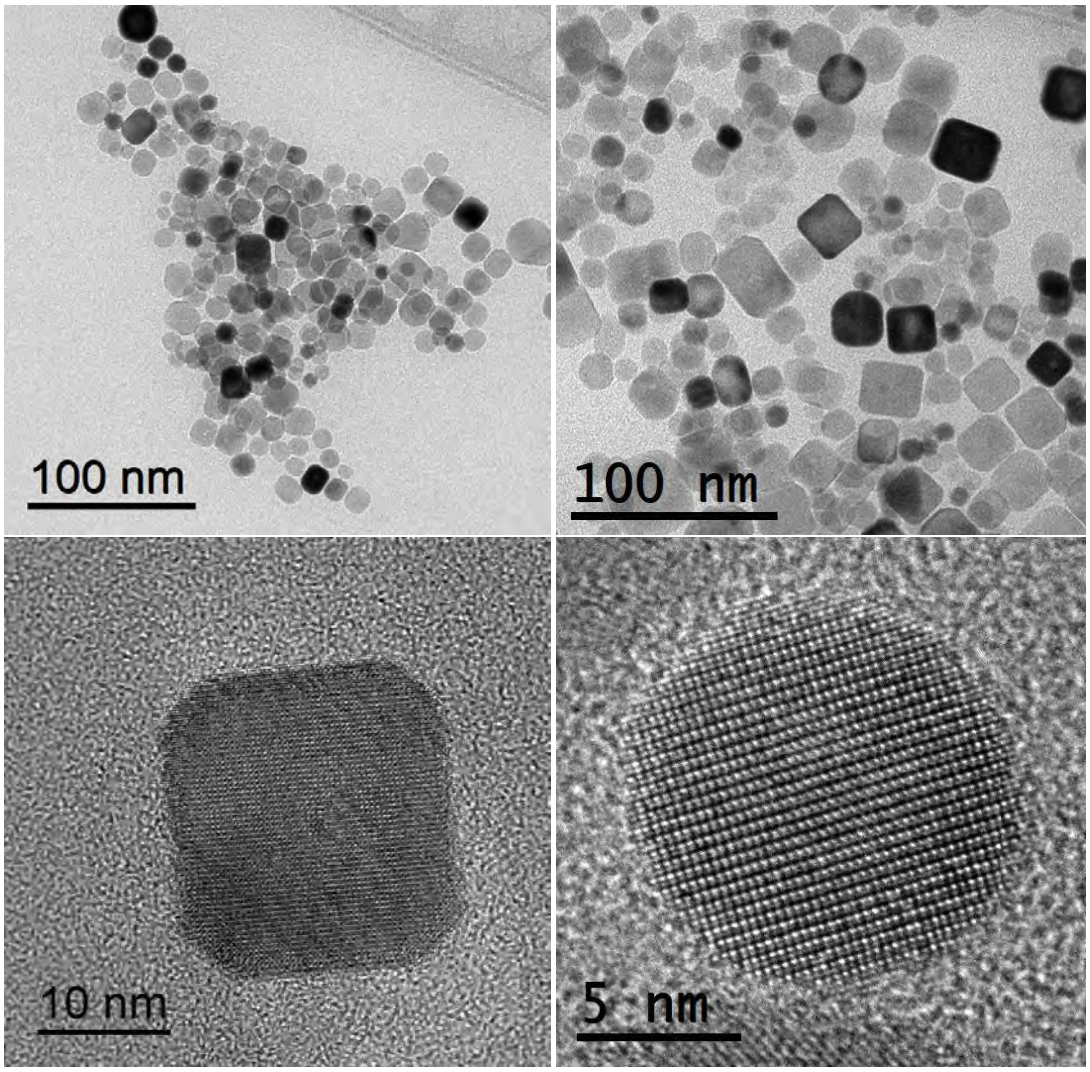


Figura 154. Imagens da amostra BaTiO3_2 evidenciando morfologia cuboidal

O projeto "***Uso da nanotecnologia em ligas de Ti visando a redução de problemas pós-operatórios na colocação de implantes ortopédicos***" tem como objetivo reduzir/inibir, com a aplicação de nanopartículas, inflamações e proliferação de bactérias nas regiões próximas aos implantes ortopédicos de ligas de Ti.

Atualmente a colocação de implantes causa reações adversas no paciente, especialmente nas primeiras semanas após a cirurgia. Estas reações são decorrentes principalmente da proliferação de bactérias e da inflamação nas regiões adjacentes ao implante, gerando queda localizada de pH. Ainda que a esterilização dos componentes usados na cirurgia seja completa, bactérias que residem no próprio paciente podem aderir à superfície do implante, formando redes que se fixam e proliferam. Além disso, a queda localizada do pH pode gerar corrosão no implante, levando à necessidade de outra cirurgia para que seja feita a troca. O objetivo deste trabalho é impedir a fixação de bactérias na superfície do implante evitando sua proliferação, por meio da adição de nanopartículas de ação bactericida e da adição de medicamentos (encapsulados em nanocelulose). Esta alternativa poderá acelerar o processo de cicatrização e impedir a

redução de pH. Entre os impactos esperados estão a redução no número de cirurgias recorrentes e aumento no tempo de renovação da prótese.

Em 2018, os parâmetros e a seleção da solução de anodização para o Ti grau 2 estão em desenvolvimento. Atualmente, os nanotubos obtidos têm em média 50 nm de espessura. A síntese das nanopartículas de prata foi realizada com sucesso, seguidas de análises microscópicas. As próximas etapas incluem: a análise da seção transversal dos nanotubos de Ti, a inserção das nanopartículas de prata dentro dos nanotubos e a associação de nanopartículas com nanocelulose.

O projeto **"*Síntese no estado sólido de materiais nanoestruturado*" utiliza técnicas de** *Friction Stir Processing* (FSP), derivado da técnica de *Friction Stir Welding* (FSW). Este processo utiliza uma ferramenta rotativa inserida no material que avança promovendo a modificação da microestrutura local. Aproveitando o estado superplástico da matriz metálica, compósitos podem ser obtidos a partir de partículas dispostas na rota da ferramenta rotativa. À medida que o processo é realizado, o aquecimento favorece reações e as partículas são dispersas homogeneamente. Como resultado, os compósitos atuam como reforços locais que melhoram as propriedades mecânicas, além de reduzir os custos associados ao superdimensionamento. Os compósitos nanopartículas/matriz metálica também podem ser formados *in situ*. Em geral, a nucleação e crescimento de uma nova fase durante a FSP melhora localmente as propriedades mecânicas, uma vez que as partículas de reforço estrutural são melhor integradas à matriz e distribuídas homogeneamente. Neste projeto sintetizamos o composto intermetálico Al_3Ti em uma matriz Al 5052 por FSP interpondo uma fita de Ti intercalada entre duas placas de liga de alumínio, cujo esquema é mostrado na Figura 155. O processo demonstrou a formação do composto intermetálico de Al-Mg-Ti devido a precipitados de Al-Mg pré-existentes. A aplicação deste reforço estrutural em ligas de alumínio pode ser imediata na indústria aeronáutica.

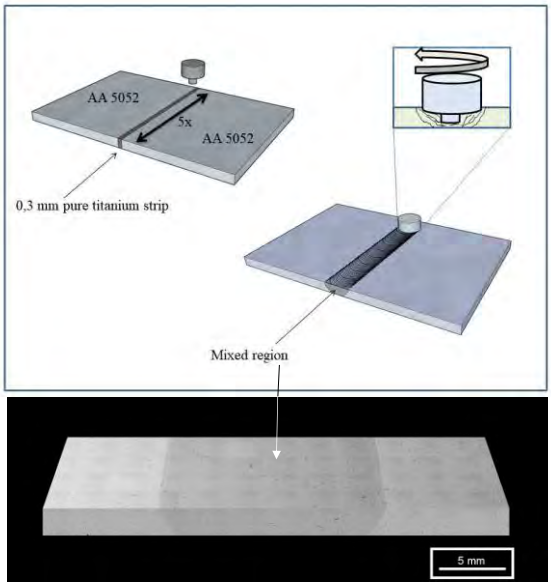


Figura 155. Esquema do processo de FSP em liga de Al AA 5052 e síntese *in situ* de compostos intermetálicos no cordão de solda

O processamento por FSP com intercalação de Ti em matriz de Al resultou na formação de compostos intermetálicos conforme mostrado no difratograma da Figura 156, sendo Al_3Ti e o ternário $Al_{18}Mg_3Ti_2$. Al_3Mg_2 e AlFe são precipitados pré-existentes na liga. O efeito do endurecimento na região processada também é mostrado na Figura 156, tanto na superfície quanto na seção transversal da chapa de alumínio, caracterizando o efeito de aumento local das propriedades mecânicas. A dureza na região processada passou de 55 HV a 80HV.

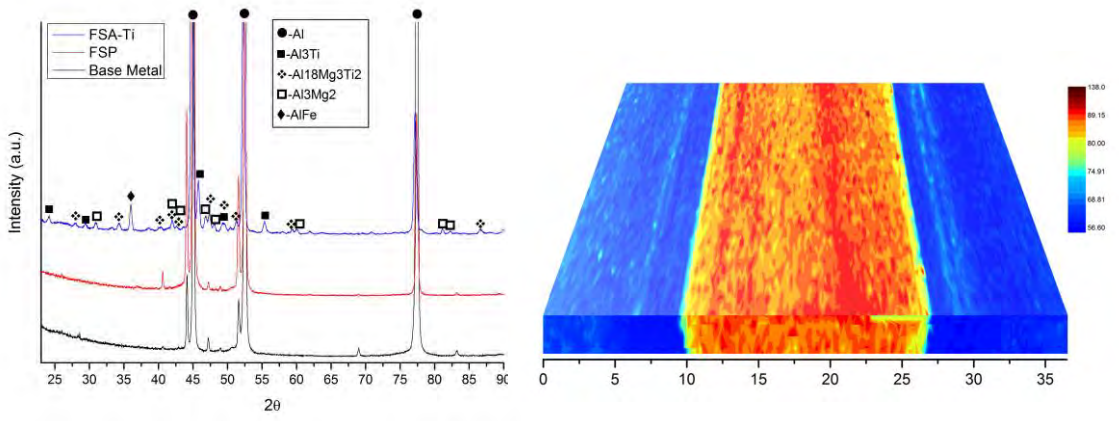


Figura 156. Intermetálicos formados na região de FSP e os valores correspondentes de dureza

As nanopartículas de compostos intermetálicos, responsáveis pelo endurecimento local da região processada podem ser vistos na Figura 157, obtida por microscopia de transmissão.

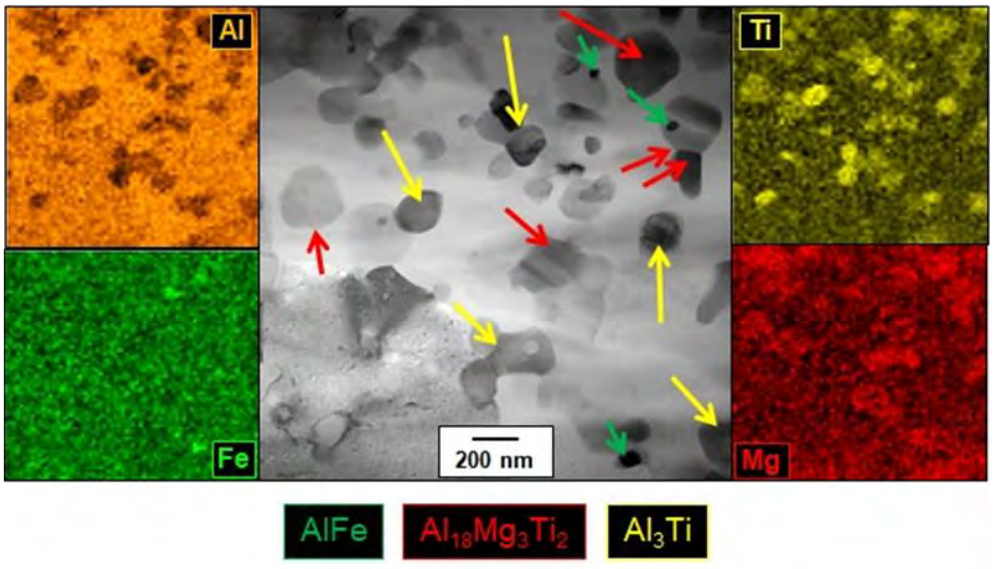


Figura 157. Nanopartículas de compostos intermetálicos responsáveis pelo aumento local das propriedades mecânicas

O objetivo principal do projeto "***Nanodispositivos eletroquímicos esticáveis***" é a obtenção de dispositivos eletroquímicos de alto desempenho usando nanomateriais ou nanofilmes depositados ou incorporados em substratos flexíveis. Espera-se compreender o efeito das perturbações mecânicas na resposta eletroquímica das interfaces, estabelecer novas rotas de fabricação, dominar processos de transferência de materiais para substratos flexíveis e modificar tais interfaces.

Nanodispositivos eletroquímicos que podem ser dobrados e esticados sem perder a sua eficiência têm possibilitado aplicações muitas vezes impossíveis quando empregado estruturas rígidas. Dispositivos anexados na pele, tecidos, embalagens ou luvas são alguns exemplos já em desenvolvimento. A longo prazo espera-se obter dispositivos eletroquímicos que se adaptam facilmente em diferentes tipos de superfícies e mecanicamente mais estáveis quando comparados aos seus análogos rígidos. Além disso, dobrar ou esticar dispositivos de maneira controlada é uma das formas de estudar como a formação de fissuras em nanofilmes afeta a resposta eletroquímica de dispositivos. A fabricação de trilhas condutoras flexíveis tem possibilitado o desenvolvimento de dispositivos mais leves, portáteis e eficientes que terão grande aplicabilidade na sociedade.

Em 2018, houve avanços na formação e caracterização dos nanofilmes de polidopamina. Empregou-se processo de codeposição (adição de mediadores redox juntamente com a molécula precursora do filme de polidopamina) e verificou-se que o bionanofilme apresenta características únicas para diferentes espessuras. Nanolfimes com espessura inferior a 10 nm são hidrofóbicos e com alta atividade eletroquímica, enquanto nanofilmes com espessura em torno de 60 nm são hidrofílicos e apresentam baixa atividade eletroquímica. Empregando nanofilmes de polidopamina com espessura de 50 – 60 nm é possível coletar amostras líquidas simplesmente mergulhando os dispositivos em água. Assim, o nanofilme funciona como um sistema de auto-coleta de líquidos aquosos. Foram realizados ensaios de caracterização Raman nas regiões de formação de micro-nanofissuras formadas nos dispositivos. Observou-se variações nas bandas D e G dos eletrodos antes e após o ensaio mecânico. O manuscrito referente a este trabalho está em fase final de redação.

Ainda em 2018, houve esforços na bionanofuncionalização de eletrodos flexíveis de carbono, com avanços significativos na caracterização dos processos de transferência direta de grafite para o substrato de papel. Além disso, técnicas de microscopia por sonda demonstraram que nanodetritos pouco condutores são removidos da superfície durante o tratamento eletroquímico. O nanofilme de polidopamina (~6 nm de espessura) formado na superfície apresenta um perfil redox reversível que catalisa a oxidação de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADH, forma reduzida). Empregou-se, também, técnicas hifenadas para mapear a superfície durante cada etapa de construção dos dispositivos.

Outro trabalho nesta mesma linha de atuação, e já aceito para publicação em periódico da área, apresentou a síntese de polímeros condutores (Polipirrol) diretamente sobre

fibras de papel para monitorar o efeito da humidade em dispositivos flexíveis. O processo único de formação de trilhas condutoras tridimensionais teve aspecto fundamental no monitoramento da humidade nos dispositivos. Utilizando a rota desenvolvida no LNNano foi possível integrar o polímero juntamente com o canal microfluídico de papel usando rotas de dobragem. Além disso, alteramos as propriedades elétricas do nanofilme de polipirrol através de tratamentos químicos com uma base forte. Esse processo químico altera a molhabilidade do polímero e o deixa mais sensível às variações de humidade. Desenvolvemos ainda medidas de perfilometria confocal à laser alterando a humidade do meio para visualizar o efeito da humidade nas fibras recobertas com o polipirrol. Com isso, foi possível observar o aumento de volume das fibras em função do aumento da humidade local. As medidas elétricas indicaram um aumento da resistência elétrica em função da humidade, muito provavelmente devido ao processo de intumescimento observado nas medidas de caracterização. Foram correlacionadas as medidas elétricas com a mudança de humidade dentro do canal microfluídico e verificou-se que pequenas variações de humidade, 5% por exemplo, afetam consideravelmente o fluxo no canal. A Figura 158 abaixo mostra um desenho esquemático do dispositivo e dos parâmetros investigados.

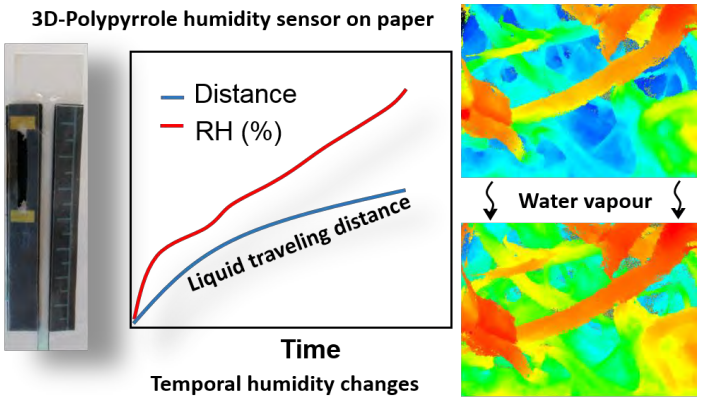


Figura 158. Dispositivos flexíveis empregando polipirrol e papel para avaliar o efeito da humidade em dispositivos microifluídicos

O desenvolvimento tecnológico tem trazido as investigações do transporte de carga em moléculas para além das fronteiras convencionais da eletrônica molecular. Numerosos paradigmas experimentais vêm sendo empregados na tentativa de elucidar a influência da estrutura molecular no transporte eletrônico em sistemas compostos por moléculas individuais, conjuntos moleculares e combinações híbridas destes com nanomateriais inorgânicos. Considerando como estrutura mais simples o sistema formado por uma única molécula/nanopartícula, sistemas híbridos mais complexos não podem ser entendidos como a superposição trivial, em série ou em paralelo, de eventos individuais de transporte. Propriedades e fenômenos distintos, oriundos da extensão do confinamento eletrônico ao longo das três direções espaciais, se manifestam diante da combinação destas estruturas e resultam no transporte de carga macroscópico convencionalmente tratado pela eletrônica. Assim, o controle do transporte de carga

através de variações específicas na estrutura de conjuntos moleculares/híbridos tem levado a resultados sem precedentes para o desenvolvimento de dispositivos funcionais inovadores. No âmbito do projeto **"*Transporte eletrônico em conjuntos moleculares semicondutores*"**, os resultados apresentados na Figura 159 a-d ilustram algumas propriedades moleculares que podem ser acessadas individualmente através de medidas de transporte eletrônico. Tais propriedades estão associadas unicamente à estrutura molecular, sendo, portanto, intrínsecas aos sistemas. Um exemplo de sistema integrado composto por um conjunto de moléculas está mostrado na Figura 159 e, que propõe um novo leque de funcionalidades oriundas da combinação entre as propriedades evidenciadas na Figura 159 a-d. Desvendar, entender e explorar tais efeitos na origem – ou seja, na nanoescala – são necessidades científico-tecnológicas atuais. Neste cenário, a investigação do transporte de carga em conjuntos híbridos oferece uma rota confiável para se manipular e explorar cada uma das referidas funcionalidades de dentro para fora da nanoescala.

