# AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES E SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE *Pereskia grandifolia* HAWORTH (CACTACEAE)

Andersson Franklin Turra<sup>1</sup> Flaviano João Basílio Marçal<sup>3</sup> Irinéia Paulina Baretta<sup>1</sup> Orlando Seiko Takemura<sup>1</sup> Antonio Laverde Jr. <sup>2</sup>

TURRA, A. F.; MARÇAL, F. J. B.; BARETTA, I. P.; TAKEMURA, O. S.; LAVERDE-JR, A. Avaliação das propriedades antioxidantes e susceptibilidade antimicrobiana de *Pereskia grandifolia* Haworth (cactaceae). *Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama*, v. 11, n. 1, p. 9-14, jan./abr. 2007.

RESUMO: A espécie *Pereskia grandifolia* Haworth (Cactaceae), conhecida popularmente como ora-pro-nóbis, foi avaliada quanto às suas propriedades antioxidantes e susceptibilidade antimicrobiana. As propriedades antioxidantes foram avaliadas pelo método de inibição do radical livre 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH\*). Os extratos das folhas de *P. grandifolia* (1000 ìg/mL) apresentaram propriedades antioxidantes entre 10 e 30% de inibição. Dentre os extratos avaliados, o diclorometânico e o acetato de etila apresentaram maior capacidade de seqüestro de radicais livres de DPPH\*(25 e 30% de inibição, respectivamente). A susceptibilidade antimicrobiana foi avaliada pelo método de microdiluição. Não se observau atividade antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus subtilis* (ATCC 6623) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), nem atividade antifúngica frente a *Candida albicans* (ATCC 10231)

PALAVRAS-CHAVE: Cactaceae, Pereskia grandifolia, atividade antioxidante, atividade antimicrobiana.

# ANTIOXIDANT PROPERTIES AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY EVALUATION OF *Pereskia grandifolia* HAWORTH (CACTACEAE)

ABSTRACT: The specie *Pereskia grandifolia* Haworth (Cactaceae), popularly known as ora-pro-nóbis, was evaluated for their antioxidant property and antibacterial susceptibility. The antioxidant properties were evaluated by inhibition of free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH') method. The *P. grandifolia* leaves extracts (1000 μg/mL) shown antioxidant properties, with inhibition varying between 10 and 30% of control. Among the tested extracts, the dichloromethane and ethyl acetate extracts presented higher free radicals scavenging capability in the DPPH' method (25 and 30% of inhibition, respectively). Antibacterial activity was not observed against the *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus subtilis* (ATCC 6623) and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), neither antifungal activity against *Candida albicans* (ATCC 10231).

**KEYWORDS:** Cactaceae, *Pereskia grandifolia*, antioxidant activity, antimicrobial activity.

#### Introdução

Uma vasta quantidade de espécies de plantas brasileiras permanece sem qualquer estudo químico ou biológico, o que poderia representar um potencial econômico valioso. A biodiversidade brasileira está ameaçada pela grande extinção de espécies, o que sem dúvida causará não apenas a perda de substâncias de valor terapêutico, mas também o seu código de expressão genética, impossibilitando a manutenção de um grande manancial químico. Com o advento de pesquisas nesta área, numerosas e valiosas informações também estão sendo obtidas com respeito aos dados quimiotaxionômicos. Estes dados, além de ajudar na classificação botânica de espécies, também contribuem direcionando a pesquisa para o estudo de vegetais com maior probabilidade de se apresentar algum composto com potencial aplicação, eliminando etapas. O resultado é uma triagem bem mais racional, com maiores possibilidades de êxito. Da mesma forma, dados etnofarmacológicos também têm sido um dos meios mais comuns para a descoberta de substâncias bioativas de plantas (HOSTETTMANN, QUEIROZ, VIEIRA, 2003).

