

***Caenorhabditis elegans* como um bioindicador de contaminações para controle de qualidade de whey protein**

Caenorhabditis elegans as a bioindicator of contamination for quality control of whey protein

Autores:

Douglas Correia de Souza^{1*} 
Rodrigo Miranda² 
Sabrina Kineip Lino² 
Lara Pires² 
Vinicius Brumano Andrade
Cardinali² 
Maria Aparecida Scatamburlo
Moreira¹ 
Jackson Victor de Araújo¹ 

¹Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

²Colégio Ômega, Minas Gerais, Brasil.

*E-mail para correspondência / mail to: douglas.correia@ufv.br

Resumo: Intoxicações alimentares geram mortes e agravos à saúde. Alimentos industrializados passam por diversos controles de qualidade, na indústria e por órgãos estatais; no entanto, podem ocorrer desvios nessa cadeia produtiva e não existem formas acessíveis da própria comunidade testar os alimentos que consomem. Dessa forma, neste trabalho avaliamos o nematoide, organismo modelo, *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) como uma ferramenta biotecnológica para avaliar a qualidade de alimentos, neste caso, whey protein (WP). Realizamos testes de exposição aos nematoides com 25 amostras de 4 diferentes marcas de WP vendidas comercialmente. Não foi verificada mortalidade nos nematoides expostos por 24 horas, com as médias de sobrevivência sendo compatíveis com o controle negativo. *C. elegans* se mostrou uma ferramenta com grande potencial biotecnológico, devido às suas características técnicas, baixo preço e acessibilidade.

Palavras-chave: biotecnologia; controle de qualidade; saúde única.

Abstract: Food poisoning causes death and health problems. Processed foods undergo various quality control processes, both industrially and by government agencies; however, deviations can occur in this production chain, and there are no accessible ways for the community itself to test the food they consume. Therefore, in this work, we evaluated the nematode, a model organism, *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) as a biotechnological tool to assess food quality, in this case, whey protein (WP). We performed nematode exposure tests with 25 samples of 4 different commercially sold WP brands. No mortality was observed in nematodes exposed for 24 hours, with survival averages being compatible with the negative control. *C. elegans* proved to be a tool with great biotechnological potential due to its technical characteristics, low price, and accessibility.

Keywords: biotechnology; quality control; one health.

Recebido em:

11/12/2024

Aceito em:

03/07/2025



1. Introdução

Intoxicações alimentares geram inúmeros agravos à saúde e podem ser fatais¹. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), essas intoxicações afetam anualmente mais de 1 milhão de pessoas das quais, cerca de 400 mil, culminam em óbitos². Elas podem ocorrer pela presença de substâncias químicas, microrganismos e seus subprodutos tóxicos na matéria-prima, na pré-produção, na produção ou no produto final³. Em vista disso, as indústrias alimentícias e os órgãos de vigilância sanitária pública monitoram constantemente os alimentos por meio de Controles de Qualidade (CQ)⁴⁻⁶.

Whey protein (WP), ou proteína do soro de leite, é um produto de origem animal, produzido a partir do leite bovino, caprino e de bubalinos, como subproduto da produção de queijo. É uma mistura de diversas proteínas globulares isoladas e, por isso, um produto com alto valor agregado, rápida digestão e concentrado em aminoácidos essenciais como a leucina, um importante promotor da síntese proteica muscular⁷. O WP é comumente utilizado como suplemento alimentar, visando incremento e manutenção de massa magra⁸ ou outros benefícios, como regulação de glicose⁹. Nos últimos anos, o consumo no Brasil vem aumentando, refletindo a crescente demanda por suplementos alimentares ricos em proteínas¹⁰. Em 2023, cerca de 12 toneladas foram importadas, totalizando 96 milhões de dólares¹¹.

Por ser um alimento de origem animal, a produção de WP envolve inúmeras etapas que necessitam de CQ: salubridade dos animais, dos humanos e dos ambientes envolvidos na coleta e transporte do leite até a fábrica; produção; envase e armazenamento do produto até o consumidor final. Dessa forma, os CQ desse produto podem ser considerados compatíveis com o conceito de Saúde Única, por envolverem e necessitarem da plena saúde dos animais, dos humanos e do ambiente para mitigar agravos em todos esses níveis¹².