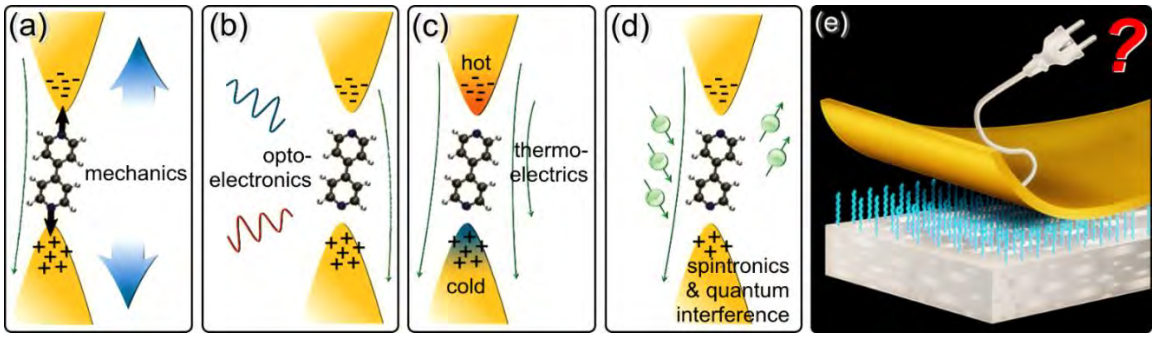


Figura 159. Exemplos de propriedades físicas e químicas dos materiais que podem ser acessadas através de medidas elétricas em junções de transporte através de uma única molécula: (a) propriedades mecânicas; (b) efeitos ópticos; (c) características termoelétricas; (d) fenômenos quânticos dependentes da configuração de spin; (e) Ilustração de um dispositivo funcional integrado que tem como base uma junção eletrônica de grande área que conecta um conjunto molecular na nanoescala

Nesta etapa do projeto, nanomembranas foram utilizadas para conectar eletrodos a conjuntos finos e ultrafinos de moléculas (com espessuras entre 3 e 60nm) de forma integrada com os processos de micro/nanofabricação de dispositivos eletrônicos. Como um resultado preliminar, a plataforma de dispositivo baseado em nanomembranas permitiu mapear, pela primeira vez como função da espessura, o transporte eletrônico na nanoescala em conjuntos moleculares adsorvidos fisicamente aos eletrodos. Este trabalho serviu como ponto de partida para o desenvolvimento de dois conceitos inovadores de dispositivos eletrônicos, ambos capazes de levar a eletrônica molecular para fora dos laboratórios: (i) dispositivos de elétron individual e (ii) junções de transporte com área variável. A Figura 160 mostra a junção de transporte eletrônico baseada em nanomembrana.

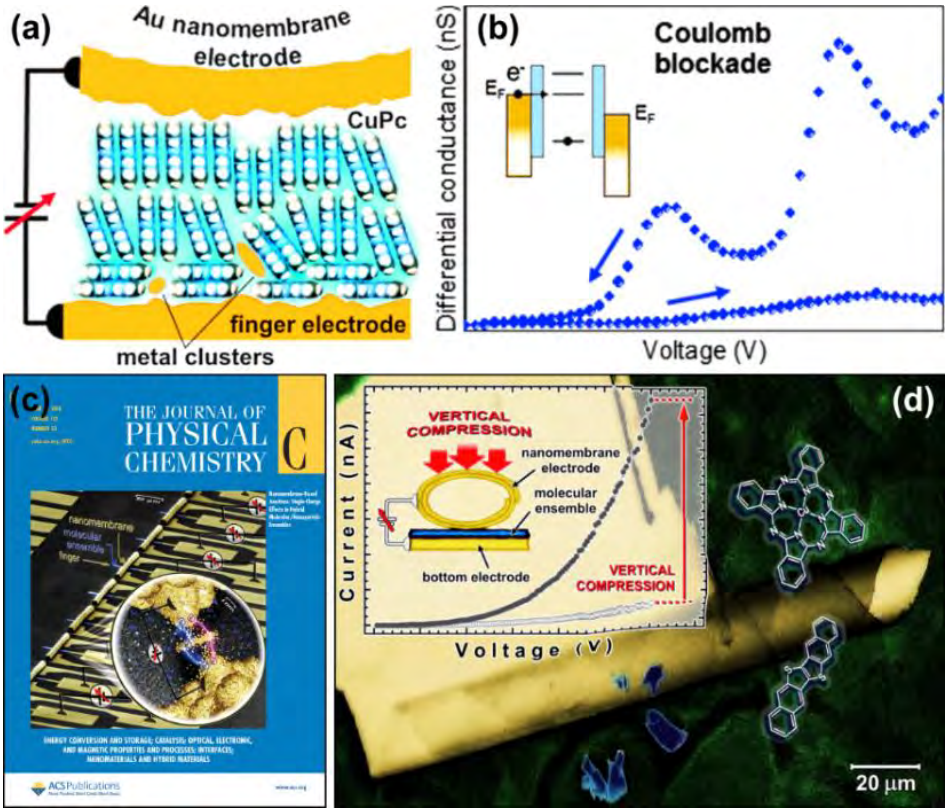


Figura 160. (a) Ilustração da junção eletrônica baseada em nanomembranas que, na presença de um campo elétrico vertical da ordem de 106 V/cm, exibe comportamento de um dispositivo de elétron único. (b) Características de condutância diferencial como função da tensão aplicada nos terminais da junção. As setas para a direita/esquerda indicam a resposta em condutância antes/depois da formação de pontos quânticos de eletrodo no interior do dispositivo. (c) Capa frontal da publicação no periódico The Journal of Physical Chemistry C. 122 (23), 12131-12139 (2018). DOI: 10.1021/acs.jpcc.8b00233. (d) Imagem de MEV de uma nanomembrana metálica enrolada (colorida artificialmente). No interior, as características I vs. V como função da tensão para duas situações de compressão da nanomembrana é mostrada. Tais resultados foram recentemente publicados na revista científica ACS Appl. Mater. Interfaces. (2018). doi:10.1021/acsami.8b12212. As imagens (a-d) foram adaptadas das referências citadas

O dispositivo padrão conta com um eletrodo inferior (chamado de *finger*), um conjunto molecular (no caso mostrado, ftalocianina de cobre – CuPc) e um eletrodo superior (nanomembrana). Esta arquitetura é uma das poucas capazes de conectar moléculas e eletrodos de maneira não-invasiva em um dispositivo eletrônico. Quando o conjunto molecular tem espessura de poucos nanômetros (<10 nm), uma pequena tensão elétrica aplicada entre nanomembrana e *finger* é suficiente para induzir um campo elétrico da ordem de 10^6 V/cm. Neste cenário, a eletromigração pode ocasionar a difusão de átomos dos eletrodos para o interior da camada molecular. Um trabalho recém-publicado[52] mostra como induzir a eletromigração para fabricar dispositivos em que efeitos de um elétron individual podem ser observados. Tais efeitos se relacionam à presença de picos de condutância diferencial observados em posições específicas durante varreduras de corrente elétrica (I) vs. tensão (V). O gráfico demonstra que picos de condutância podem ser observados durante a varredura decrescente de V. O transporte eletrônico, quando tais picos são observados, pode ser entendido com o

[52] The Journal of Physical Chemistry C. 122 (23), 12131-12139, 2018.

formalismo de bloqueio de Coulomb, no qual a passagem de um elétron por um nível quantizado – no caso, o ponto quântico formado por eletromigração – altera a autocapacitância do sistema e interfere na passagem do próximo portador de carga. Finalmente, a plataforma de junção baseada em nanomembrana foi utilizada para desenvolver um dispositivo da eletrônica molecular capaz de carregá-la efetivamente para fora dos limites do laboratório: um medidor de compressão mecânica com forte apelo para aplicações em sensoriamento de pressão. Tais dispositivos tem um conjunto molecular de CuPc com cerca de 60 nm de espessura. Eles se mostraram robustos o suficiente para acomodar deformações de até ~3 μm ao longo do diâmetro do eletrodo superior (nanomembrana enrolada). A Figura 160 mostra ainda a imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV), colorida artificialmente, de uma nanomembrana metálica enrolada semelhante àquela utilizada nos dispositivos mencionados. A plataforma de junção traduz a deformação ao longo do diâmetro destas estruturas em uma mudança mensurável de corrente elétrica. Tal mudança na corrente pôde ser diretamente correlacionada a diferentes áreas de injeção em um mesmo dispositivo. Assim, foi demonstrada a primeira junção com área variável, batizada VATJ (*Variable-Area Transport Junction*). Como prova de conceito, as VATJs foram aplicadas no sensoriamento de estímulos de compressão. Os resultados mencionados foram recentemente publicados no periódico *ACS Applied Materials and Interfaces*.

Ainda no âmbito da eletrônica molecular, o projeto **"*Capacitores híbridos baseados em nanomembranas para determinação da constante dielétrica de conjuntos*"** descreve capacitores híbridos que utilizam nanomembranas mecanicamente compatíveis para encapsular conjuntos moleculares ultrafinos, possibilitando a investigação das propriedades dielétricas moleculares. Como material protótipo, foi utilizado a ftalocianina de cobre (II) (CuPc), uma vez que as informações sobre sua constante dielétrica (k_{CuPc}) em escala molecular ainda não foram reportadas. Capacitores híbridos baseados em nanomembranas metálicas (Figura 161), camadas isolantes de Al_2O_3 e conjuntos moleculares (CuPc) foram fabricados e avaliados. O Al_2O_3 é utilizado para evitar curto-circuitos através das placas do capacitor, visto que a camada molecular é consideravelmente fina (<30 nm). A partir de medidas elétricas dos dispositivos com camadas moleculares de diferentes espessuras, a constante dielétrica da CuPc foi determinada com segurança (k_{CuPc} = 4,5 ± 0,5). Estes valores sugerem uma contribuição da orientação molecular nas propriedades dielétricas da CuPc. O capacitor baseado em nanomembranas relatado é uma estratégia viável para a caracterização dielétrica de conjuntos moleculares ultrafinos integrados em tecnologia de dispositivo prática e real. Estes resultados foram publicados na revista *Nanotechnology* 29, 265201, (2018).

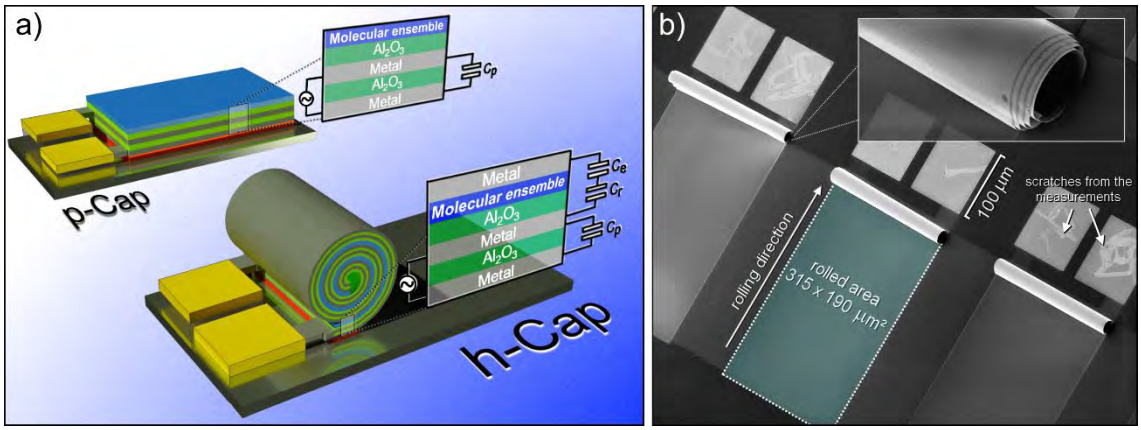


Figura 161. a) Esboço dos dispositivos capacitivos com sua respectiva estrutura de camadas e circuito elétrico equivalente em configuração planar e enrolada. O capacitor híbrido (h-Cap) é formado após a remoção seletiva da camada sacrificial de GeOx. As camadas moleculares, óxido e metal nos dispositivos são, respectivamente, CuPc, Al2O3 e Au / Ti / Cr (exceto a camada metálica interna que é Cr). Os parâmetros Cp, Cr e Ce são responsáveis pela capacitância da estrutura planar, pelo dispositivo enrolado (r-Cap) e pelo conjunto molecular CuPc. b) Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de um conjunto de três h-Caps. Inserção: Imagem ampliada de um h-Cap mostrando seus múltiplos enrolamentos (cinco)

Transistores orgânicos de filmes finos (OTFT) vêm sendo utilizados para realizar diversas tecnologias recentes, e.g. eletrônica flexível e dispositivos "vestíveis" (*wearable electronics*). Atualmente, diversos estudos objetivam aprimorar características destes OTFTs como a mobilidade de portadores de carga, eficiência de consumo de energia, flexibilidade, operação em condições agressivas, entre outras.

No projeto **"*Transistores Orgânicos ultracompactos baseados em nanomembranas*"** foram fabricados dispositivos ultracompactos com baixa tensão de operação (<2 V). Para tanto, utilizou-se a tecnologia de nanomembranas autoenroladas (Figura 162), que consiste na fabricação de uma bicamada com tensões mecânicas diferentes sobre uma camada de sacrifício. A remoção da camada de sacrifício (após o restante da fabricação do OTFT sobre a camada tensionada), combinada ao relaxamento das tensões da bicamada, promove o autoenrolamento de todo o dispositivo, criando uma arquitetura tridimensional a partir de técnicas tradicionais de microfabricação (fotolitografia, deposição de filmes finos). O resultado são OTFTs tubulares (r-OTFT, de *rolled-up*-OTFT) cuja área ocupada é cerca de 10% da sua versão planar.

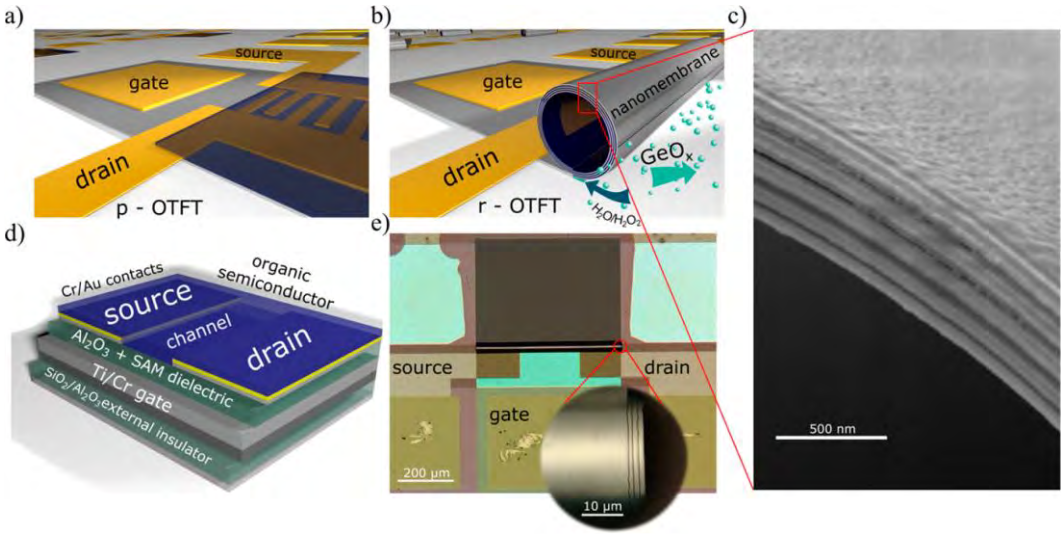


Figura 162. *Layout* do OTFT e composição de camadas. *Layout* tridimensional de dispositivos (a) planares (p-OTFTs) e (b) enrolados (r-OTFTs), ilustrando a dissolução da camada sacrificial de GeOx. (c) Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da seção transversal do r-OTFT mostrando as camadas do dispositivo (cinco enrolamentos). A amostra foi preparada por feixe de íons focalizado (FIB). (d)Esquemas de camada OTFT. e) Microscopia confocal ótica imagem de um r-OTFT (inserção para detalhes), indicando os terminais de fonte, dreno e porta. O raio externo nédio do r-OTFT é ca. 14–30 µm

Através da caracterização elétrica dos dispositivos, verificou-se que o desempenho elétrico do dispositivo não é degradado pelo processo de autoenrolamento, além de adquirir alta flexibilidade mecânica (raios de curvatura menores que 30µm). A Figura 163 mostra a saída (I_D versus V_{DS}) e a características de transferência (I_D e $\sqrt{I_D}$ versus V_{GS}) de ambos p- e r-OTFTs. O comportamento observado para os dispositivos é típico para um semicondutor orgânico do tipo p em baixas tensões operacionais (<2 V). Ambos os tipos de dispositivos exibiram curvas IV lineares e regimes de saturação bem definidos (Figura 163 c, d). A histerese observada na curva de corrente de varredura é frequentemente atribuída à carga armadilhadas na interface do canal. As correntes de fuga da porta (I_G) inferiores a 1 nA foram obtidas para os dois tipos de dispositivos, e estão em concordância com o esperado para OTFTs compreendendo um dielétrico de Al_2O_3 com baixa espessura.

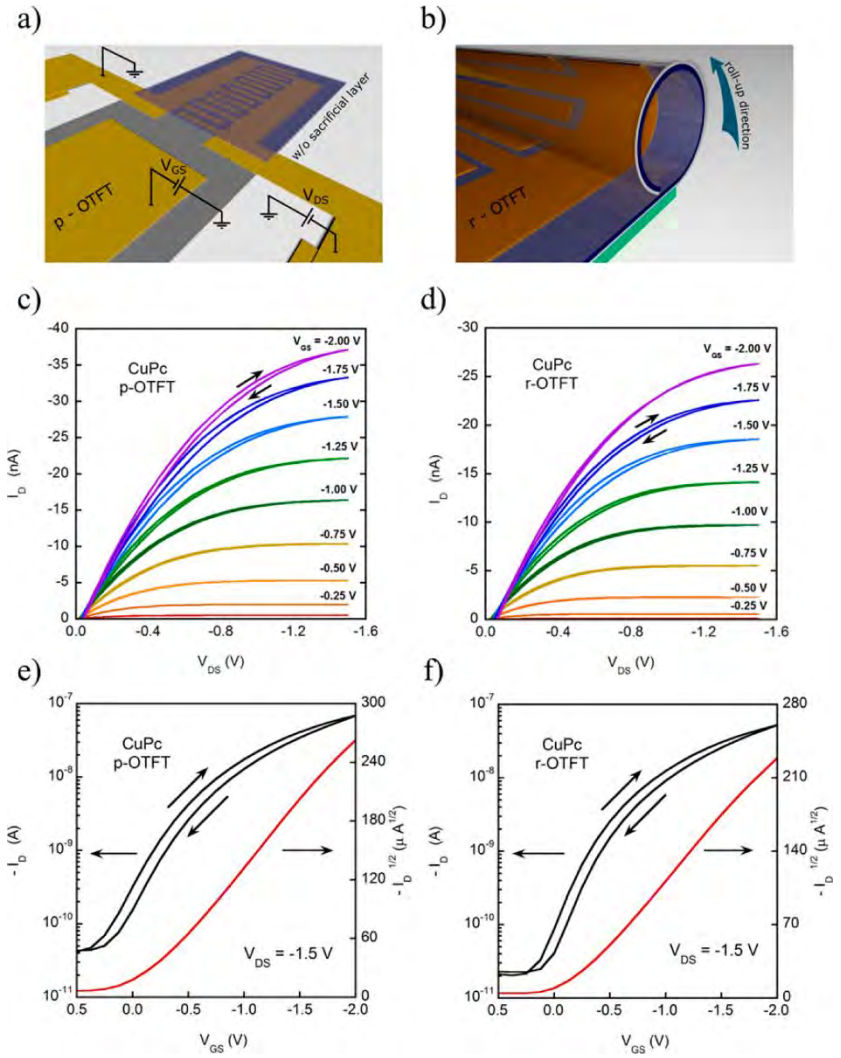


Figura 163. Resposta elétrica dos p-OTFTs e r-OTFTs feitos. (a, b) Esquemas das arquiteturas p- e r-OTFT. (c, d) Curvas de saída (e, f) e de transferência no regime de saturação (VDS = −1,5 V). As medições foram realizadas à temperatura ambiente em um ambiente de laboratório. As setas indicam a direção da histerese

Por fim, verificou-se que os r-OTFT possuem alta robustez mecânica, sobrevivendo a mais de 500 ciclos de compressão transversal (Figura 163). As múltiplas voltas dadas durante o processo de autoenrolamento conferiu propriedades de autoencapsulamento, protegendo a área ativa do transistor de radiação e atmosfera agressiva. A estratégia reportada se provou compatível para múltiplos semicondutores orgânicos, como a ftalocianina de cobre e o dinaftotienotiofeno, mostrando-se uma potencial plataforma para estender a gama de aplicações de OTFTs. Estes resultados foram publicados na revista *Nano Letters* em 2018.