Dentre as inúmeras famílias de plantas encontradas na flora brasileira, as cactáceas chamam atenção pela sua rusticidade e beleza. Esta família é formada por três subfamílias: Cereoideae, Opuntioideae e Pereskioideae. Destas, a última é considerada a menos evoluída (BURRET, LEBRETON, VOIRIN, 1982). Um dos gêneros considerados menos evoluídos é o Pereskia, com cerca de 25 espécies de cactos folheares, distribuídos basicamente nas regiões entre o Brasil e o México. Algumas espécies são utilizadas na medicina e culinária popular e apresentam altos teores nutricionais. A espécie P. grandifolia, em especial, é uma planta vastamente distribuída, do nordeste brasileiro ao Rio Grande do Sul. O domínio popular lhe confere vasta sinonímia como: cacto rosa, ora-pro-nóbis, jumbeba, rosa-madeira. Devido à beleza de suas flores, a espécie

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Laboratórios de Farmacognosia e Farmacologia, Instituto de Ciências Biológicas, Médicas e da Saúde - Universidade Paranaense.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Laboratório de Produtos Naturais, Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Instituto de Ciências Exatas, Agrárias, Tecnológicas e Geociências

<sup>-</sup> Universidade Paranaense, Praça Mascarenhas de Moraes, s/n, cx. p. 224, 87502-210, Umuarama - PR - Fax: (44)3621-2830 (laverde@unipar.br)

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Laboratório de Microbiologia Básica, Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá – PR.

é cultivada como planta ornamental. Na medicina popular as folhas são utilizadas como emolientes no tratamento de erupções cutâneas e aos frutos são conferidas atividades expectorante e anti-sifilítica (CORREA, 1984). As folhas e frutos desta espécie são comestíveis e utilizados na culinária, principalmente na região do semi-árido brasileiro.

Análises bromatológicas relataram a presença de grandes reservas vitamínicas, protéicas e sais minerais nas folhas desta espécie (SILVA, 1995), corroborando com o uso popular de plantas do gênero *Pereskia* na alimentação, devido às suas características nutricionais.

Nos últimos anos, pesquisadores têm estudado os efeitos farmacológicos da planta *Pereskia grandifolia* Haworth (Cactaceae) com o objetivo de avaliar seu potencial terapêutico. Estudos preliminares do extrato alcoólico de *P. grandifolia* mostraram uma significativa ação analgésica em modelos animais (COSTA et al., 2003). A atividade farmacológica central do extrato etanólico também foi avaliada, indicando um possível efeito ansiolítico (FANHANI et al., 2002). Resultados recentes indicaram que doses de 50 e 100 mg/kg deste extrato são capazes de provocar um efeito hipnótico sedativo (PEREIRA et al., 2005).

Outra espécie deste gênero, que apresenta características medicinais, é a *Pereskia bleo*. Na Malásia, esta espécie é considerada uma planta medicinal com atividade anti-tumoral, anti-reumática, anti-úlcera e antiinflamatória. Pesquisadores malaios avaliaram seu extrato metanólico e observaram significante atividade citotóxica sobre linhagens de células T-47D (TAN et al., 2005). Segundo o estudo, as atividades desta planta devem estar relacionadas à presença de glicosídeos altamente complexos e saponinas que ocorrem no gênero *Pereskia*. Contudo, foi sugerido que o extrato metanólico desta espécie deve conter compostos bioativos capazes de matar células de câncer de mama, T-47D, pelo mecanismo de apoptose, principalmente via ativação de 3-caspase.

Poucas espécies do gênero Pereskia foram avaliadas quimicamente. Estudos da espécie P. grandifolia resultaram no isolamento de duas saponinas do ácido oleanóico (SAHU, BANERJI, CHAKRAVA, 1974). Thomas, Joel e John (1987) isolaram dois esteróis da espécie P. aculeata: o sitosterol e o estigmasterol. Outros estudos desta espécie revelaram a presença de compostos heterossacarídeos (SIERAKOWSKI, GORIN, REICHER, 1987 e 1990), arabinogalactano (MERCÊ et al., 2001a) e galactomananas (MERCÊ et al., 2001b). Estas duas últimas substâncias correspondem a biopolímeros com potencial aplicação na associação a íons Fe (III), Co (II), Cu (II), Mn (II) e Ni (II), e na indústria alimentícia. A espécie P. guamacho também tem apresentado biopolímeros polissacarídeos (DEPINTO, DEMONCADA, MARTINEZ, 1994). Um "screening" cromatográfico de plantas deste gênero (P. aculeata, P. autumnalis, P. corrugata, P. cubensis, P.