Recentemente, intoxicações alimentares fatais provenientes de cervejas contaminadas por dietilenoglicol alertaram a população sobre possíveis desvios da cadeia produtiva de alimentos industrializados, evidenciando a existência de lacunas na detecção de agentes tóxicos em alimentos e a urgência de inovação nesses CQ¹³.

Nesse sentido, o organismo modelo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) tem sido amplamente utilizado como bioindicador de contaminantes ambientais e substâncias potencialmente tóxicas, auxiliando no monitoramento da qualidade de alimentos, água e outras matrizes biológicas¹⁴. *C. elegans* é um nematoide de vida livre que mede cerca de 1 mm e seu genoma possui ortólogos para até 70 % dos genes humanos¹⁵. Esse fato se une a vantagens técnicas e éticas, uma vez que sua manutenção é prática e de baixo custo, por ele ser cultivado em meio à base de ágar e alimentado com *Escherichia coli* (*E. coli*)^{16,17}, e não necessitar de aprovação de comitês de ética, favorecendo o uso em pesquisas, ensino, diversas aplicações biotecnológicas e em CQ.

Trabalhos recentes vêm utilizando *C. elegans* para monitorar efeitos tóxicos em alimentos, em água e outros materiais de consumo humano e animal¹⁴⁻¹⁶. Isso se deve ao fato do organismo responder a diversos contaminantes, desde agentes químicos a patógenos¹⁸⁻²⁰. Dentro dessas perspectivas e considerando o crescente consumo de WP no Brasil, o intuito do presente estudo foi realizar testes de exposição a diferentes marcas e lotes de WP vendidos localmente, almejando contribuir para a garantia da segurança alimentar e saúde dos consumidores.

2. Material e métodos

2.1 Delineamento do estudo e seleção das amostras

Trata-se de um estudo experimental conduzido no laboratório de ciências de uma instituição de ensino médio privada, em parceria com o Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (UFV), ambos em Viçosa, Minas Gerais. O estudo foi realizado pelos alunos como metodologia ativa com foco em Biotecnologia e Saúde Única e como uma atividade extensionista da UFV.

Foram selecionadas 25 amostras de diferentes lotes de 4 marcas de WP (A-D) obtido de leite bovino e vendidas no comércio local. As análises foram realizadas em triplicatas, sendo uma etapa conduzida na escola e as outras duas na universidade, garantindo a reprodutibilidade dos experimentos. Todos os materiais utilizados foram descartados pela UFV, de acordo com os protocolos de descarte de resíduos em pesquisas institucionais.

2.2 Cultivo e sincronização dos nematoides

Nesse trabalho utilizaram-se cepas de *C. elegans* N2 Bristol e de *E. coli* OP50, de origem do Caenorhabditis Genetics Center. Os vermes foram cultivados em incubadora Biochemical Oxygen Demand (B.O.D) a 20 °C em placas contendo Meio-NGM (1,7 % Bacto Agar, 0,5 % Bactopeptona, 50 mM NaCl, 25 mM tampão fosfato de potássio pH 6,0, 1 mM CaCl₂, 1 mM MgSO₄ e 5 µg/mL de colesterol, H₂O a 1 L) semeadas com caldo LuriaBroth incubado com a cepa *E. coli* OP50 e foram manipulados por meio de técnicas estabelecidas no uso do modelo¹⁰. Foi preparado meio tampão M9 (3 g KH₂PO₄, 6 g Na₂HPO₄, 5 g NaCl, 1 mL 1 M MgSO₄, H₂O para 1 L) para coleta e lavagem dos animais das placas. Como meio de exposição, utilizou-se S. Basal (5,85 g NaCl, 1 g K₂HPO₄, 6 g KH₂PO₄, 1 mL colesterol [5 mg/mL em etanol], H₂O para 1 L)²¹.

Para sincronizar *C. elegans* no mesmo estágio larval, vermes adultos grávidos foram tratados com água estéril contendo NaOH 0,5 M e solução de água sanitária a 4 % (NaClO) preparada no momento do uso. Os ovos foram liberados e isolados por agitação, centrifugados (1.300 x g por 1 min) e depois lavados 3 vezes em tampão M9. Na última lavagem, os ovos foram suspensos em S. Basal e deixados sob agitação suave a 20 °C por 16 h para que os ovos eclodissem. As larvas L1 foram transferidas para meio NGM com *E. coli* OP50 a 20°C por ~ 60 horas até atingirem o estágio L4. Após serem coletados e lavados 3 vezes em S. Basal, foram centrifugados a (1300 × g por 2 min) e a suspensão foi ajustada para que cada 50 µl contivesse + 30 vermes L4.