Programa em Nanodispositivos

O projeto ***"Esfoliação e caracterização eletroquímica de materiais 2D"*** consiste na caracterização eletroquímica de monocamadas de materiais 2D, sendo o MoS2 um exemplo de estudo. Espera-se com este trabalho obter monocamadas de materiais 2D

com alta razão de aspecto, realizar a caracterização do material 2D e avaliar a resposta eletroquímica dos materiais buscando separar a contribuição de terraços e bordas.

Os materiais 2D possuem uma infinidade de aplicações na sociedade e muitos são naturalmente encontrados na natureza e extremamente abundantes. Baterias, telas transparentes, sensores, biosensores, compósitos, tecidos inteligentes e dispositivos vestíveis são apenas alguns exemplos desta classe de materiais. Diversos estudos fundamentais são necessários visto que novos materiais 2D são descobertos. Neste projeto espera-se estudar a esfoliação eletroquímica desses materiais possibilitando o acesso a sítios ativos e a compreensão de seu comportamento e limites de operação. Por meio de técnicas avançadas de preparo e de caracterização procuramos elucidar as propriedades eletroquímicas desses materiais, permitindo o desenvolvimento de dispositivos mais eficientes e/ou estáveis aos já existentes.

Esse projeto envolve diferentes competências presentes no LNNano e será iniciado com o estudo do dissulfeto de molibdênio (MoS_2) pertencente à família dos dicalcogenetos de metais de transição (MX_2), em que M é um metal de transição e X um calcogênio. Este é um material amplamente aplicado nas áreas de dispositivos eletrônicos e de armazenamento de energia. Trata-se de um material com elevada mobilidade de portadores de carga e alta absorção de energia, características que permitem a vasta aplicação relatada na literatura. Ademais, possui dois tipos de conformações estruturais: a fase 2H que é a mais comum e semicondutora e a fase 1T que é metaestável e metálica. Uma das etapas em avaliação é a rota de esfoliação do material. As rotas mais utilizadas consistem no enfraquecimento das forças de van der Walls, que podem ser basicamente mecânicas, químicas ou eletroquímicas. Nas próximas etapas as propriedades eletroquímicas do material formado serão investigadas, seguindo para o processo de esfoliação eletroquímico.

O projeto ***"Dispositivo nanoestruturado para avaliação e controle da qualidade de água e detecção de Microcistina-LR"*** é desenvolvido em parceria com o Instituto de Biologia Molecular do Paraná e Fiocruz e é apoiado por recursos financeiros provenientes da FUNDEP dentro da rede SibratecNano. Este projeto propõe o desenvolvimento de um sensor portátil para a rápida e precisa detecção da microcistina-LR, um dos principais contaminantes das águas urbanas e importante problema de saúde pública do país. A microcistina-LR é uma toxina extremamente hepatotóxica produzida por cianobactérias presentes em microalgas. Após seu lançamento em água, microcistinas são ativamente absorvidas por peixes e aves, entrando na cadeia alimentar. Seres humanos também podem ser diretamente expostos a microcistinas via ingestão ou pela realização de atividades esportivas em água contaminada. Este sensor de campo é uma solução tecnológica viável e de baixo custo, sem necessidade de infraestrutura laboratorial complexa e de mão de obra altamente qualificada.

Em 2018, o dispositivo sensor foi construído e prototipado e seus testes foram finalizados com excelentes resultados. O projeto está em fase final, estando prevista a transferência da tecnologia para os parceiros nos próximos meses.

Neste ano, avanços significativos foram obtidos quando se considera nanopartículas como vetores de medicamentos e, principalmente, como modelos de entrega diferenciada de drogas no organismo. O projeto **"*Medicina Personalizada Baseada em Nanomateriais*"** avançou na descrição de estruturas contendo funcionalizações duplas, que se mostraram altamente efetivas contra bactérias susceptíveis e resistentes aos antibióticos. Essas estruturas são compostas por uma armadura de sílica porosa que é capaz de incorporar grandes quantidades de antibiótico (tetraciclina – TC) nos poros devido à presença de um polímero (P123) que atrai a droga. Além disso, a superfície foi funcionaliza com íons prata (Ag^+) que são lentamente liberados da estrutura e acabam matando as bactérias. Uma representação esquemática da obtenção dessas estruturas é apresentada na Figura 164.

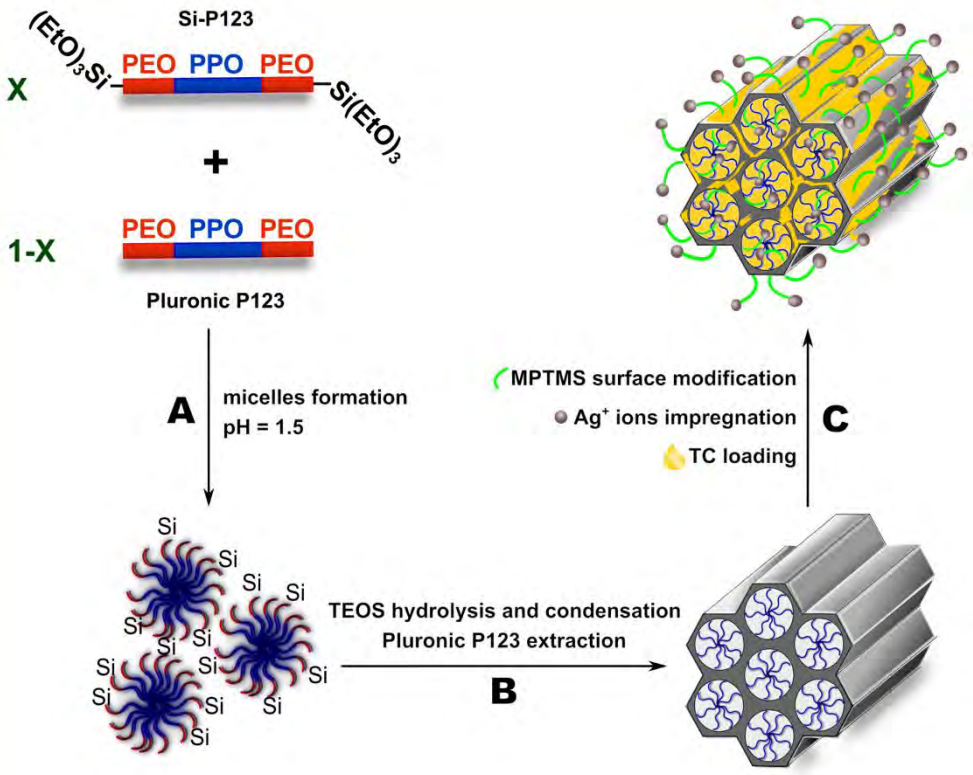


Figura 164. Representação esquemática do processo de síntese. (A) Formação de uma micela híbrida sililada dissolvendo o copolímero tribloco bis-sililado, chamado Si-P123, e o copolímero tribloco Pluronic P123 em uma solução aquosa ácida. (B) Preparação de SBA-15 mesoporosa contendo quantidade ajustável de cadeias de poliéter covalentemente ligadas aos poros, chamada SBA-Px, derivada de micela híbrida sililada. (C) Formação do sistema multifuncional baseado em material SBA-Px. O passo de funcionalização consistiu no enxerto de grupos tiol misturando materiais SBA-Px com MPTMS seguido por coordenação de íons Ag^+ com materiais contendo esses grupos. Finalmente, o antibiótico foi adsorvido no material por impregnação com uma solução aquosa de tetraciclina (TC)

A atividade bactericida desses materiais em concentrações ultra-baixas (ppm) é atribuída a uma combinação de liberação de TC e Ag^+ e resulta em maior atividade bactericida do que Ag^+, TC livre ou uma combinação de ambos. A morte total de

bactérias *E. coli* suscetíveis e resistentes à TC é obtida usando poucos ppms das estruturas sintetizadas e demonstram o alto potencial do sistema. Os testes de toxicidade indicam que a estrutura obtida não é capaz de induzir efeitos hemolíticos aos glóbulos vermelhos nem citotoxicidade em células de mamíferos.

As pesquisas focadas na bio-aplicação de nanopartículas geralmente empregam suspensões líquidas. No entanto, do ponto de vista comercial, o armazenamento e o transporte de suspensões de líquidos implicam mais questões logísticas a serem consideradas. Além disso, as suspensões de nanopartículas apresentam muitas fontes de instabilidade, como agregação, vazamento prematuro de drogas, dentre outras. Uma maneira comum de superar as desvantagens acima mencionadas inclui o armazenamento de nano-formulações na forma sólida seca. No entanto, a secagem do material pode resultar em agregação de nanopartículas que impediria a sua utilização em tratamentos médicos.

Estudou-se também o processo de secagem por liofilização de nanopartículas de sílica com diferentes tamanhos na ausência e presença de protetores simples como os carboidratos. Focamos nossa atenção na determinação e explicação do estado coloidal após a reconstituição dos pós liofilizados e sua relação com a natureza e quantidade de protetores, bem como o tamanho das nanopartículas. Além disso, avaliamos a estabilidade coloidal de amostras armazenadas em diferentes momentos.

Em resumo, demonstramos que os carboidratos podem ser usados eficientemente durante o processo de liofilização de nanopartículas, a fim de obter pós redispersáveis mantendo os tamanhos originais das nanopartículas. Além disso, os pós liofilizados obtidos na presença de carboidratos mostraram-se estáveis ao longo de 30 dias de armazenamento. Combinados, estes resultados indubitavelmente indicam que é possível produzir nano-formulações sólidas redispersáveis e sem agregação perceptível. Finalmente, a redipersibilidade do pó liofilizado em combinação com a estabilidade de longo prazo da amostra é um avanço significativo para tornar as nanopartículas complexas e sensíveis uma realidade futura nas prescrições médicas.

Os métodos microfluídicos eletroquímicos comumente usados para quantificar biomarcadores de câncer e de demais patologias envolvem o uso de etapas caras, lentas e laboriosas para a modificação química de eletrodos, fabricação dos microdispositivos e integração dos eletrodos nos canais microfluídicos. Ademais, essas etapas limitam o escalonamento de produção do método o que impede ou inibe a sua comecialização e uso difundido, seja na academia, nos hospitais ou nas redes públicas de saúde. O projeto **"*Sensores para diagnóstico*"** tem como propósito o desenvolvimento de plataformas analíticas microfluídicas de baixo custo, portáteis, com compatibilidade de produção em massa, simplicidade operacional e desempenho analítico elevado para a quantificação de biomarcadores em amostras reais de soro de pacientes.

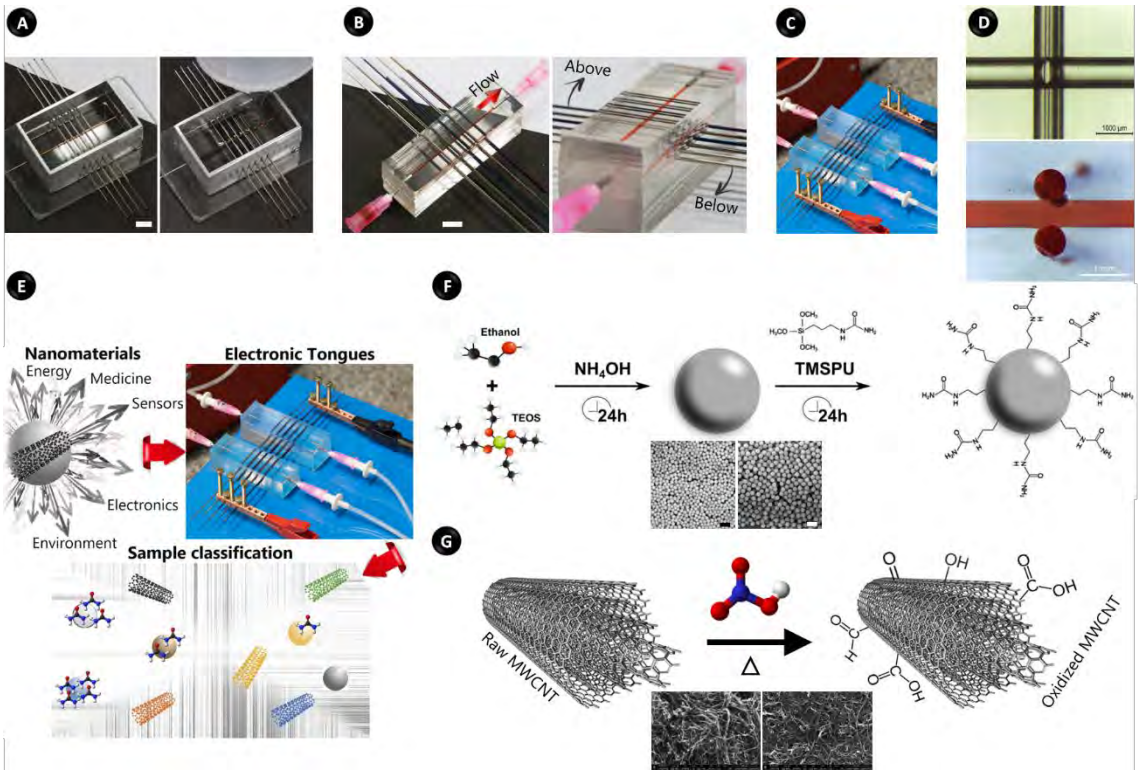


Figura 165. Dispositivos e seus eletrodos e canais microfluídicos (A-D), imagem que retrata genericamente o trabalho (E) e processos de síntese de nanopartículas (F) e oxidação de nanotubos de carbono (G), investigados até o momento

Em 2018, capacitores de dupla-camada elétrica foram arranjados segundo uma nova configuração em dispositivos microfluídicos de PDMS (obtidos pelo método PSR) a qual permitiu o diagnóstico precoce do câncer de mama sem usar qualquer estratégia de amplificação de sinal como a modificação do eletrodo com nanomateriais (Figura 165). O limite de detecção do sensor foi melhorado com o simples aumento no número de capacitores em paralelo. O biomarcador CA 15-3, presente em amostras de soro fornecidas pelo Hospital de Câncer de Barretos, foi analisado após a sua captura com nanopartículas modificadas com anticorpo específico. Os resultados alcançados foram publicados no periódico *Analytical Chemistry* (v. 90, p. 12377–12384, 2018) da *American Chemical Society*. O trabalho foi também destaque em capa da revista e divulgações em veículos de imprensa foram realizadas pelas emissoras Globo e Record.

Um novo tipo de sensor eletroquímico foi desenvolvido possibilitando a quantificação de traços de espécies eletroativas através meramente de detecção visual. A análise foi baseada na oxidação de filmes finos de Ag que formaram o eletrodo auxiliar da cela (Figura 167). Isso levou à formação de nanopartículas de Ag_2O as quais geraram alto contraste em relação à Ag metálica não oxidada, permitindo monitoramento visual da extensão da oxidação. Os dados de prova de conceito do sensor foram publicados no periódico *Electrochimica Acta* (v. 292, p. 125–135, 2018) da *Elsevier*. Testes preliminares ao biomarcador CA 15-3 se mostram positivos.

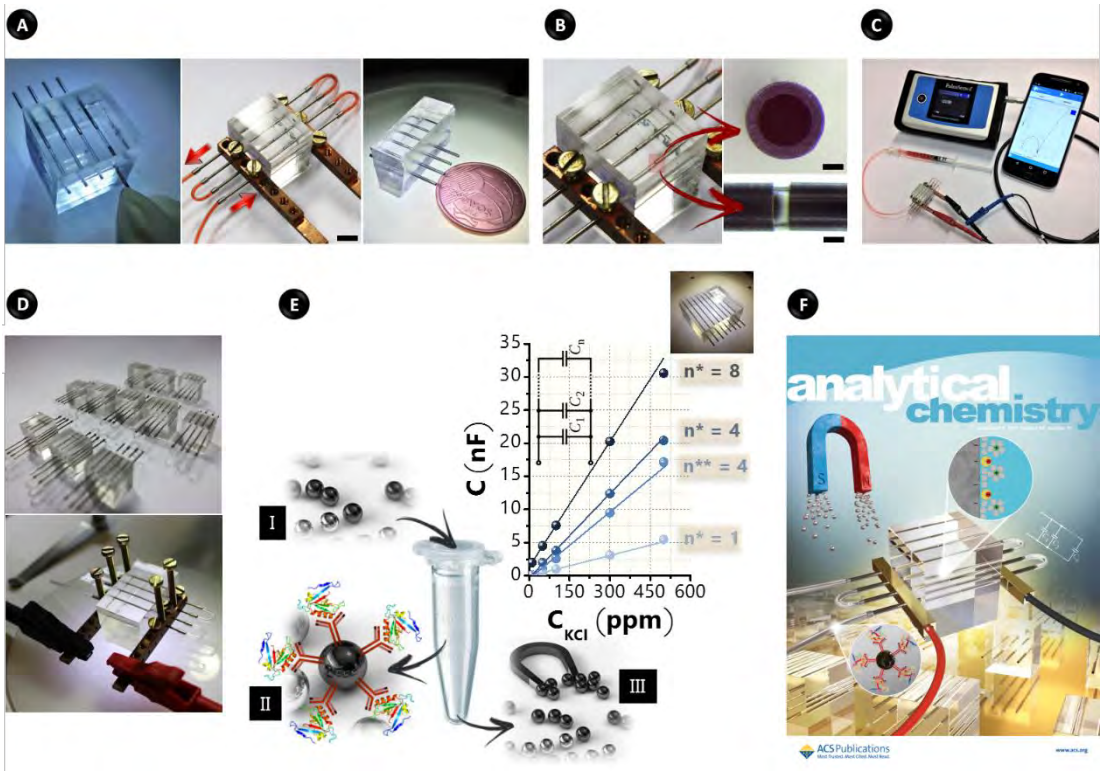


Figura 166. Dispositivos (A,B), plataforma de análise portátil (C), fotos com diversos dispositivos e conexões elétricas (D), rotina de análise do biomarcador e aumento da resposta aumentando o número de capacitores (E) e capa do periódico (F)

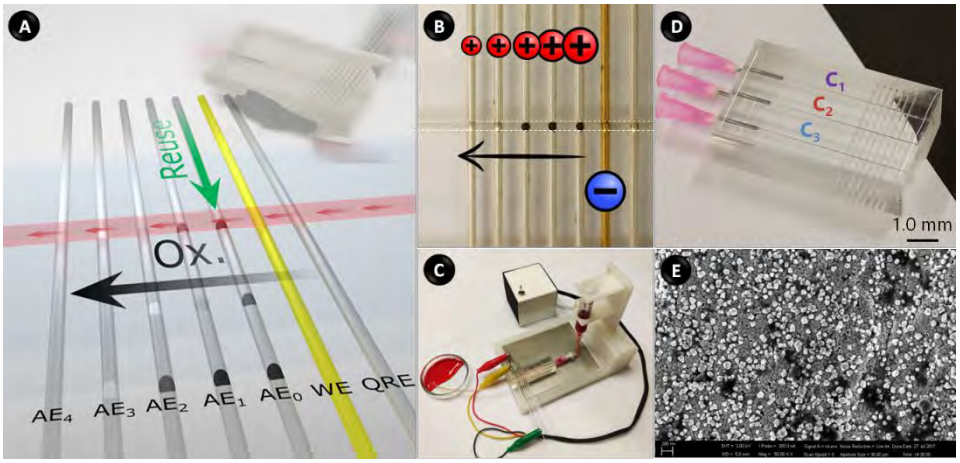


Figura 167. Imagem que retrata genericamente o trabalho (A), oxidação da Ag para detecção visual (B), plataforma analítica (C), dispositivo pata testes multiplex (D) e nanopartículas de Ag_2O formadas pela oxidação da Ag (E)

Programa em Nanossegurança

O projeto **"*NanoEcoSafety - Construção de uma plataforma integrada de pesquisa em nanociência ambiental, nanossegurança e nanotoxicologia*"** tem como objetivo principal construir uma plataforma integrada de pesquisa para o estudo da interação de nanomateriais com sistemas biológicos e ambiente (nanociência, segurança e toxicologia ambiental), visando suportar o desenvolvimento e uso de nanomateriais na

direção da inovação responsável e sustentabilidade. Este projeto está divido em cinco *work packages* (WP), que constituem a *Plataforma Integrada NanoEcoSafety*:

WP1: Obtenção, preparação, e caracterização físico-química de nanomateriais para estudos nanotoxicológicos e ambientais.