godseffiana, P. grandifolia, P. grandiflora, P. scandens, P. pititache e P. tampicana) revelou a presença de alcalóides como mescalina e outras β-fenetilaminas (DOETSCH, CASSADY, McLAUGHLIN, 1980).

A busca por substâncias antioxidantes naturais vem aumentando nos últimos anos. Antioxidantes substâncias que retardam ou previnem significativamente a oxidação de lipídios ou outras moléculas, ao inibirem a iniciação ou propagação da reação de oxidação em cadeia, além de prevenirem ou repararem danos ocasionados às células pelas espécies reativas de oxigênio. Uma quantidade substancial de evidências tem indicado o papel chave dos radicais livres e outros oxidantes como grandes responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como câncer, declínio do sistema imune, doencas cardiovasculares e disfunções cerebrais. Assim, antioxidantes que següestram os radicais livres, tanto previnem como apresentam alto potencial terapêutico em doenças que apresentam estes radicais (BARREIROS, DAVID e DAVID, 2006).

Como parte de nossos estudos sobre a investigação da composição química e de possíveis atividades de plantas medicinais nativas, o presente trabalho teve como objetivo a avaliação das propriedades antioxidantes e da susceptibilidade antimicrobiana do extrato bruto (alcoólico total) e de polaridades crescentes das folhas de *Pereskia grandifolia* Haworth (Cactaceae). O número limitado de trabalhos científicos a respeito de plantas deste gênero e a importância nutricional de algumas de suas espécies nos motivaram a desenvolver este estudo.

#### Material e método

### Material vegetal

A espécie *Pereskia grandifolia* foi coletada em março de 2005, no Horto Medicinal da Universidade Paranaense – Unipar, na cidade de Umuarama, PR. A exsicata do material vegetal encontra-se depositada no Herbário Educacional da Unipar (Campus Paranavaí) sob o registro ID nº 1881.

#### Preparação dos extratos

Após secagem e moagem das folhas da planta, parte do material foi submetida a maceração com álcool 70% resultando no extrato bruto alcoólico. Este extrato foi concentrado em rotaevaporador sob vácuo em temperatura de 50°C. Outra parte do material foi submetida a sucessivas extrações em extrator Sohxlet, utilizando-se os solventes hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, dando origem aos respectivos extratos de polaridades crescentes.

## Avaliação da capacidade antioxidante

As propriedades antioxidantes dos extratos das folhas de *P. grandifolia* foram avaliadas por método espectrofotométrico (MOLYNEUX, 2004), utilizando o radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilidrazil, DPPH - (Sigma). Os experimentos foram realizados adicionando-se 2,9 mL da solução de DPPH 4,7mg/200mL) ao mesmo volume de uma solução metanólica dos respectivos extratos de *P. grandifolia*, nas concentrações de 100 e 1000 µg/mL. Após a adição do radical DPPH , as soluções foram deixadas em repouso por 30 min e suas absorbâncias lidas a 515 nm em um espectofotômetro (Femto, modelo 700 plus). A atividade antioxidante foi calculada através da equação:

$$\text{\%DPPH} = [(\text{Abs C} - \text{Abs A})x100]/(\text{Abs C})$$

onde Abs C e Abs A correspondem às absorbâncias do controle e da amostra, respectivamente. Uma solução de ácido ascórbico (Merck) 100µg/mL foi utilizada como padrão positivo. Todas as análises foram realizadas em triplicata com repetição (n=6) e apresentadas em porcentagem de inibição (%), calculados em relação à amostra controle (metanol+DPPH 60µM). Os desvios padrão foram dados em porcentagem de inibição.

#### Avaliação da susceptibilidade antimicrobiana

A susceptibilidade antimicrobiana foi avaliada através das concentrações inibitórias mínimas (CIMs) de cada extrato. As CIMs foram realizadas em triplicata pela técnica de microdiluição em caldo Mueller-Hinton (CMH) para bactérias e caldo Sabouraud para leveduras. Para determinação da CIM, inicialmente foram preparadas soluções estoque de 20,0 mg/ mL dos extratos solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO). Em seguida realizou-se uma diluição 1:10 em um tubo eppendorf contendo CMH e o outro caldo Sabouraud. Utilizando uma microplaca com 96 poços, foram adicionados 100,0 µL da diluição em cada poço. Em seguida foram adicionados 100,0 μL das soluções estoque (1:10) no primeiro poço, obtendo-se uma concentração inicial de 1000 µg/ml. A partir desta concentração foi realizada uma diluição seriada, homogeneizando e transferindo 100,0 µL do primeiro poço para o segundo e assim sucessivamente, até o último poço. Foram adicionados 5 μL suspensão bacteriana (10<sup>7</sup> UFC/mL) de Staphylococcus aureus (ATCC 25923), Escherichia coli (ATCC 25922), Bacillus subtilis (ATCC 6623) e Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853) ou de leveduras (104 UFC/ mL) Candida albicans (ATCC 10231) em cada poço, (exceto no controle da amostra). As microplacas foram incubadas em estufa a 37 °C por 24 h. A CIM foi definida como a maior diluição em que houve inibição do crescimento, ou seja, ausência de turvação, quando comparada com o controle bacteriano ou de leveduras.

#### Resultados e discussão

#### **Propriedades antioxidantes**

Entre os métodos químicos aplicados para se determinar a capacidade de um composto para capturar radicais livres, o método de inibição de radicais de DPPH é um dos mais utilizados, por ser considerado prático, rápido e estável (MOLYNEUX, 2004). O método se baseia na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um radical livre de DPPH, que, ao se reduzir, perde sua coloração púrpura. Desta forma, avalia-se apenas o poder redutor do antioxidante, que, ao doar um elétron, se oxida, e por este motivo não detecta substâncias pró-oxidantes. Este método é muito utilizado para avaliar a capacidade seqüestradora de radicais livres de muitos produtos naturais (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

Os extratos brutos (alcoólico total), hexânico, diclorometânico, clorofórmico, acetato de etila e metanólico das folhas de *P. grandifolia*, nas concentrações de 100 e 1000µg/mL, foram testados na presença de DPPH para avaliar a capacidade de inibição deste radical e, consequentemente, determinar os extratos com maior poder antioxidante. Os resultados obtidos nesta avaliação são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1:** Avaliação das propriedades antioxidantes das folhas de *Pereskia grandifolia* mediante inibição do radical estável de DPPH.

Extratos e frações	Percentual de inibição do radical DPPH	
	$100 \pm G/$ $ML (\%)$	$1000 \pm \text{G/ML}$ (%)
Bruto alcoólico (70%)	$3,5 \pm 2,9$	$10,0 \pm 2,9$
Hexânica	$3,8 \pm 3,1$	$15,9 \pm 2,5$
Diclorometânica	$5,8 \pm 1,3$	$26,0 \pm 1,8$
Clorofórmica	$5,8 \pm 1,3$	$19,6 \pm 1,9$
Acetato de etila	$5,8 \pm 3,8$	$31,5 \pm 2,6$
Metanólica	$4,9 \pm 3,3$	$18,7 \pm 3,1$
Og ragultadag gåa apragant	adag om 0/ de	inihioão + dogrid

Os resultados são apresentados em % de inibição, ± desvio padrão.