WP2: Avaliação da nanotoxicidade e efeitos biológicos de nanomateriais utilizando modelos biológicos de exposição ocupacional e ambiental.

WP3: Transformações ambientais de nanomateriais e caracterização avançada da nanobioeco-interface.

WP4: Normalização e regulamentação em nanossegurança e nanotoxicologia ambiental.

WP5: Novas metodologias em nanociência e nanotoxicologia ambiental (e.g. Crio-TEM, Luz Síncroton, Microfluídica, Computação).

A Plataforma Integrada *NanoEcoSafety* visa posicionar o LNNano como uma referência nacional em nanociência ambiental, nanotoxicologia e nanossegurança. Deste modo, além dos resultados científicos de alto nível e na fronteira do conhecimento, esta plataforma de pesquisa fornecerá subsídios técnico-científicos para empresas inovadoras, academia, sociedade civil e entidades governamentais nas discussões e questões envolvendo toxicidade, segurança e regulamentação de nanomateriais no Brasil.

Este projeto teve início no primeiro semestre de 2018, com um cronograma de execução de médio-longo prazo (5 anos). Nanomateriais de carbono são destacados candidatos para inovação em nanotecnologia. Assim, o LNNano dedicou esforços para entender os potencias efeitos toxicológicos do óxido de grafeno (GO) sobre diferentes modelos de exposição ambiental, na presença e ausência de matéria orgânica (ácido húmico). Inicialmente foi realizada uma avançada caracterização do material GO obtido comercialmente através das técnicas de AFM, XRD, Raman, TGA e XPS, e foi monitorado sua estabilidade coloidal em diferentes meios de cultivo através das técnicas de DLS e UV-vis. Em seguida, foi realizado a avaliação da ecotoxicidade aguda do GO frente a nove diferentes organismos de exposição ambiental e comumente utilizados com bioindicadores de qualidade de água (*P. subcaptitata, L. minor, L. sativa, D. magna, A. salina, C. sancticaroli, H. attenuata, C. elegans, e Panagrolaimus sp*). Verificou-se que o GO estudado apresenta baixa ecotoxicidade aguda frente aos organismos estudados e baixa estabilidade coloidal nos meios de cultivo. Contudo, a presença de ácido húmico aumentou a estabilidade das dispersões de GO, como ilustrado na Figura 168. Através de estudos estatísticos e abordagens de avaliação de risco, determinamos valores de PNEC (*Predictive No Effect Concentration*) para o GO, sendo 20 µg/L (na ausência de ácido húmico) e 5 µg/L (na presença de ácido húmico). Estes valores de PNEC colaborarão para futuras tomadas de decisão durante a elaboração de valores máximos permitidos destes nanomateriais em compartimentos aquáticos. Este trabalho foi realizado em colaboração com Embrapa-Ambiente e foi publicado recentemente na *Environmental Toxicology and Chemistry* (2018).

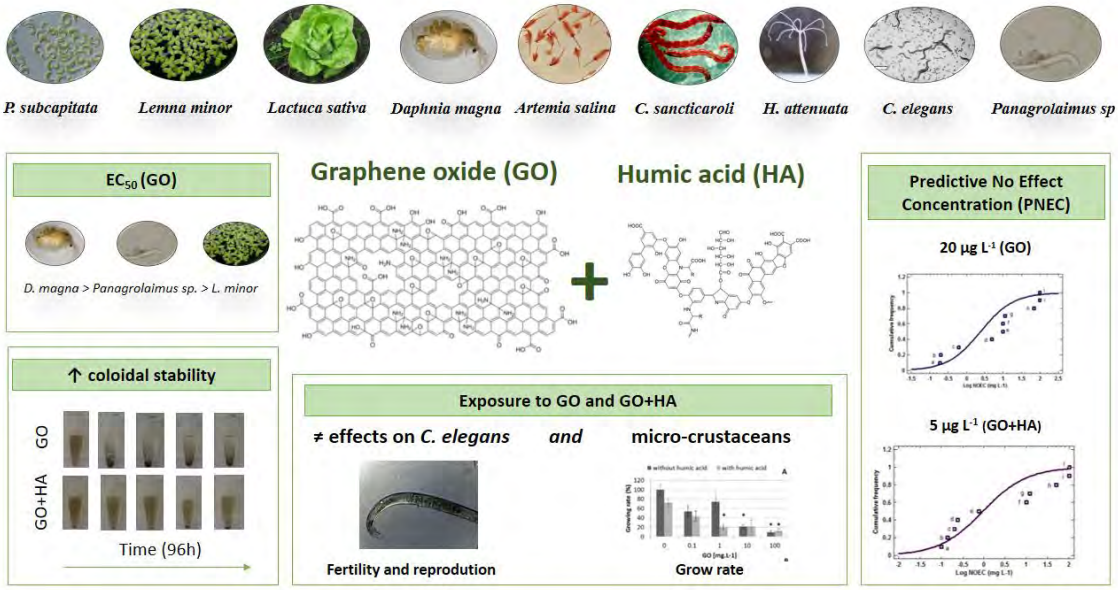


Figura 168. Nanoecotoxicidade do óxido de grafeno na presença e ausência de ácido húmico [*Environmental Toxicology and Chemistry*, 2018, DOI: 10.1002/etc.4145]

Estudar os impactos das transformações ambientais, como interação de nanomateriais com poluentes clássicos, tais como metais pesados e pesticidas, é um desafio para nanociência e nanotoxicologia ambiental. Neste sentido, demonstramos pela primeira vez que nanotubos de carbono de parede múltiplas oxidados (ox-MWCNT) podem interagir com íons Cd2+ aumentado a toxicidade deste metal para células de fígado de peixe (modelo Zebrafish). Todavia, foi demonstrado neste trabalho que é fundamental estabelecer protocolos robustos para estudos in vitro de co-exposição de nanomateriais com poluentes, uma vez que o protocolo de incubação no meio de cultura influência decisivamente na resposta toxicológica obtida. Este trabalho foi realizado em parceria com a UFSCar-São Carlos, e colabora na direção do desenvolvimento de métodos robustos para avaliação nanoecotoxicológica (Figura 169).

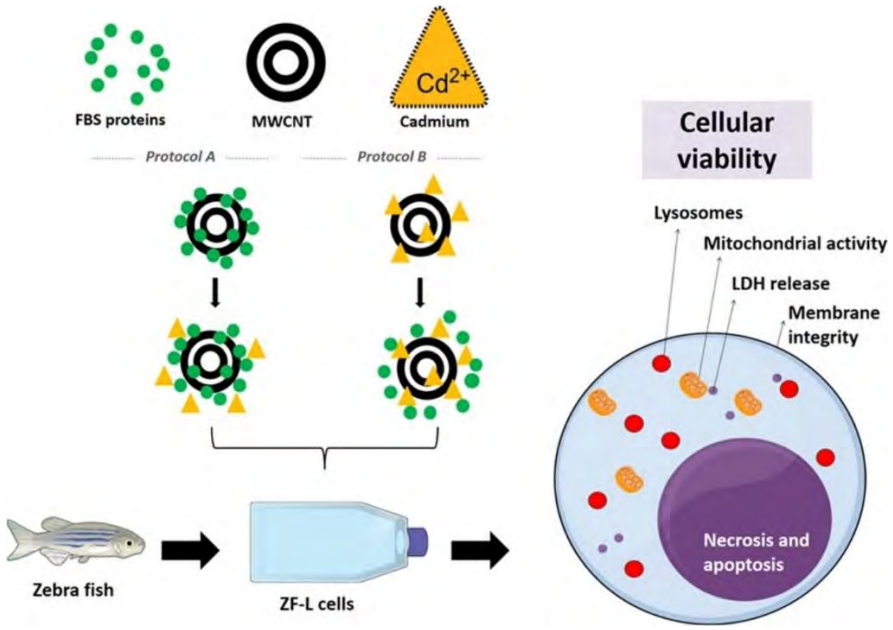


Figura 169. Interação de nanotubos de carbono oxidados com cádmio e avaliação dos impactos da co-exposição em células de fígado do peixe Zebrafish, onde foi demonstrado a influência de dois protocolos na determinação da toxicidade [*Aquatic Toxicology*, 2018, DOI: 10.1016/j.aquatox.2018.05.002]

Considerando a importância e relevância estratégica de entender a interação de nanomateriais com meio de cultura de células para área de nanotoxicologia, foi demonstrado pela primeira vez que a técnica avançada de Cryo-TEM pode ser empregada para avaliar o comportamento coloidal in situ de óxido de grafeno (GO) em meio de cultura (Figura 170). Além do emprego da técnica de Cryo-TEM, foram empregadas outras técnicas de caracterização como AFM, XPS, SDS-PAGE, LC-MS-MS para entendimento da formação da *protein corona* de soro fetal bovino (FBS) sobre a superfície do GO, dentro de uma perspectiva multitécnicas de caracterização. Este trabalho foi submetido para publicação e contou com a colaboração de pesquisadores do LNNano, LNBio e UFC-Fortaleza.

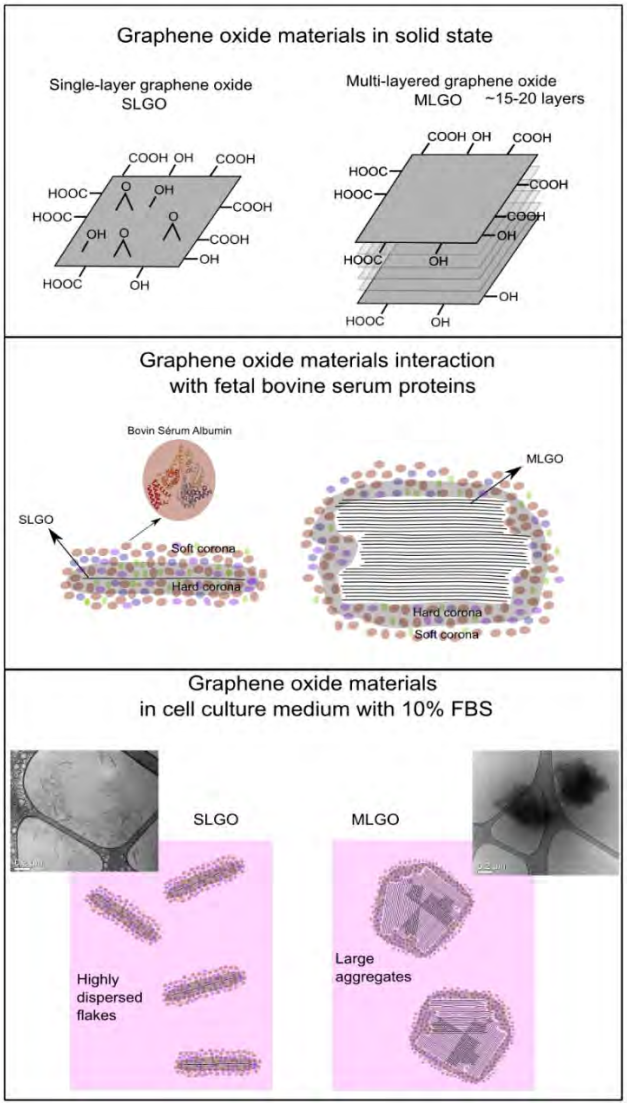


Figura 170. Estudo da interação de óxido de grafeno com meio de cultura de células e a formação da protein corona. Foi verificado neste trabalho a potencial aplicação da técnica de Cryo-TEM para suportar estudos de nanotoxicidade in vitro. Imagens de Cryo-TEM de amostras de *Single-layer graphene oxide* (SLGO) e *Multi-layered graphene oxide* (MLGO) dispersos em meio de cultura

Visando entender a influência da superfície química de nanomateriais na interação com proteínas e fluidos biológicos complexos (plasma humano), demonstramos que nanopartículas magnéticas de óxido ferro funcionalizadas com Európio (elemento terra-rara) são sistemas promissores para o desenvolvimento da nanobioprobes, mantendo suas propriedades de luminescência após a formação da *protein corona*. Verificamos através de técnicas integradas como, *Disc Centrifuge Sedimentation* (DCS), gel de eletroforese (SDS-PAGE) e espectroscopia de fluorescência (PL), que a funcionalização destas nanopartículas com este elemento terra-rara influência na composição da *protein corona* e comportamento coloidal. Este trabalho foi publicado na *ChemNanoMat* (2018), Figura 171.

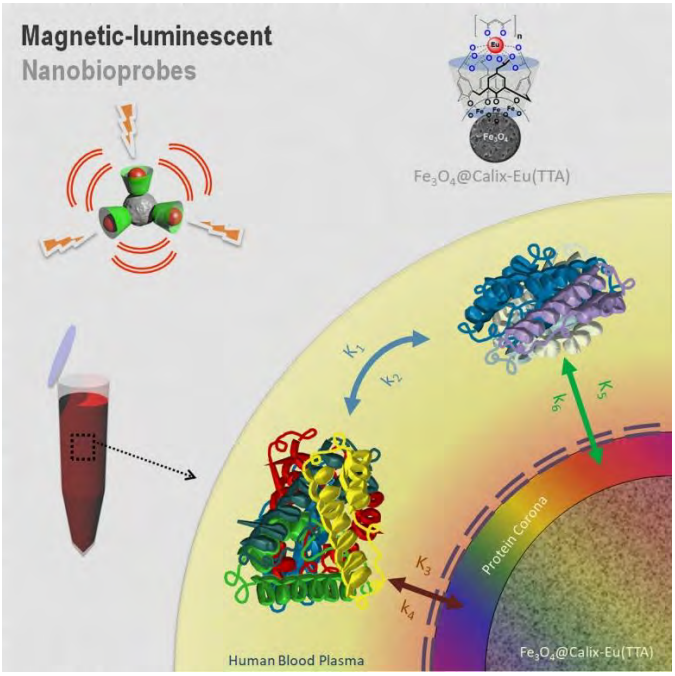


Figura 171. Estudo da formação da protein corona em nanopartículas magnéticas de óxido de ferro funcionalizadas com Európio após interação com proteínas do plasma humano [*ChemNanoMat*, 2018, DOI: 10.1002/cnma.201800358]

A compreensão dos processos de transformações de nanomateriais no ambiente é fundamental para a gestão dos seus riscos e impactos na saúde humana e ambiental. O ambiente terrestre é o principal destino de nanoprodutos. Neste contexto, demonstramos pela primeira vez na literatura que o material de carbono (*biochar*) produzido a partir da pirólise de bagaço-de-cana de açúcar é uma ferramenta promissora para aumentar a degradação de compósitos poliméricos contendo nanopartículas de prata (PHBV-AgNP) em solo tropical. Foi demonstrado que o *biochar* estimula da microbiota do solo e acelera a degradação dos nanocompósitos, bem como suprime efeitos deletérios das nanopartículas de prata sobre bactérias e fungos. Este trabalho abre a perspectiva para o emprego de *biochar* na remediação de solos contaminados com nanomateriais e compósitos poliméricos (Figura 172).

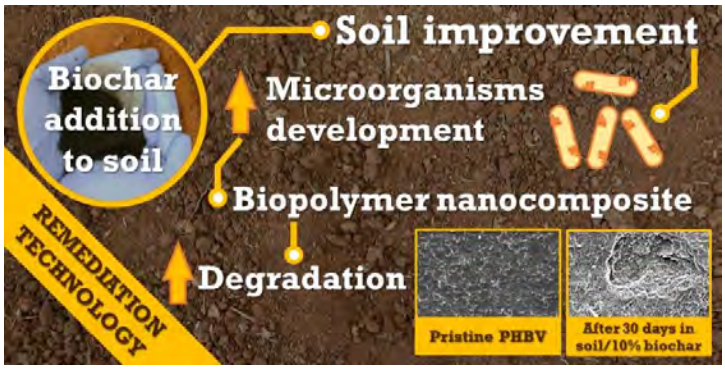


Figura 172. Efeito positivo da adição de biochar produzido a partir de bagaço de cana-de-açucar na degradação de nanocompósitos poliméricos (PHBV-AgNP) em solo tropical [*ACS Environmental Science & Technology*, 2018, DOI: 10.1021/acs.est.8b01524]

Por fim, ainda no âmbito deste programa, o LNNano também atua como colaborar da Embrapa no projeto ***"Avaliação nanoecotoxicológica do óxido de grafeno"***, apoiado pela FAPESP. O objetivo é avaliar efeitos ecotoxicológicos do óxido de grafeno (GO) na presença e na ausência de ácido húmico. Nanomateriais de grafeno (GMs), tais como óxido de grafeno (GO) e óxido de grafeno reduzido (rGO), estão tendo um rápido aumento em sua produção e aplicação, e a inevitável liberação de GMs em ambientes de água e solos podem afetar as comunidades microbianas e trazer riscos potenciais para o ecossistema. Assim, é imperativo compreender a interação entre os óxidos de grafeno e solos para entender a sua estabilidade, agregação e transformação nestes sistemas, e prever seus riscos.

No início de 2018, foram realizados os últimos bioensaios com diferentes organismos indicadores do meio aquático, e foi confirmado que a adição de ácido húmico a dispersões de nanopartículas de óxido de grafeno em água reduz a ecotoxicidade destas dispersões. O projeto trouxe como resultado primordial o entendimento das condições dos GOs no solo e a abertura de uma nova vertente técnica para estudos futuros de avaliação de riscos ambientais em solos, considerando o crescente uso pela indústria de outros nanomateriais a base de carbono.

Programa em Imagens em Nanoescalas

O projeto "***Estudos estruturais de alta resolução por criomicroscopia eletrônica de partículas isoladas*****"** visa a obtenção de informação estrutural de alta resolução de complexos macromoleculares por criomicroscopia de partículas isoladas, além de aplicações de criomicroscopia a nanomateriais, tal como o acompanhamento e entendimento do processo de nucleação de nanopartículas. Para estes estudos, serão também desenvolvidos procedimentos semiautomáticos para obtenção e validação dos resultados.

A técnica de criomicroscopia eletrônica permite a obtenção de estruturas de alta resolução de complexos macromoleculares, tendo ampla utilização no entendimento de processos biológicos e, portanto, com importante aplicação no desenvolvimento de fármacos. Espera-se que, ao longo dos próximos anos, o uso rotineiro desta técnica permita o melhor entendimento de dezenas de complexos macromoleculares de relevância biológica e, potencialmente, farmacêutica.

O estudo de complexos macromoleculares, através da técnica de criomicroscopia eletrônica, vem sendo desenvolvido através da análise de diferentes complexos macromoleculares. Ao longo de 2018, foi obtido um avanço importante no estudo do complexo de iniciação da transcrição (complexo RP), envolvendo RNA polimerase e DNA.

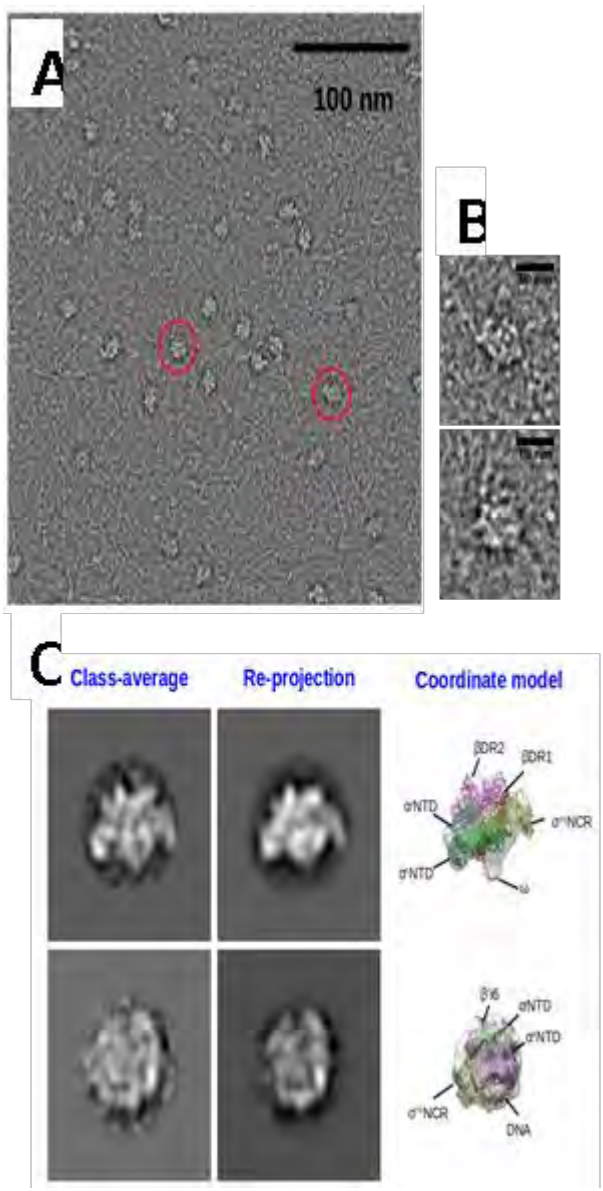


Figura 173. Enovelamento de DNA em RNA Polimerase. A) imagem típica obtida em amostra contrastada negativamente do complexo de iniciação da transcrição, envolvendo RNA polimerase e DNA; B) imagens de partículas obtidas; C) médias de classes de partículas, reprojeções da reconstrução obtida e o mapa de densidades juntamente com o modelo ajustado. Cada linha apresenta uma diferente orientação do complexo

A formação deste complexo é o primeiro passo na expressão gênica e um importante ponto de regulação, em todos os organismos vivos. Em bactérias, foi proposto por estudos bioquímicos, que o enovelamento do DNA promotor em torno da RNA polimerase (RNAP) de *E. coli*, fenômeno conhecido como enovelamento do DNA (DNA *wrapping*), poderia facilitar a abertura da bolha do DNA promotor além de atuar como regulador na transcrição do DNA em RNA. Ao longo de 2017, foi obtido o conjunto de dados de microscopia do complexo, preparado por contrastação negativa, e em 2018 obtivemos o primeiro modelo 3D conhecido do complexo. Para isso, conjuntos de dados foram obtidos utilizando-se o microscópio JEM-2100 (JEOL, Japão), com fonte

termiônica e equipado com uma câmera F-416 (TVIPS, Alemanha). Foram coletadas 500 micrografias com tamanho de pixel de 1.78 Å. Após a coleta de dados, foi utilizada a técnica de análise de partículas isoladas, através da qual foi obtido um modelo a 17 Å de resolução, onde pode ser observado o enovelamento (*wrapping*) do DNA no complexo RP. Foi feito um ajuste de corpo rígido utilizando-se a estrutura do complexo de iniciação da transcrição de *E. coli* (4YLN), que inclui o DNA até a posição -35. O restante do DNA foi modelado de acordo com a sequência do promotor e utilizando-se a alta densidade observada na reconstrução 3D. No modelo obtido, o DNA promotor se enovela cerca de 32 nm ao redor da superfície da RNAP, implicando em 245° de enovelamento do mesmo (Figura 173 e Figura 174). Estes resultados mostraram-se em completa concordância com as informações bioquímicas existentes para este complexo, como por exemplo a distância de 11 nm existente entre as extremidades do DNA.

Os resultados deste estudo mostram, pela primeira vez, um modelo completo do complexo de iniciação da transcrição. Estes resultados estão sendo analisados e preparados para publicação. Para o próximo ano, pretende-se utilizar a nova infraestrutura de criomicroscópios do LNNano para realizar um estudo deste complexo por criomicroscopia, permitindo uma maior resolução no modelo obtido e o melhor entendimento dos contatos entre RNA polimerase e DNA.

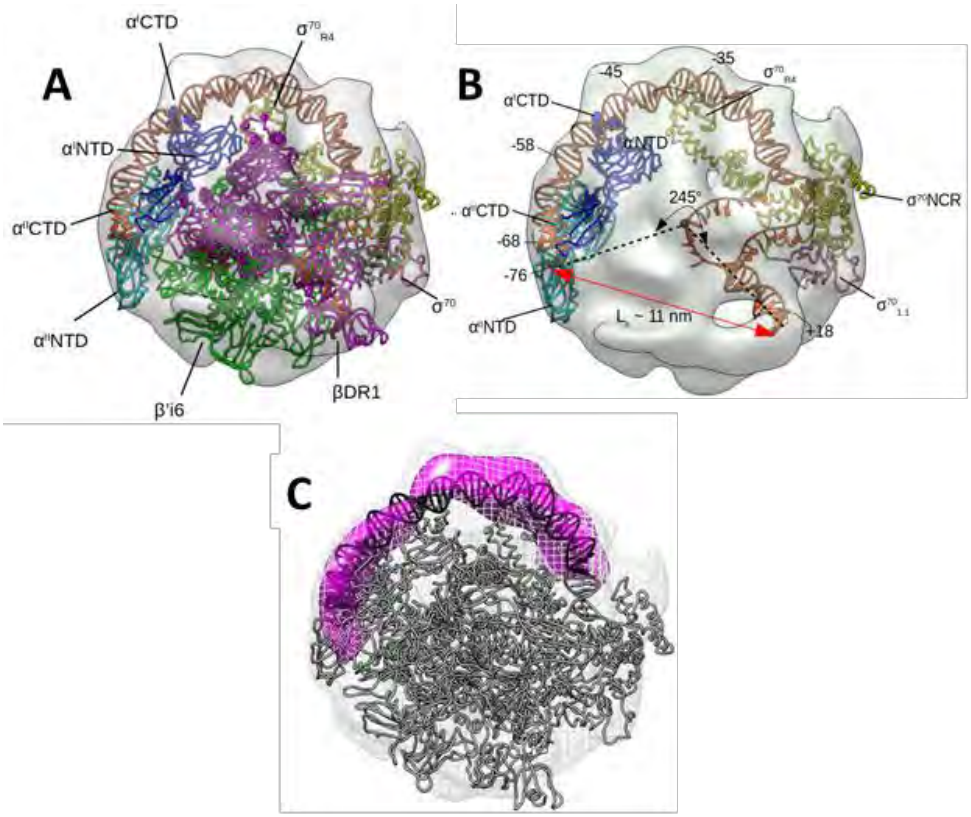


Figura 174. Estrutura do complexo de iniciação da transcrição, envolvendo RNA polimerase e DNA. A reconstrução, a 17 Å de resolução, obtida por análise de partículas isoladas é mostrada em cinza. Também são visualizados: A) modelo pseudoatômico completo, com indicação das subunidades da RNAP e DNA; B) subunidades da RNAP e DNA que foram incorporados à estrutura cristalográfica da RNAP; C) modelo pseudoatômico e região de alta densidade da reconstrução (rosa), devido ao maior acúmulo de acetato de uranila na região onde o DNA está presente

A técnica de criomicroscopia eletrônica é uma importante fonte de informação estrutural de complexos macromoleculares. Entretanto, a obtenção de informação de alta resolução pode ser limitada por fatores inerentes à técnica, como por exemplo, o dano causado na amostra, devido à interação com o feixe de elétrons. O projeto **"*Investigação de aspectos fundamentais limitantes de resolução em criomicroscopia eletrônica*"** tem como objetivo investigar aspectos limitantes à obtenção de alta resolução em criomicroscopia de partículas isoladas. Neste sentido, busca-se o entendimento dos fenômenos associados à interação do feixe de elétrons com a amostra, incluindo os efeitos de fluxo, alterações na estrutura do gelo amorfo e danos diretos às macromoléculas. O desenvolvimento de novos materiais para *grids*, que minimizem a sua movimentação, e entendimento da interação da amostra com o *grid* e dos fenômenos na interface ar-água também serão alvos deste projeto.

Com o avanço da tecnologia dos microscópios eletrônicos de transmissão e introdução de novas tecnologias como os detectores diretos, o limite de resolução dos resultados obtidos passou a depender de novos aspectos, em função da maior resolução das medidas. Entre estes aspectos, estão a estabilidade da grade de microscopia durante a interação com o feixe de elétrons, a distribuição da amostra na grade e o melhor entendimento do dano causado pela interação da amostra com o feixe e à própria estrutura do gelo amorfo.

O melhor entendimento dos fatores limitantes à resolução, na técnica de criomicroscopia eletrônica, poderá levar a soluções que permitirão o avanço da técnica. Além das contribuições fundamentais para a área de pesquisa em criomicroscopia, este projeto irá contribuir para a melhoria da rotina de aquisição de dados da instalação aberta de criomicroscopia do LNNano. Esta passará a contar com métodos e *know-how* que permitirão maior qualidade nos conjuntos de dados coletados para os projetos de pesquisa interna, usuários externos e empresas que busquem serviços ou projetos em parceria.

Neste período, foi finalizada a análise do estudo de dano causado pela interação do feixe de elétrons com proteínas através da utilização de Espectroscopia por Perda de Energia do Elétron (*Electron Energy Loss Spectroscopy – EELS*). Os dados foram coletados em temperatura ambiente no microscópio JEM-2100F (JEOL, Japão) equipado com um filtro 863 GIF Tridiem (Gatan, EUA), utilizando-se uma proteína padrão.

As análises mostraram que o dano observado, por EELS, em diferentes grupos químicos da proteína, é equivalente ao que vem sendo reportado através de observação direta em estruturas obtidas pela técnica de criomicroscopia de partículas isoladas. Tipicamente, aminoácidos polares ácidos, que possuem grupos carboxila, são os mais danificados e os aminoácidos que possuem grupos aromáticos são os menos danificados (Figura 175). O estudo introduz o uso da técnica de EELS como importante ferramenta para a análise e entendimento do dano causado em proteínas, durante as análises de criomicroscopia eletrônica, além de sugerir condições experimentais que causem menor dano. Os resultados estão em fase final de análise e preparação para publicação.

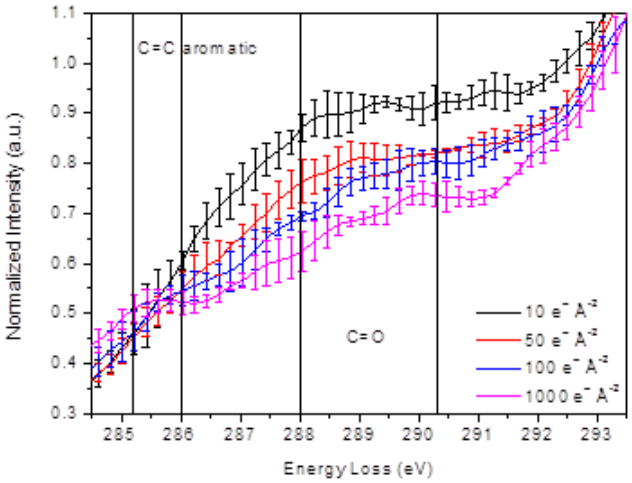


Figura 175. Espectros de sinal EELS para uma proteína padrão exposta a diferentes doses de elétrons. Os resultados para danos em C=C aromático e C=O são condizentes com os observados em estudos de análise de partículas isoladas

Este ano, também houve avanços no estudo de modificação química da superfície de substratos de grades de criomicroscopia. Essas modificações são utilizadas para evitar a adsorção de amostras ao substrato da grade. Isso ocorre porque algumas proteínas e materiais podem interagir fortemente e de forma indesejada com a superfície do substrato, consequentemente sendo excluídas da região interna dos buracos. No caso de proteínas, essa interação pode também induzir uma orientação preferencial nas moléculas. Todos desses fatores podem limitar a observação de nanoestruturas, como no caso de lipossomas, ou a determinação da estrutura proteica em alta resolução.

Para isso foi estabelecido um protocolo para modificação química da superfície do substrato de carbono, com a utilização de cobertura de ouro para permitir a ligação de diferentes moléculas. Após a modificação do substrato de carbono, as grades forma submetidas à diferentes análises, conforme Figura 176.

Para realização de testes das grades produzidas foram utilizados lipossomos que possuem afinidade com o carbono. Como exemplo, após o tratamento com uma das moléculas utilizadas, foi possível observar um maior preenchimento dos buracos da grade quando comparado com uma grade sem tratamento (Figura 177).

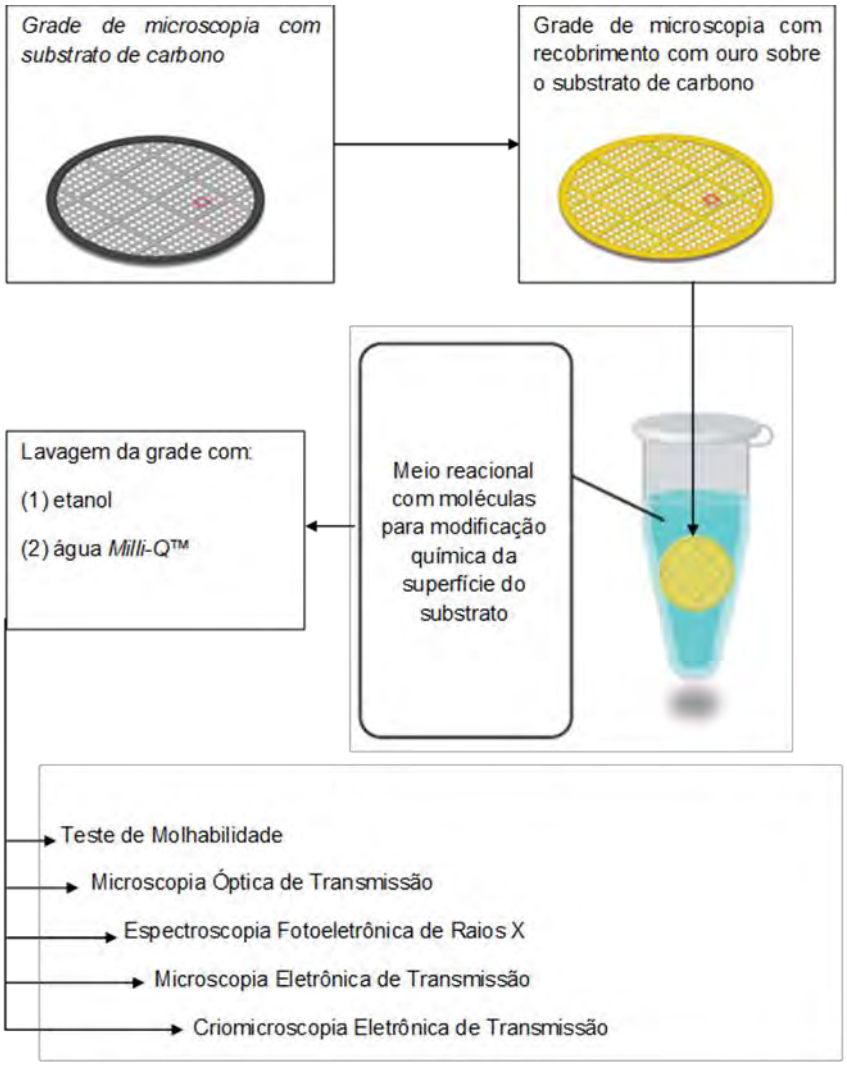


Figura 176. Representação do protocolo para modificação química de substratos para grades de criomicroscopia. Os testes e as análises realizados com as grades modificadas estão indicados

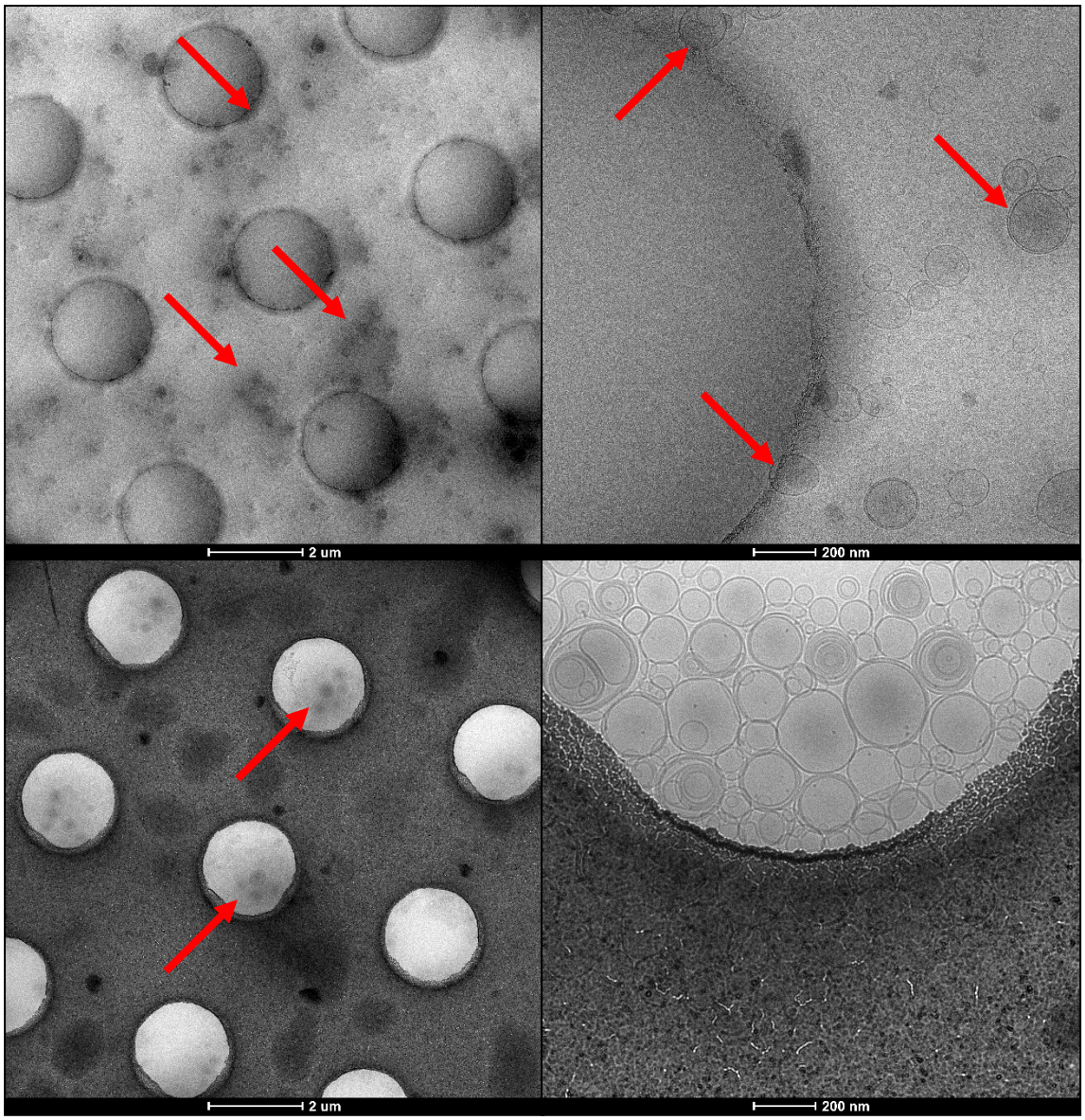


Figura 177. Lipossomas em uma grade de microscopia com substrato de carbono (A1 e A2) e em uma grade com substrato de carbono quimicamente modificado (B1 e B2). A concentração de amostra é a mesma nos dois casos e pode-se observar um maior preenchimento dos buracos da grade nas imagens B1 e B2. As setas vermelhas indicam a presença de lipossomos

No ano de 2018, iniciou-se também a investigação da estrutura do gelo amorfo, onde as proteínas estão imersas durante a análise de criomicroscopia, em função da interação com o feixe de elétrons. Para isso, a técnica de *Pair Distribution Function* (PDF) está sendo utilizada. Resultados preliminares mostram que o uso desta técnica pode ser um importante aliado no entendimento dos processos que ocorrem no gelo amorfo, durante a aquisição de dados, entre estes, o efeito do fluxo de elétrons.

O projeto "***Desenvolvimento de metodologias orientadas para otimização e integração de instrumentação***" visa propor novas metodologias nas áreas de normalização de dados de câmeras, correção de CTF, integração de teorias de *P-*

spectrum e *S-spectrum* em microscopia, alinhamento de filmes de dados obtidos por detectores diretos. O *Fourier Ring Correlation* (FRC) e o *Fourier Shell Correlation* (FSC) são os padrões ouro de resolução para avaliar os resultados de coleções de dados 2D e 3D. Uma regra-de-ouro empírica de "2/3 do Nyquist" foi estabelecida para aplicação das métricas de FRC/FSC.

A instrumentação de criomicroscopia representa um grande investimento para qualquer país e a otimização da coleta de dados representa uma ação necessária, considerando-se o uso responsável destes recursos. Análises preliminares de diferentes conjuntos de dados foram realizadas e estão exemplificadas nas Figura 179 e Figura 180. A regra-de-ouro empírica de "2/3 do Nyquist" foi estabelecida para as métricas de FRC/FSC há décadas, entretanto vários publicações recentes tornam este tema controverso.