Analisando os resultados obtidos, constatouse que a capacidade de seqüestro de radicais livres de DPPH dos extratos avaliados (1000µg/mL) variou entre 10 e 30% aproximadamente. Entre os extratos avaliados, os de polaridade média (diclorometânico e acetato de etila) apresentaram maior capacidade de seqüestro de radicais livres de DPPH, com cerca de 25 e 30% de inibição, respectivamente. Diminuindo a concentração dos extratos para 100µg/mL, verificouse que a capacidade de inibição de DPPH tornou-se extremamente baixa, variando entre 3 e 6%. Estes

resultados demonstram que as folhas de P. grandifolia apresentam propriedades antioxidantes modestas. Considerando que substâncias naturais podem ser responsáveis pelo efeito de proteção contra o risco de muitos processos patológicos, os resultados obtidos neste trabalho mostraram que apesar de esta planta apresentar importantes propriedades nutricionais (SILVA, 1995), ela não atuaria como um eficaz agente antioxidante de radicais livres. Vários ensaios fitoquímicos para determinar a presença de compostos fenólicos (taninos e flavonóides) foram realizados, tendo como resultado a presença de taninos e flavonóides em concentrações baixas. Logo, não é esperada a presença de quantidade expressiva de componentes fenólicos e correlatos na composição de metabólitos secundários desta espécie, justificando então o baixo poder antioxidante dos extratos avaliados.

#### Susceptibilidade antimicrobiana

A susceptibilidade antibacteriana dos extratos das folhas de *P. grandifolia* foi avaliada pelo método da microdiluição. Nenhum dos extratos avaliados apresentou atividade frente às cepas testadas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Todos os extratos também foram testados frente ao fungo leveduriforme *Candida albicans*, entretanto, nenhum deles apresentou atividade contra este microrganismo.

#### Conclusões

A partir dos resultados obtidos foi possível concluir que os extratos das folhas de *P. grandifolia* (1000 ìg/mL) apresentaram propriedades antioxidantes relativamente baixas, variando entre 10 e 30%. Dentre os extratos avaliados, os extratos de polaridade média (diclorometânico e acetato de etila) apresentaram maior capacidade de seqüestro de radicais livres de DPPH° (25 e 30% de inibição, respectivamente). Apesar de a *P. grandifolia* apresentar importantes propriedades nutricionais (SILVA, 1995), ela não atuaria como agente antioxidante de radicais livres eficaz.

Com relação à atividade antimicrobiana, a mesma não foi observada frente às bactérias e levedura avaliadas

#### Agradecimentos

Nossos agradecimentos à Universidade Paranaense (UNIPAR) pelo apoio financeiro recebido e à Diretoria Executiva de Gestão da Pesquisa e da Pós-Graduação (DEGPP) pelo incentivo aos programas de iniciação científica (PIC e PIBIC) e de pesquisa docente (PIBIPP). Estendemos nossos agradecimentos ao Laboratório de Microbiologia Básica do Departamento de Farmácia da Universidade Estadual de Maringá,

pela avaliação antimicrobiana.

#### Referências

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quím. Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BURRET, F.; LEBRETON, P.; VOIRIN, B. Les aglycones flavoniques de cactees: distribuition, signification. J. Nat. Prod. v. 45, n. 6, p. 687-693, 1982.

CORREA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: IBDF, 1984, v. 1, p. 379.

COSTA, D. S. M. et al. Estudo preliminar da atividade analgésica do extrato bruto etanólico de *Pereskia grandifolia* Hars (Cactaceae). In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 18., 2003, Curitiba. **Resumos**... Curitiba: FESBE, 2003. p.12.010. CD-ROM

DEPINTO G. L.; DEMONCADA, N. P.; MARTINEZ, M. Composition of *Pereskia guamacho* gum exudates. **Biochem**. **Syst. Ecol.** v. 22, n. 3, p. 291-295, 1994.