Em suma, se o teorema de amostragem é honrado, o FSC demonstra comportamento teórico perfeito (Figura 181 A). Se, no entanto, os dados são "*coarsened"* usando médias de 4 *pixels* (caso 2D), ou de 8 *voxels* (no caso 3D), e posteriormente expandidos para seu tamanho original (incorporando uma extensão com zeros no espaço de Fourier), nota-se a presença de artefatos nos cálculos do FRC/FSC. Caso as informações nos cantos do espaço cartesiano (2D ou 3D) não forem descartadas, o resultado da análise FRC/FSC pode sugerir resolução além da máxima isotrópica possível.

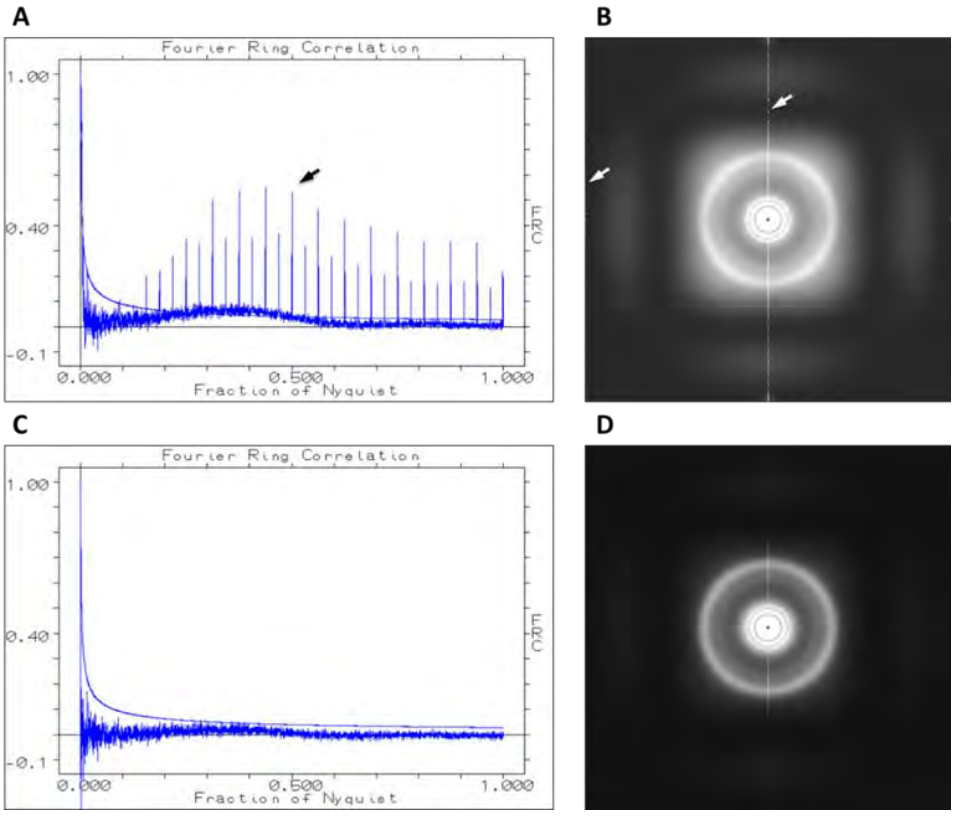


Figura 178. Normalização "a posteriori" da câmera Gatan K2 (conjunto de dados: EMPIAR-10025) em modo de super-resolução. O "P-spectrum" mostra claramente a existência das características de "aliasing", neste modo de coleção de dados (o quadrado escuro em torno do centro do espectro). Vários artefatos foram visualizados: marcado com uma flecha preta em (A), o gráfico de "Fourier Ring Correlation" (FRC) de duas medias de dados coletados em modo filme; em (B) o mesmo artefato periódico causa picos marcado com flechas brancas. Após da correção "a posteriori", esses artefatos somem quase completamente do conjunto de dados (publicação em preparação)

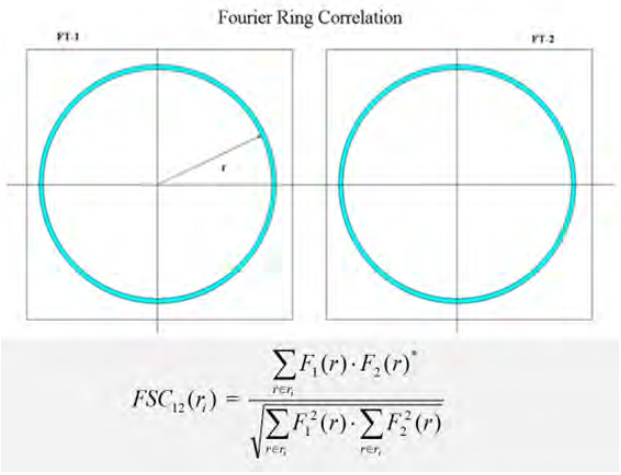


Figura 179. A *Fourier Ring Correlation* (FRC) é uma métrica isotrópica de resolução que trata todos as direções no espaço de Fourier igualmente, sendo medida em anéis concêntricos no espaço de Fourier. O sistema de coordenadas cartesiano utilizado, e aqui simbolizado pelo fundo quadrado, não é isotrópico já que as informações cobertas nos cantos (direções diagonais) podem estender-se mais do que nas direções laterais. Em 2D (FRC), os cantos do espaço de Fourier 2D se estende para √2 vezes a distância para suas bordas. Em 3D (FSC) os cantos do espaço de Fourier encontram-se em √3 da distância aos lados do cubo

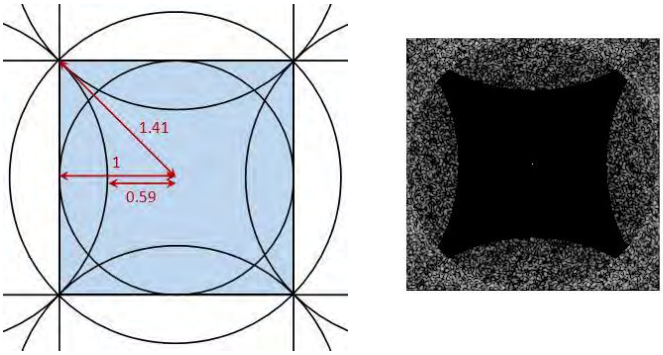
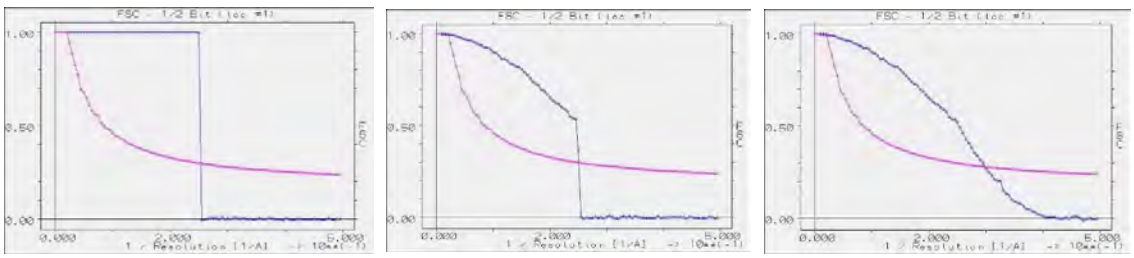


Figura 180. Esboço da transformada de Fourier de uma imagem subamostrada (azul). A frequência de Nyquist é representada pelo círculo interno (raio 1) e a frequência nos cantos da imagem é representada pelo círculo externo (raio 1,41). As informações acima da frequência de Nyquist são dobradas devido ao artefato wrap-around. O recuo de curvatura máximo vai até 0,59 da frequência de Nyquist. (b) Espectro de potência do experimento do segundo modelo. O artefato wrap-around de frequências entre a frequência de Nyquist e a frequência nos cantos da imagem torna-se visível



A **B** **C**

Figura 181. (A) FRC sem a subamostragem. (B) FRC após simular a subamostragem de uma imagem de referência por "coarsening" e redimensionar no espaço de Fourier da imagem. A menor correlação devido a artefatos wrap-around pode ser vista. (C) Mesma comparação de FRC como em (B), só que não foram explicitamente cortadas as informações encontradas nos cantos do espaço cartesiano

O projeto **"*Desenvolvimento de metodologias para processamento de dados de criomicroscopia eletrônica de partículas isoladas*"** dedica-se ao desenvolvimento de novos métodos de processamento capazes de explorar grandes conjuntos de dados de criomicroscopia (*Big Data*). Tais metodologias devem ser aplicadas tanto a amostras de complexos macromoleculares, quanto nucleação de nanopartículas. Estruturas de alta flexibilidade possuem diversas conformações, o que pode ser um fator limitante para a resolução de estruturas de criomicroscopia eletrônica (crio-EM). Por exemplo a visualização de glicosídeos, cadeias longas de açúcar altamente flexíveis, em mapas de crio-EM é um grande desafio.

Muitas metodologias já desenvolvidas não são aplicadas corretamente, ocasionando consequências práticas. Para aumentar a resolução de estruturas obtidas por crio-EM, é necessário melhorar a resolução de regiões específicas, como àquelas de alta flexibilidade. Por exemplo, partes flexíveis de uma estrutura apresentam, por um lado, uma diminuição da resolução local, mas, por outro lado, podem indicar as áreas ativas de um complexo, fundamentais para a ação biológica. Uma das formas de definir estas regiões é pela medida de *Fourier Shell Correlation Local* (FSC Local). No âmbito deste projeto foi desenvolvido uma nova versão do programa para cálculo da *Fourier Shell Correlation / Ring Correlation* (FSC/FRC) que permite elucidar a informação local de uma estrutura. Esse programa, desenvolvido em colaboração com pesquisadores *da Image Scienc*e em Berlin, já demonstrou identificar as posições em que as proteínas são glicosiladas (Figura 182).

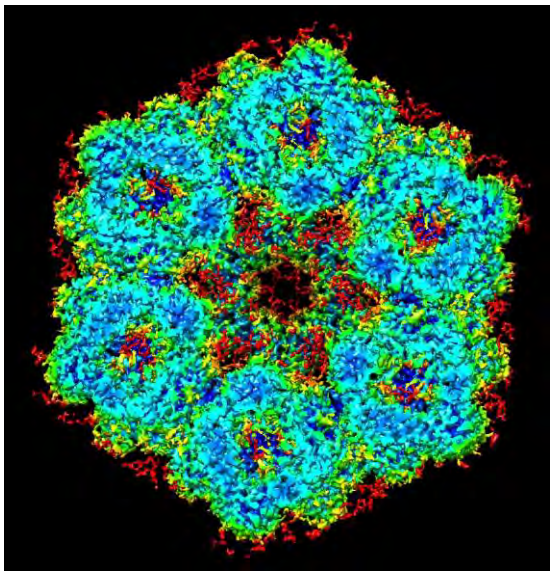


Figura 182. Glicosilações em hemoglobina gigante de Lumbricus terrestris. As partes marcadas em vermelho foram quase todas associadas a sítios de glicosilação da proteína. A "textura" desses açúcares é visivelmente diferente da textura típica de proteínas. As partes marcadas em azul são partes mais estáveis, constituídas principalmente por barris beta

Os sítios de glicosilação na hemoglobina gigante de *Lumbricus terrestres* foi elucidado, realizando o "*fitting*" do modelo atômico no mapa obtido por crio-EM e utilizando a métrica de FSC local para auxiliar na definição das subunidades de oligossacarídeos presentes. Para isso, utilizou-se a predição e validação das estruturas dos aminoácidos ausentes nos *linker chains* do modelo. A estrutura predita foi avaliada esteroquímicamente para posterior *fitting* no mapa de densidade. Na segunda etapa, a busca por possíveis sítios de glicosilação com base na estrutura primária da hemoglobina resultou em estruturas preliminares dos glicosídeos conforme o mapa de densidade. Foram identificados ao menos 22 possíveis sítios de O-glicosilação e de N-glicosilação. O carboidrato cuja densidade se encontra mais evidente apresenta uma subunidade de N-acetil glicosamina (GlcNac) como primeiro membro. De acordo com o FSC local, esta região possui alta consistência entre os mapas de crio-EM (Figura 183).

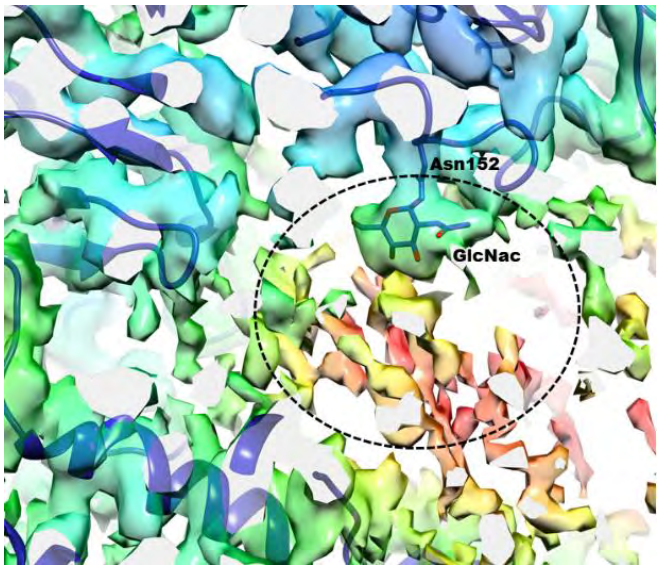


Figura 183. Fitting do modelo atômico da hemoglobina no mapa de crio-EM. É possível visualizar a primeira subunidade do carboidrato ligado à Asn152, N-acetilglicosamina. Nesta região o mapa está colorido da cor azul, característico de regiões com alto FSC local. Densidades vizinhas à primeira subunidade estão presentes sugerindo a presença de outras subunidades do carboidrato

Os possíveis sítios encontrados na estrutura estão presentes na região do barril de folhas-β, uma das razões para a estabilidade da primeira subunidade do oligossacarídeo. Todos os N-glicosídeos estão presentes nos *linker chains*, que apresentam um importante papel na oligomerização da hemoglobina. Estas evidências e comparações com estruturas da mesma família sugerem que estes sítios estão envolvidos com o processo de montagem do oligômero da hemoglobina (Figura 184).

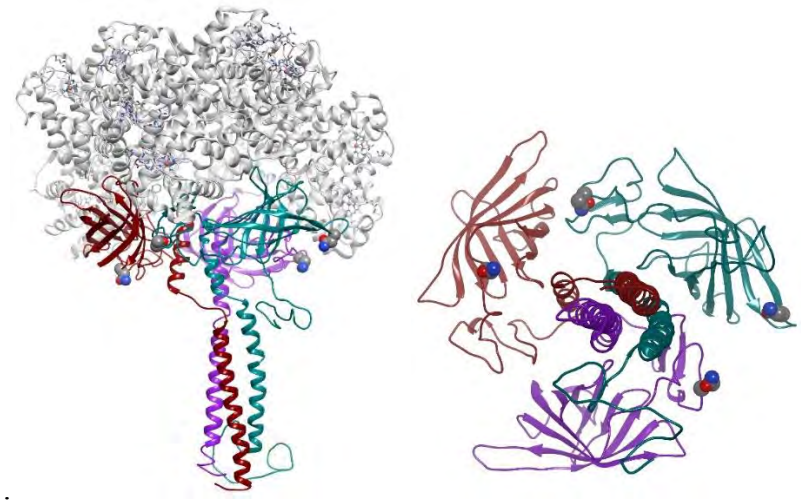


Figura 184. Foram localizados 4 sítios de glicosilação presentes nos barris de folha-β dos linker chains, localizados em regiões periféricas. Os resultados sugerem que o posicionamento pode estar associado com o processo de oligomerização da hemoglobina

4.4. Apoio à geração de inovação

Em 2018, foram operacionalizados todos os documentos e procedimentos relacionados ao contato com empresas para estabelecimento de parcerias em projetos e serviços. Esta ação coloca em prática os requisitos determinados pela norma ABNT NBR 17025:2017, que deverá ser acreditada no LNNano já no semestre de 2019.

Ao longo de 2018, o LNNano registrou um novo pedido de patente de invenção, no Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), denominada *Formulação de adesivos verdes para diferentes substratos e seus usos* (BR 10 2018 009673-7). Esta invenção originou-se dos esforços da pesquisa interna do Laboratório e se refere a adesivos verdes ambientalmente sustentáveis produzidos por uma mistura de látex de borracha natural, lignina e nanopartículas de celulose.

O *workshop* **"*Potencialidades do LNNano*"**, realizado no Campus em agosto deste ano, foi totalmente dedicado a convidados do setor privado. Nesta oportunidade, a infraestrutura e competências do Laboratório foram apresentadas para empresas dos setores farmacêutico, especialidades químicas, polímeros e elastômeros, automotivo, aeroespacial, alimentos e ingredientes e HPPC.

Atualmente a carteira de projeto do LNNano conta com 15 projetos vigentes em parceria com empresas do setor privado. Este ano também se deu início ao primeiro projeto do LNNano no escopo da Unidade Embrapii CNPEM (Projeto Cargas Poliméricas Verdes). Além disso, segue em andamento três projetos fomentados pela Rede de Centros de Inovação do Sistema Brasileiro de Tecnologia – Sibratec.

Entre os projetos iniciados em 2018 destacam-se dois novos projetos na área de microfluídica realizados em parceria com a Petrobras. Ambos estão voltados para

solucionar problemas relacionados à extração e processamento de petróleo no ambiente pré-sal.

4.4.1. Projetos desenvolvidos em parceria com empresas

O projeto "***Sensor de atividade de água baseado em ondas acústicas superficiais com elemento sensível feito com nanofilme de óxido de grafeno***" é desenvolvido em parceria com a empresa CompLine Informática Ltda e conta com recursos da FUNDEP no âmbito da rede SibratecNano. Este projeto visa desenvolver dispositivo portátil para medir com alta precisão a atividade de água em diferentes substratos (como alimentos e produtos da cadeia do agronegócio). Este desenvolvimento permitirá o uso dos dispositivos a partir de nanofilmes sensíveis para obtenção de medidas de umidade com alta velocidade de resposta, alta sensibilidade e estabilidade.

Em 2018, consolidou-se a incorporação do elemento sensor na matriz microfabricada concebida pela empresa. Para este protótipo também foram realizados os primeiros testes em campo, incluindo testes elétricos do protótipo funcional do sensor que forneceram *feedback* para os processos de síntese e integração, calibração do sensor (incluindo analise de repetibilidade e sensibilidade) e para o teste do sensor desenvolvido em condições de campo. Este projeto está em fase final e prevê a transferência e licenciamento da tecnologia para a empresa.

O projeto **"*Análise de compostos oxigenados em amostras da indústria de petróleo*"**, realizado em parceria Petrobras S.A, visa desenvolver uma plataforma microfluídica para quantificar traços dos reagentes etanol e monoetilenoglicol (MEG) presentes em amostras de condensado de gás natural. Ambos os reagentes são adicionados em tubulações de exploração de gás natural para evitar incrustação decorrente da formação de hidratos, carbonatos e sulfatos de metais alcalinos terrosos. Uma extração ultrarrápida líquido-líquido assistida por turbulência em microfluídica (Figura 185), desenvolvida no LNNano, foi empregada para transferir o MEG do condensado para uma fase aquosa eletrolítica, e posteriormente foi efetuada a quantificação eletroquímica dos álcoois através do uso de nanopartículas de $Ni(OH)_2$ sobre eletrodos de Ni em dispositivos microfluídicos de PDMS.

Em 2018, foram testadas várias plataformas microfluídicas eletroquímicas cujos resultados permitiram a escolha do melhor sistema para análise simultânea de etanol e MEG em soluções individuais, e em suas misturas. As primeiras abordagens indicaram que os sensores do tipo língua eletrônica mostraram-se bastante sensíveis, mas com limites de linearidade baixos, e são opções potenciais apenas para amostras ultradiluídas. Em seguida foi estudado um marcador chamado ferroceno borônico ácido, que é uma excelente alternativa para moléculas com grupos dióis como MEG; porém, houve interferência para estas soluções quando na presença de etanol, diminuindo a atividade eletroquímica. A próxima abordagem testada foram sistemas de célula combustível para eletro-oxidação de álcoois, onde concentrações muito baixas (6 ppm) puderam ser detectadas e sem saturação do sinal eletroquímico. Apesar de todos os experimentos, não foi possível determinar especificamente cada reagente em misturas,

de modo que o projeto demandou experimentos complementares realizados ao longo do segundo semestre. A última abordagem testada utilizou eletrodos modificados com hidróxido de níquel e apresentou bons resultados para determinação de oxigenados totais de soluções de misturas. Os próximos esforços em 2019 serão direcionados para o desenvolvimento de um método analítico para esse sistema.

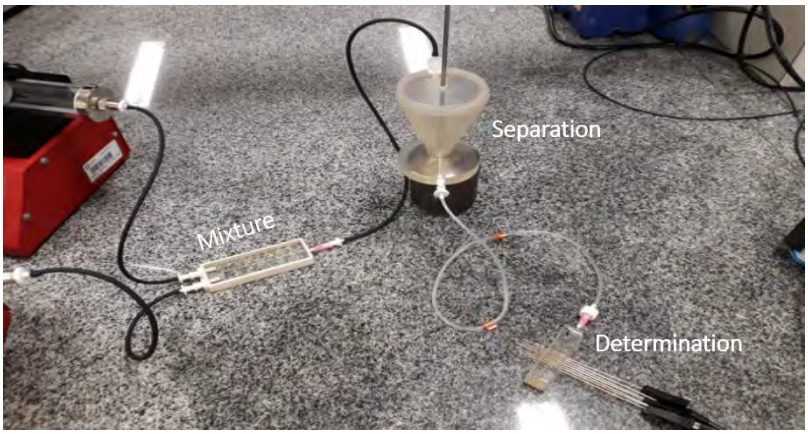


Figura 185. Esquema integrado microfluídico. Esquerda: chip de extração e funil de separação, preparados pela técnica de PSR e impressão 3D. Direita, canto inferior: chip microfluídico eletroquímico de detecção das amostras oxigenadas

O projeto **"*Destilação de volumes reduzidos de petróleo*", ** realizado em parceria com a Petrobras, visa desenvolver um destilador microfluídico que permita a destilação fracionada de volumes reduzidos de petróleo (< 2 mL), contendo todos os componentes da destilação convencional, e que possa sofrer posterior integração com outras técnicas de caracterização, como espectrometria de massas e cromatografia.

Ao longo de 2018, foi desenvolvido um sistema de destilação de volumes reduzidos de amostra baseado em um balão volumétrico de 2 mL como frasco de destilação, usando aquecimento por indução eletromagnética. Este processo permitiu atingir temperaturas da ordem de 350°C e proporcionar a destilação de uma amostra de petróleo. Após 10 minutos, 6 frações foram obtidas com diferentes aspectos, tornando-se mais escuras ao longo do aumento do tempo de processo, como pode ser visualizado na Figura 186. Essas frações foram analisadas por GC-MS, e foi observada a presença de hidrocarbonetos gradualmente mais pesados, com maior número de carbonos (C) nas frações retiradas em maior tempo de destilação. No entanto, cada fração apresentou baixa resolução de separação, o que é esperado por se tratar de uma destilação simples. Neste contexto, em 2019 haverá a continuação do trabalho com o acoplamento de uma coluna de fracionamento ao sistema, visando otimizar a separação. Será investigada a possibilidade de uso de micro e nanopartículas de diferentes naturezas como material de empacotamento dessa coluna.

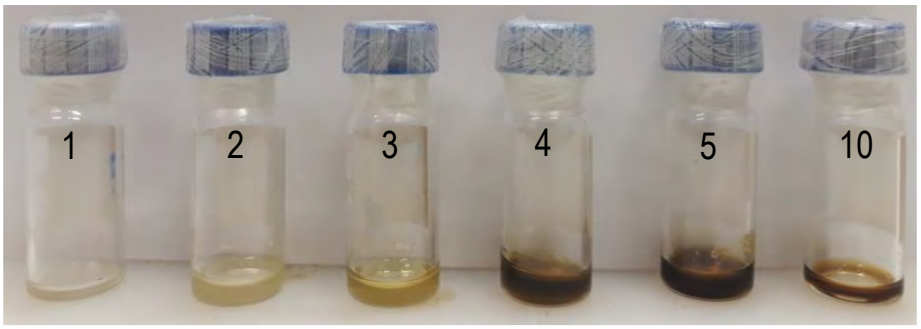


Figura 186. Frações obtidas sequencialmente por destilação em balão de 2 mL. Os números nos frascos indicam em qual tempo (min) do processo as frações foram coletadas

O projeto ***"SAP II - Desenvolvimento de sistemas microfluídicos para a extração de espécies presentes no petróleo e separação de fases presentes em emulsões, e análises subsequentes"*** realizado em colaboração com a Petrobras visa desenvolver um sistema capaz de separar a água presente em baixas quantidades em amostras de petróleo para posterior caracterização desta fase aquosa por meio de técnicas de análise com alta sensibilidade e que requeiram mínimas quantidades de amostra.

Em 2018, teve início as atividades de separação das fases óleo e água presentes em amostras de petróleo por meio de uma extração líquido-líquido seguida de centrifugação, usando chips microfluídicos produzidos por impressão 3D ou, alternativamente, placas de microfluídica digital. A partir do próximo ano, técnicas instrumentais como eletroforese, cromatografia e potenciometria com eletrodos de membrana seletiva serão aplicadas para caracterização da fase aquosa, incluindo a detecção de espécies iônicas e ácidas. Alternativamente, unidades funcionais de detecção (por exemplo, eletrodos) serão integradas ao sistema de centrifugação, de maneira a permitir também a realização de ensaios analíticos no próprio microdispositivo. Para a abordagem da extração líquido/líquido aplicada em sistemas microfluídicos, avalia-se o uso de resina epóxi baseada em bisfenol A e de resinas fotopolimerizáveis, que possam ser manuseadas em impressoras 3D com tecnologia SLA (*stereoLitography aparatus*). Essa técnica tem a vantagem de produção de plataformas microfluídicas em uma única etapa automática, como mostra a Figura 187.

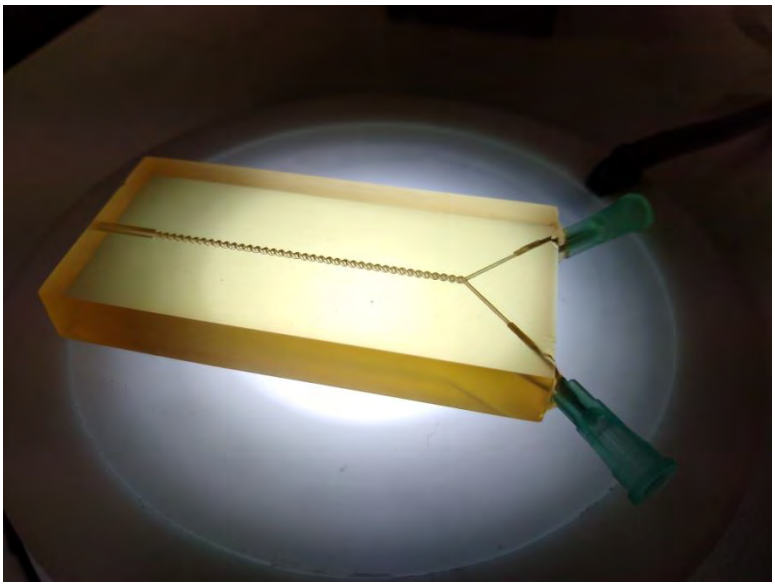


Figura 187. Dispositivo microfluídico de separação fabricado por impressão 3D

O projeto **"*Dispositivos eletroquímicos microfluídicos para determinação de insumos químicos empregados na indústria do petróleo*"**, também desenvolvido em parceria com a Petrobras, visa desenvolver métodos eletroanalíticos instrumentais em dispositivos microfluídicos para análises preliminares (*screening analyses*) semi-quantitativas e quantitativas de diversos insumos químicos usados na indústria do petróleo, incluindo inibidores de corrosão e incrustação, sequestrantes de H_2S e O_2 e biocidas.

Este projeto está em fase de conclusão e as plataformas desenvolvidas consistem de línguas eletrônicas voltamétricas, ao passo que as análises são realizadas em fluxo hidrodinâmico e por gotejamento em chips de vidro/polímero e papel, respectivamente. O sensor se baseia em uma única medida e evita quaisquer modificações químicas de superfície do eletrodo. Os dispositivos foram obtidos em polidimetilsiloxano (PDMS) por meio de uma prototipagem livre de ambiente de 'sala-limpa', que consistiu essencialmente em etapas de polimerização e remoção de *scaffold* (PSR, *polymerization and scaffold removal*). A classificação dos insumos petroquímicos puros foi alcançada satisfatoriamente pelo uso do dispositivo microfluídico empregando língua eletrônica contendo, como unidades sensíveis, minas lápis de grafite de durezas específicas, cuja produção em massa já é bem estabelecida na indústria. Essas minas são comumente usadas em desenhos profissionais por possibilitarem a escrita de padrões com diferentes larguras e cores na escala de cinza. A diversificação nos sinais analíticos de capacitância foi assegurada pelas diferentes áreas superficiais, composições e resistividades elétricas das minas, como indicaram análises por AFM, espectroscopia Raman, EDS e impedância, realizadas ao longo de 2018. A discrepância nessas propriedades se deve às razões grafite/argila específicas de cada mina, as quais definem a sua dureza conforme categorizada pela escala de graduações de grafite (9H a 9B). Usando 5 capacitores constituídos de diferentes graduações de mina (2H, F, HB, B e 4B) como sondas sensíveis, a língua eletrônica conseguiu discriminar as amostras a partir de

uma rotina simples e rápida (menos de 2 minutos por amostra). As amostras consistiram de soluções simples e misturas de dois insumos presentes em concentrações diversas.

O projeto ***"Tintas condutivas para impressão a jato de tinta"*** desenvolvido em parceria com a empresa Ticon (Tintas Condutivas) é fomentado por recursos FUNDEP no âmbito da rede SibratecNano. Trata-se de projeto dedicado ao desenvolvimento de uma tecnologia de produção de tintas condutivas para impressão por jato de tinta, que permitirá produzir formulações inovadoras para aplicação em substratos flexíveis, além da aplicação como tintas de alta performance. A impressão de dispositivos condutores com linhas micrométricas, usando impressoras a jato de tinta controladas por computador, é um passo fundamental para novas aplicações com foco na "IoT - Internet das coisas". Essas aplicações requerem a impressão de circuitos condutores sobre substratos flexíveis, com alta resolução dos circuitos impressos. Potenciais aplicações para tal tecnologia incluem casas inteligentes, carros conectados, prevenção de falhas em equipamentos, entre outras.

Ao final de 2017, o projeto havia identificado a melhor opção de tinta e realizado sua caracterização quanto as propriedades de cobertura. Em 2018, testes de impressão em impressora a jato de tinta foram realizados e a formulação foi otimizada para a obtenção de produto comercializável. Espera-se prototipar este produto já no início de 2019.

O projeto **"*Cargas Poliméricas Verdes*"** realizado em colaboração com a empresa SP Pesquisa e Tecnologia Ltda é fomentado por recursos da EMBRAPII e dedica-se a produção de cargas poliméricas sustentáveis, de elevado desempenho, baixo custo, baixo impacto ambiental e economicamente competitivas para serem empregadas como cargas para materiais compósitos poliméricos, em substituição a matérias-primas tradicionalmente usadas nas indústrias de transformação, materiais de engenharia, construção civil, bens de consumo, automotiva, entre outras.

Em 2018, foram produzidos, por meio de processos controlados de torrefação e pirólise, materiais carbonáceos com as características físico-químicas necessárias para atender aos requisitos essenciais estabelecidos pela empresa parceira para sua aplicação como carga, enchimento ou reforço de polímeros. Além disso destaca-se o início da produção dos compósitos poliméricos aditivados por estes materiais carbonáceos com variações no teor mássico das cargas incorporadas, tendo sido adotadas duas poliolefinas (PP, PEBD) como matrizes poliméricas. Os compósitos produzidos foram testados quanto à resistência ao UV, propriedades mecânicas e térmicas e indicam ganhos significativos comparativamente aos polímeros puros e contratipos comerciais de semelhantes compósitos. O projeto contemplará nos próximos meses a produção e caracterização dos compósitos usando PVC como matriz, e avaliará os passos necessários para escalonamento do processo de produção dos compósitos e sua aplicação pela empresa parceira.

O projeto "***Produção e caracterização de nanocristais de celulose de bagaço de cana-de açúcar, e obtenção e caracterização de materiais nanocompósitos preparados a partir de nanocristais comerciais, modificados e não modificados***" desenvolvido com parceiro empresarial do setor automotivo (sob sigilo) visa desenvolver formulações de

materiais compósitos com propriedades mecânicas diferenciadas a partir da incorporação de nanocelulose a matrizes poliméricas, para o desenvolvimento de materiais leves, de alta performance e baixo custo para uso em partes não-essenciais de veículos terrestres.

Ao final do primeiro semestre de 2018, destacavam-se como principais resultados do projeto: (i) a produção e a caracterização (morfológica, térmica e físicoquímica) de nanocelulose de bagaço de cana de açúcar; (ii) a caracterização (morfológica, térmica e físicoquímica) de nanocristais comerciais (Celluforce, Canadá) e (iii) a execução dos planejamentos experimentais de modificação química da superfície dos nanocristais comerciais para gerar com sucesso uma superfície hidrofóbica compatível com a matriz polimérica hidrofóbica fornecida pela empresa. Ao longo do segundo semestre de 2018 foram preparadas, por fusão e extrusão, amostras do compósito polimérico aditivado pela nanocelulose modificada e não modificada, cuja caracterização de propriedades térmicas e mecânicas será finalizada em 2019.

O projeto **"*CO_2 DUPLEX - Estudo da Soldabilidade de Aços Inoxidáveis*",** realizado em parceria com a Petrobras, prevê estudar a soldabilidade de diferentes aços usados como matérias-primas para manufatura de tubulações para transporte e reservatórios para o armazenamento de CO_2 em estado supercrítico, avaliando o desempenho de aços inoxidáveis (*lean duplex*, *duplex*, *superduplex* e *hiperduplex*) soldados por processos de soldagem a arco e por atrito com pino não consumível (FSW - *friction stir welding*).

Como resultado do projeto, foram entregues parâmetros para soldagem a arco e por FSW dos aços inoxidáveis duplex 2507 e 9Ni (melhores performances), além de uma caracterização das modificações microestruturais geradas por ambos os processos nestes respectivos aços, confirmando uma alteração menos pronunciada em suas propriedades provocada pelo processo de FSW. As propriedades mecânicas das soldagens realizadas foram avaliadas através de ensaios Charpy, CTOD, tração e dobramento, indicando igualmente uma superioridade nas soldagens realizadas por FSW. Ainda, foi realizada uma simulação física do processo de soldagem a arco no sistema Gleeble. O modelo obtido aproximou-se satisfatoriamente aos resultados experimentais referentes à microestrutura e propriedades mecânicas destes aços, confirmando sua adequação como matérias-primas para produção de componentes não só para exploração *subsea*, mas também para o *topside* em plataformas petrolíferas.

O projeto **"*FSW Clad - Desenvolvimento de processo de soldagem por atrito com pino não consumível (SAPNC) destinado à união circunferencial de tubos de aço com cladding interno de liga de níquel",*** desenvolvido em parceria com a FMC Technologies do Brasil Ltda, trata sobre a exploração da aplicação da soldagem por atrito com pino não consumível (FSW) para união de materiais destinados para a produção de equipamentos *subsea*.

O projeto, encerrado em 2018, se apresentou como um complexo desafio tecnológico devido ao *retrofit* realizado em equipamentos de soldagem por atrito, desenvolvimento de novos projetos de ferramentas FSW, de dispositivos de soldagem e de parâmetros de soldagem em diversas condições. O projeto confirmou a possibilidade de unir tubos

cladeados aplicando quatro espessuras diferentes sem descontinuidades, mesmo com a presença de contaminação causada pela camada de revestimento Inconel 625 em contato com o aço, que ocorre devido ao fluxo de material característico causado pela geometria convencional da ferramenta. No entanto, o projeto contornou este problema através do uso de uma ferramenta de ombro duplo, que mostrou um melhor controle do fluxo vertical dos materiais em relação à geometria da ferramenta convencional, diminuindo a irregularidade da camada de revestimento depositada. Os resultados obtidos no projeto mostraram um potencial de redução de custos de fabricação, peso dos equipamentos e tempo de produção comparativamente aos componentes fabricados por processos tradicionais e o parceiro industrial mostrou-se interessado na extensão da tecnologia a outros produtos/aplicações.

O projeto ***"FSW4 - Soldagem por atrito com pino não consumível - Consolidação do processo visando sua aplicação em campo",*** desenvolvido em parceria com a Petrobras, estuda necessidades essenciais para a aplicação em campo do processo de soldagem por atrito com pino não consumível (FSW) – por exemplo, estudos de descontinuidades e métodos para eliminação de defeitos de soldagem, otimização de ferramentas de soldagem, elaboração de normas e certificação, estudos de custos e desenvolvimento de materiais com baixa susceptibilidade ao hidrogênio, além do desenvolvimento de um protótipo para construção de um equipamento de soldagem orbital. Este projeto poderá garantir à Petrobras um importante diferencial competitivo no mercado de petróleo e gás com ganhos de produtividade, qualidade, confiabilidade e custo já que o processo SAPNC permite unir materiais não soldáveis e realizar diferentes tipos de uniões dissimilares.

Em 2018, foram realizados ensaios de tenacidade à fratura em solução salina comparável à água do mar e o início da redação de uma norma brasileira de FSW, além de avaliações comparativas dos custos relacionados ao processo de soldagem FSW x solda a arco no que tange à substituição das ferramentas de soldagem que sofrem desgaste. Além disso, a etapa de avaliação dos custos do projeto foi encerrada. Concluiu-se que o processo poderá ser competitivo no mercado ainda que seu custo seja elevado, pois o tempo de execução é muito menor que o da soldagem a arco, utilizada na indústria de petróleo e gás. Sabe-se também que as técnicas de ultrassom e tomografia são ferramentas eficientes para avaliação, já que são capazes de detectar defeitos internos no cordão de solda. A análise de desgaste de ferramentas de FSW e os ensaios de tenacidade à fratura em meio de solução salina, para avaliar a influência do hidrogênio difusível e residual encontram-se em andamento.

O "***Consórcio C2PA - P&D em processamento por atrito***" envolve diferentes instituições de pesquisa e empresas (Faculdade de Engenharia Mecânica da UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas, IPT - Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo, UEPG - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Votorantim Metais e Embraer S.A.) e visa desenvolver tecnologias para a fabricação de componentes estruturais de aeronaves, especialmente à base de alumínio, que sejam particularmente resistentes ao desgaste, à corrosão, e à nucleação de trinca por fadiga.

Em 2018, o LNNano participou ativamente no ***Projeto Friction Surfacing***, cujos resultados apresentaram os parâmetros necessários (força, velocidade de rotação, velocidade de avanço, taxa de alimentação da haste, etc.) para viabilizar a deposição de uma liga AA2024 sobre o substrato do mesmo material via *Friction Surfacing*. A caracterização microestrutural do material depositado foi realizada, bem como ensaios mecânicos.

O projeto **"*NANOFe+: Produção de Nanopartículas de óxido de ferro*"**, realizado em parceria com a empresa Omnis Biotecnologia, é fomentado por recursos provenientes do FUNDEP no âmbito da rede SIBRATEC. Este projeto prevê a produção de nanopartículas de óxido de ferro para aplicação em biodigestores anaeróbios de vinhaça para produção de biogás/bioenergia, visando redução de impacto ambiental e produção de energia limpa e sustentável.

Em 2018, foi desenvolvido protocolo de síntese das nanopartículas, com experimentos em uma escala laboratorial de 2L para determinação da dose-ideal de nanopartículas a ser alimentada aos biodigestores de vinhaça para produção de biogás. Na sequência, a síntese das nanopartículas foi escalonada para 40 L e o projeto foi encerrado com a transferência da tecnologia de produção ao parceiro industrial.

4.4.2. Serviços tecnológicos especializados

A excelência na prestação de serviços de alta complexidade tecnológica é muito importante para o LNNano por representar, na maioria das vezes, a "*porta de entrada*" para a negociação de projetos de P&D de longa duração.

Em 2018 foram selecionados e efetivamente realizados 24 serviços tecnológicos. Entre os clientes estão empresas de todos os portes, desde *start-ups* até multinacionais, como Honda, Bosch, Oxiteno, Clariant, Natura, Ourofino, Fibria, entre outras.