DOETSCH, P.W.; CASSADY, J. M.; McLAUGHLIN, J. L. Cactus alkaloids. 40. Identification of mescaline and other beta-fenethylamines in *Pereskia*, *Pereskiopsis* and *Islaya* by use of fluorescamine conjugates. **J. Chromat**. v. 189, n. 1, p. 79-85, 1980

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema â-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. Ciênc. Tecnol. Aliment. v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

FANHANI, R. F. et al. Avaliação da atividade farmacológica central de *Pereskia grandifolia* Hars (Cactaceae). ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E FÓRUM DE PESQUISA, 1., 2002, Umuarama. **Anais...** Umuarama: UNIPAR, p. 45, 2002.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: UFSCAR, 2003, cap. 1.

MERCÊ, A. L. R. et al. Complexes of arabinogalactan of *Pereskia aculeata* and Co<sup>+2</sup>, Cu<sup>+2</sup>, Mn<sup>+2</sup> and Ni<sup>+2</sup>. **Biores**. **Techn**. v. 76, p. 29-37, 2001a.

\_\_\_\_\_. Fe(III) - Galactomannan solid and aqueous complexes. Potentiometric, EPR spectroscopy and thermal data. **J. Braz**. **Chem. Soc.** v. 12, n. 6, p. 791-798, 2001b.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.

PEREIRA, S. R. et al. Avaliação da atividade ansiolítica do extrato hidoralcoólico da *Pereskia grandifolia* Haworth (Cactaceae). In REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 20., 2005, Águas de Lindóia (SP). **Resumos**... Águas de Lindóia: FESBE, 2005. p. 44.202.

SAHU, N. P.; BANERJI, N.; CHAKRAVA, R. N. New saponin of oleanolic acid from *Pereskia grandifolia*, **Phytochemistry**, v.13, n. 2, p. 529-530, 1974.

Avaliação das propriedades antioxidantes...

SIERAKOWSKI, M. R.; GORIN, P. A. J.; REICHER, F. Some structural features of a heteropolysaccharide from the leaves of the cactus *Pereskia aculeata*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 6, p.1709-1713, 1987.

\_\_\_\_\_. Location of O-acetyl groups in the heteropolysaccharide of the cactus *Pereskia aculeata*. **Carbohid**. **Res**. v. 201, n. 2, p. 277-284, 1990.

SILVA, I. Noções sobre o organismo humano e utilização de plantas medicinais. Cascavel: Assoeste, 1995, p.160-161.

TAN, M. L. et al. Methanolic extract of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae) induces apoptosis in breast carcinoma, T47-D cell line. **J. Ethnopharm**. v. 96, n. 1, p. 287-294, 2005.

THOMAS, A. S.; JOEL E. T.; JOHN, H. A. Dominance of delta-5-sterols in eight species of Cactaceae, **Phytochemistry**, v. 26, p. 731-733, 1987.

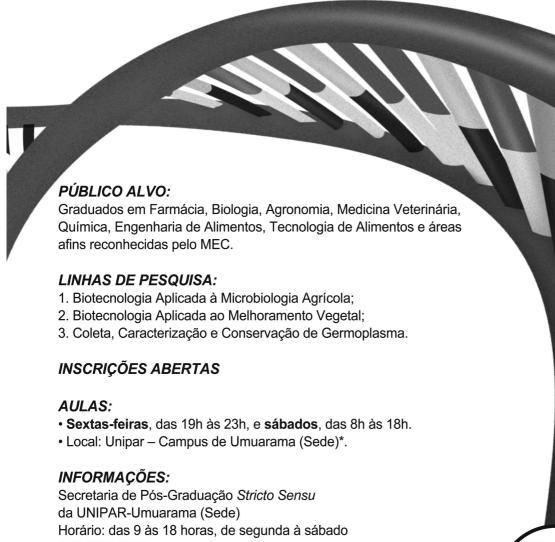
Recebido em: 24/02/2007 Aceito em: 11/10/2007 Received on: 24/02/2007

Accepted on: 11/10/2007

PÓS-GRADUAÇÃO

# MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA A APLICADA À AGRICULTURA

RECOMENDADO PELA CAPES



(44) 3621.2885

e-mail: mtdbiotecnologia@unipar.br

www.unipar.br