4.5 Treinamento, Educação e Extensão

4.5.1 Seminários e Palestras

Seminários ministrados no LNNano

1. *Nanoscience applied to oil and gas technologies: a multiscale computational approach*, Caetano Rodrigues Miranda, Institute of Physics - University of Sao Paulo, 07/02/2018.

2. *Controlling nanomaterial interfaces for biological applications*, Jean-François Berret, Laboratoire Matière et Systèmes Complexes, UMR 7057 CNRS University; Denis Diderot Paris-VII Paris, France, 28/02/2018.

3. *New technologies for natural product-based drug discovery*, Daniela B B Trivalla, LNBIO / CNPEM, 21/03/2018.

4. Nanocompósito de bambu: uma impregnação régio-seletiva com nanopartículas de prata, Omar Ginoble Pandoli, Departamento de Química/ PUC-RIO, 11/04/2018.

5. *Unlocking the Structure-Property Relationships in Conjugated Polymer Nanomaterials for the Development of Efficient Organic Solar Cells*, Andreia G. Macedo, Programa de Pós-Graduação em Física e Astronomia - PPGFA, UTFPR, Curitiba - PR, 03/05/2018.

6. *Catalysis in Ionic Liquid Confined Spaces*, Jairton Dupont, UFRGS - Porto Alegre - Brazil, 11/05/2018.

7. *Early Stages of Antimicrobial Peptides Binding to Resistant and Susceptible Bacterial Outer Membrane Chemotypes from Atomistic MD simulations*, Thereza A. Soares, Departmento of Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), 24/05/2018.

8. De Nano para Mega: como a Ecotoxicologia de Nano'coisas'potencia cooperação, Prof. Amadeu Soares, Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, Portugal, 08/06/2018.

9. *Structures of Biological Macro-molecules by Single-Particle Cryo-EM: the roots of the "resolution revolution"*, Marin van Heel, LNNano, 19/06/2018.

10. Desenvolvimento de sensores com base microeletrônica em dispositivos aplicados, Prof.Dr. Jose Roberto Casarini, Diretor Instituto SENAI de Inovação - ISI-Microeletrônica, 04/09/2018.

11. *Materials under extreme conditions*, Dr. Narcizo Marques de Souza Neto, LNLS - CNPEM, 18/09/2018.

12. Se 3 é muito, como 10^{23} pode ser pouco? Raízes da ciência computacional de materiais', Klaus Capelle, CNPEM e UFABC, 23/10/2018.

13. *Nanostructured materials from cellulose and lignin*, Professor Orlando Rojas, Aalto University, Finland, 26/10/2018.

14. Temporal and Spatial Organization of Soft Nanostructured Materials by Cryo-Electron Microscopy and Cryo-Electron Tomography, Dganit Danino, Department of Biotechnology and Food Engineering, Technion - Israel Institute of Technology, Haifa, Israel, 07/11/2018.

Palestras e/ou seminários proferidos por pesquisadores/especialistas do LNNano

1. O Laboratório Nacional de Nanotecnologia, Edson Roberto Leite, 1ª Conferência em Materiais de Aplicações Multidisciplinares - Universidade Federal do Amazonas, Manaus / AM, 21/03/2018.

2. *Per Distribution Function (PDF)* - usando difração de elétrons: aplicações em nanomateriais, Edson Roberto Leite, 1ª Conferência em Materiais de Aplicações Multidisciplinares - Universidade Federal do Amazonas, Manaus / AM, 22/03/2018.

3. LME/LNNano um laboratório multi-usuário e aberto e um caso científico: Estudo por microscopia eletrônica de transmissão em nucleação e cristalização de materiais vítreos/amorfos: aspectos cinéticos e termodinâmicos., Jefferson Bettini, IQ/USP, São Paulo / SP, 18/04/2018.

4. Política de Nanotecnologia no Brasil, Adalberto Fazzio , I Rau e Workshop do LabNano / CBPF, Rio de Janeiro / RJ, 19/04/2018.

5. *Predicting and understanding topological transition in 2D-materials using compressed-sensing*, Adalberto Fazzio, Encontro de Outono da SBF 2018, Foz do Iguaçu / PR, 07/05/2018.

6. Dispositivos e sistemas funcionais a partir de nanoestruturas, Carlos César Bof Bufon, Colóquio do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da UFPE (PGMtr), Recife / PE, 21/05/2018.

7. Nanotecnologia: pequenas estruturas, grandes conquistas, Murilo Santhiago, 14 Semana Tecnológica SIPAT, Indaiatuba / SP, 23/05/2018.

8. *Nanotechnology-enabled devices applied to strategic fields*, Carlos César Bof Bufon, Symposium on Frontiers in Nanoscience and Nanotechnology, Waterloo / Canadá, 06/06/2018.

9. *Synthesis of Oxide particles: from polymeric precursors to colloidal synthesis process*, Edson Roberto Leite, Síntese Química de Óxido Cerâmicos, Perugia / Itália, 08/06/2018.

10. Efeito do Cério na resistência a corrosão de amostras soldadas por FSW, Maysa Terada, III Workshop Projeto Fapesp Temático 2013/13235-6, São Paulo / SP, 15/06/2018.

11. *Chairman of Symposium - The relevance of Prof. José Arana Varela for advanced ceramics*, Edson Roberto Leite, 7th International Congress on Ceramics - ICC7, Foz do Iguaçu / PR, 21/06/2018.

12. *Nanostructured semiconductor oxides thin film for artificial photosynthesis: The role of the nanostructure in the electronic and photoelectrochemical properties*, Edson Roberto Leite, 7th International Congress on Ceramics - ICC7, Foz do Iguaçu / PR, 21/06/2018.

13. Química 4.0, Murilo Santhiago, XII Semana Acadêmica de Química, Florianópolis / SC, 04/10/2018.

14. *Flexible electronic and electrochemical devices*, Murilo Santhiago, XII Semana Acadêmica de Química, Florianópolis / SC, 05/10/2018.

15. *Development of nanocomposites from renewable resources: Investigation of hybrid interfaces for advanced applications*, Rubia Figueredo Gouveia, VI Workshop de Pesquisa e Tecnologia em Ciência dos Materiais - UFSCar Sorocaba, Sorocaba / SP, 15/10/2018.

16. *Nanotechnology: recent advances and in-house research*, Murilo Santhiago, I CIVASF - Congresso Nacional Interdisciplinar do Vale do São Francisco, Petrolina / PE, 09/11/2018.

4.5.2 Ações de Capacitação

7th TEM Summer School

O Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano) realizou a sétima edição da *Transmission Electron Microscopy Summer School* (*7th TEM Summer School*). O curso, realizado bianualmente, é voltado a estudantes de pós-graduação (mestrandos e doutorandos) e pesquisadores das áreas de Ciência dos Materiais, Engenharias, Química, Física e outras áreas correlatas. Ao longo de duas semanas, conceitos teóricos e práticos são apresentados em aulas ministradas por pesquisadores de renome no campo da microscopia eletrônica, ligados a importantes institutos de pesquisa e a universidades do Brasil e do mundo.

Os participantes apresentaram seus projetos de pesquisa na forma de pôster durante a Escola e puderam discutir diretamente com os palestrantes convidados e pesquisadores do LNNano as possibilidades de aplicar as diferentes técnicas de TEM na sua pesquisa.

Métodos de Microfabricação & Microscopias como ferramentas em nanotecnologia

Durante a 1ª Conferência em Materiais de Aplicações Multidisciplinares, realizada no campus da Universidade Federal de Manaus, o LNNano foi responsável por dois minicursos voltados a estudantes de graduação, pós-graduação e pesquisadores das áreas de Ciências dos Materiais, Física e Química.

8th Brazil School for Single Particle Cryo-EM

A oitava edição da *Brazil School for Single Particle Cryo-EM* ocorreu em Mairiporã e contou com participação de alunos brasileiros, da América do Sul e diversos outros países. O evento que durou 12 dias permitiu aos participantes se familiarizar com os princípios metodológicos e usufruir de atividades práticas.

III Curso de Introdução a Nanotecnologia & Nanotoxicologia

O curso, que está em sua 3ª edição, abordou aspectos básicos da produção e aplicação de nanomateriais, caracterização, e suas interações com sistemas biológicos e meio ambiente. Em especial, é dado destaque para os fundamentos da Nanotoxicologia e Nanossegurança.

School of Advanced Science on Colloids (SPSAS Colloids)

A Escola São Paulo em *Ciência Avançada de Colóides* foi uma realização conjunta entre CNPEM, UNICAMP e USP, contando com a participação de aproximadamente 80 alunos (do quais metade estrangeiros) e pesquisadores de renome, nacional e internacional, na área.

4.5.3 Eventos Científicos

VIII Workshop em Microfluídica

O VIII Workshop em Microfluídica, realizado na PUC-Rio entre os dias 18 e 20 de julho, reúne anualmente pesquisadores e estudantes da academia e da indústria para discutir as inovações mais recentes no campo da microfluídica. O workshop contou com apresentações orais, sessões de pôsteres, cursos de curta duração e com uma exposição de produtos relacionados ao tema.

1º Workshop em Crescimento Epitaxial (WCE)

O 1º Workshop em Crescimento Epitaxial (WCE), apoiado pela Fapesp, foi realizado entre os dias 27 e 28 junho de 2018, com o objetivo reunir pesquisadores na área de crescimento e caracterização de filmes finos e materiais 2-D.

Este evento promoveu a integração da comunidade científica, estimulando novas colaborações e discussões políticas para a área.

2ª Reunião de Usuários de Criomicroscopia Eletrônica

No ano de 2018, ocorreu a segunda Reunião de Usuários de Criomicroscopia Eletrônica. O formato do evento conta com apresentações orais e de pôsteres por pesquisadores e estudantes da área, demonstrando seus principais resultados e perspectivas futuras.

4.5.4 Orientação e Supervisão

No mês de dezembro, o Laboratório reuniu seus profissionais e estudantes para uma série de apresentações técnico-científicas. O evento denominado "***NanoPesquisa***" destacou os trabalhos realizados pelos bolsistas de pós-doutorado. Ao todo foram apresentados 25 trabalhos das áreas de Química, Física, Biologia e Engenharias. Cerca de 100 pessoas participaram do evento.

4.5.5 Outros eventos

Nano no Parque

Neste evento, realizado no Parque Industrial de São José dos Campos, os pesquisadores do Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano/CNPEM) apresentaram para a comunidade do Parque Tecnológico de São José dos Campos e demais inscritos as competências científicas e tecnológicas deste Laboratório Nacional na área de nanotecnologia. Destaca-se a apresentação da infraestrutura de pesquisa científica e tecnológica do LNNano e seus resultados mais recentes nas áreas de dispositivos e sensores, materiais nanoestruturados e nanomedicina. Além disso, as oportunidades de interação indústria-LNNano foram divulgadas, bem como as políticas de inovação adotadas.

Potencialidades do LNNano

O evento realizado no Campus do CNPEM divulgou as possibilidades de interação entre o setor industrial e o LNNano. Com vistas a alavancar parcerias e projetos com o setor privado e demonstrar as potencialidades de aplicação das técnicas e uso de seus equipamentos, o evento contou com a participação de 60 pessoas, sendo 40 convidados de 24 empresas diferentes distribuídas entre 13 setores.

4.6 Infraestrutura, Operação e Melhorias Técnicas

4.6.1 Equipamentos de Caracterização Estrutural

Em 2018, o LNNano adquiriu com recursos do SiSNano um espectrômetro Raman confocal e um difratômetro de raios X que complementarão a infraestrutura de caracterização avançada disponível no laboratório. Ambos os equipamentos serão alocados no Laboratório de Materiais Macios N-Estruturados (LMN).

O espectrômetro Raman escolhido foi o modelo XploRA da Horiba com uma configuração com 3 lasers de excitação (473, 532 e 638 nm) e 4 grades (600, 1200, 1800, 2400gr). O equipamento é praticamente todo controlado por computador e está equipado com microscópio óptico, sistema de movimentação XYZ motorizado, sistema de polarização, e acessório para resfriamento e aquecimento (–196 °C to 600 °C) de amostras. O equipamento foi instalado e estará em comissionamento durante todo o ano de 2019 com previsão de abertura aos usuários externos no ano seguinte.

O difratômetro de raios-X adquirido é o modelo D8 Advance da Bruker. A configuração do equipamento permitirá uma ampla gama de análises que incluem difração de pó, incluindo identificação e quantificação de fases, análises de estruturas de cristais e micro-estruturas, tensão residual e investigações de texturas, refletometria de raios-X, medidas de filmes finos e em capilar, entre outras. O equipamento também tem configuração para ser livre de alinhamento e ferramentas para troca de geometrias tornando o mesmo bastante versátil e de fácil utilização. Além disto foi adquirido um acessório para aquecimento de amostras até 1600^{o}C. O equipamento foi instalado e estará em comissionamento durante todo o ano de 2019, com previsão de abertura aos usuários externos no ano seguinte.

4.6.2 Laboratório de Ciência de Superfície

Em 2018, o *hardware* e *software* do microscópio de varredura por sonda modelo Multimode IIIa (antiga Digital Instruments) foram atualizados para a modelo versão Multimode 8 / (atual Bruker) (Figura 188). Neste novo modelo é possível implementar novas técnicas de microscopia de varredura por sonda, aumentando a diversificação dos recursos instrumentais oferecidos.

Figura 188. Microscópio de varredura por sonda Bruker Multimode 8

Entre as novas técnicas disponíveis, destaca-se o modo de força pulsada senoidal (PeakForce Tapping®), que permite o controle da interação sonda-amostra com menores forças de interação. Essa técnica resulta em imagens de AFM com maior resolução e mais consistente para uma ampla gama de amostras, desde amostras poliméricas macias até materiais muito duros.

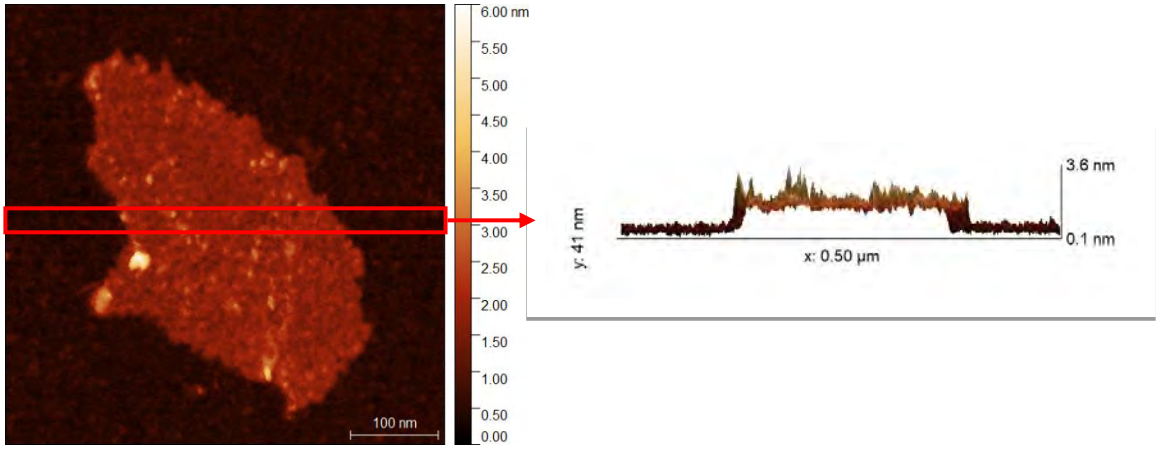


Figura 189. Imagem topográfica de alta resolução de um *flake* de óxido grafeno decorado com nanopartículas metálicas

A sensibilidade das imagens topográficas de alta resolução (Figura 189) pode ser combinada com mapas de propriedades nanomecânicas, como módulo, aderência, dissipação e deformação (

Figura **190**). Este método preserva melhor a sonda e a amostra, uma vez que controla diretamente a força normal máxima e minimiza a força lateral. Como os dados de

força/distância são analisados diretamente, não há ambiguidade em relação ao contraste da imagem, como ocorre frequentemente em outras técnicas. Inclusive em alguns casos, após uma calibração, é possível obter dados quantitativos.

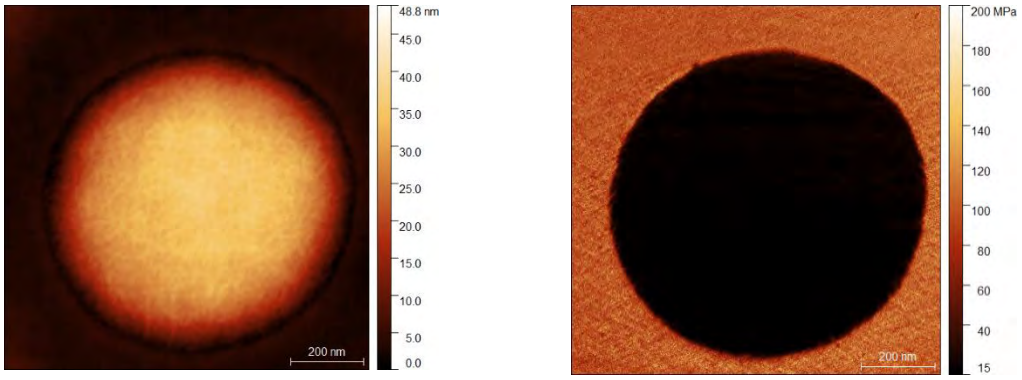


Figura 190. Imagem topográfica (esquerda) e mapa do módulo de elasticidade (direita) de um compósito PS-LDPE

Estas novas técnicas estão em fase inicial de comissionamento e disponíveis, inicialmente, aos pesquisadores internos do CNPEM.

4.6.3 Laboratório de Microfabricação

Durante este ano foram realizadas as seguintes melhorias na infraestrutura:

-Aquisição de um novo canhão com fonte de rádio frequência (RF) de 600 Watts, para ser instalada no Sputter Orion 8. Desta forma a nova configuração deste sistema conta com três fontes DC e duas fontes RF. Isto permite a deposição simultânea de até cinco materiais diferentes, de forma simultânea (recursos Fapesp).

-Aquisição de um analisador de impedância ModuLab XM (Solartron Analytical) equipado com módulo XM FRA 1MHz, para medidas de impedância elétrica, de onde se extraem informações de capacitância e resistência, para estudo de sensores de amostras líquidas, mais especificamente para uso nos sistemas de língua eletrônica (recursos Petrobras).

-Aquisição de um potenciostato modelo PGSTAT128N (Metrohm Autolab). É um sistema de medidas eletroquímicas equipado com módulo FRA, que permite obter medidas de voltametrias, amperométrico e de impedância eletroquímica para uso em sensores de amostras líquidas (recursos Petrobras).

-Ainda com recursos provenientes de projetos de inovação (Petrobras), foram adquiridos diversos equipamentos de bancada, tais como, câmera de infravermelho, potenciostato portátil Palsens, bombas de infusão e estereoscópicos.

4.6.4 Laboratório de Microscopia Eletrônica

No âmbito das técnicas de criomicroscopia eletrônica, o microscópio eletrônico de transmissão Talos Arctica G2 (Thermo Fisher Scientific) teve sua instalação concluída e foi disponibilizado para a comunidade científica externa no mês de setembro.

O principal diferencial do Talos Arctica é o sistema de "*autoloader*", que permite a inserção de 12 amostras de criomicroscopia de uma única vez. Este sistema permite a troca de amostras com maior rapidez, além de garantir maior estabilidade mecânica e controle de temperatura das amostras criogênicas. A utilização deste equipamento para realização de coletas de dados automatizadas é inédita no Brasil.

Em outubro deu-se início a instalação do microscópio eletrônico de transmissão Titan Krios G3i (FEI). Este equipamento está equipado com um conjunto de acessórios que o coloca no estado da arte para trabalhos em criomicroscopia. A conclusão da instalação do Titan Krios está prevista para fevereiro de 2019, quando se inicia o processo de comissionamento.

No que se refere à gestão do Laboratório, destaca-se que o LME implantou neste ano o Comitê Externo de análise de propostas de pesquisa. Este processo visa aprimorar os julgamentos de mérito técnico-científico, legitimando o processo perante a comunidade externa. Esta ação também permitirá otimizar o tempo de instalação dedicado a cada proposta, oferecendo mais tempo de microscopia às propostas com maior mérito técnico-cientifico.