2.3 Design do experimento

Todas as amostras foram alíquotadas em cerca de 5 gramas em Eppendorf-âmbar®, mantidas em temperatura ambiente no laboratório (cerca de 22 °C) e protegidas da luz e de fontes de calor em recipientes de plástico até o momento da análise. Foram pipetados 50 µL de S. basal com os vermes em placa de 96 poços e 50 µL das amostras de WP diluídas em S. Basal nas concentrações de 0,15 g/mL (concentração indicada pelos fabricantes) e depois incubados em temperatura ambiente por 24 horas (22 °C ± 2 °C). Em cada leitura, 30 nematóides foram recuperados e analisados por microscopia direta.

O controle negativo foi realizado também em triplicatas onde os vermes foram expostos a S. Basal. Para o controle positivo, foi utilizado S. Basal com 10 % de NaClO, que já é um conhecido agente tóxico agudo ao animal²². Para determinar a taxa de sobrevivência de *C. elegans*, o número de vermes vivos foi registrado a cada leitura e a porcentagem de vermes sobreviventes foi calculada usando a seguinte fórmula: sobrevivência (%) = (vermes vivos/total de vermes utilizados) × 100. Os vermes foram considerados mortos quando não responderam a estímulo mecânico.

2.4 Estatística

A análise de dados foi realizada utilizando o *software* Statistical Package for the Social Sciences versão 22.0 (SPSS, Universidade de Stanford, EUA). As comparações entre os controles positivos, negativos e testes foram conduzidas usando a análise de variância de uma via (ANOVA) seguidas pelo pós-teste de Tukey. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

3. Resultados

Após a exposição dos nematoides às amostras de WP (**Tabela 1**), não foi observada mortalidade significativa dos animais em nenhuma das 25 amostras testadas. Os grupos experimentais, incluindo o controle negativo (nematoides expostos apenas ao meio S. Basal), apresentaram taxas de sobrevivência superiores a 97 %, indicando que não houve efeito tóxico agudo nas amostras de WP nas condições testadas. Não houve diferença estatística entre a média de sobrevivência das amostras e do controle negativo. Já o controle positivo (NaClO a 10 %) apresentou 100 % de mortalidade, indicando a já conhecida toxicidade aguda do composto no modelo e a validação dos testes de sobrevivência por estímulo mecânico²².

Tabela 1 - Percentual de sobrevivência de *Caenorhabditis elegans* após exposição a amostras (n = 25) de quatro marcas comerciais de *whey protein* e aos controles, avaliado por ensaio de toxicidade em Viçosa, Minas Gerais, Brasil, 2024.

Amostras	% de sobreviventes					
	1	Repetição 2	3	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão
A (n=5)	100	97	100	100*	192	111
B (n=5)	97	100	97	97*	192	111
C (n=10)	100	100	100	100*	0	0
D (n=5)	100	100	100	100*	0	0
Controle Negativo (S. Basal)	100	98	100	100	96	56
Controle Positivo (NaClO)	0	0	0	0†	0	0

*sem e †com diferença significativa em relação ao controle negativo (p < 0,05; One-way ANOVA, Tukey pós-teste).
Fonte: Autores.

A ausência de mortalidade dos grupos de organismos expostos às amostras de WP sugere que, sob as condições realizadas no trabalho, não houve presença de agentes tóxicos aos quais o nematoide é sensível.

4. Discussão

Esse trabalho se mostra inédito de forma que o organismo *C. elegans* nunca foi utilizado como CQ para análises com WP. Estudos anteriores já demonstraram a falta de atividade nematicida do leite de bovinos no modelo, assim como um possível CQ para esse material. Já o leite de outros animais, como cabras, apresentaram altas taxas de mortalidade em nematoides testados²³⁻²⁵.

A ausência de mortalidade dos animais testados não elimina a possibilidade de presença de toxinas às quais o modelo não é sensível. Essa ausência também pode estar relacionada à natureza dos compostos presentes no WP e à necessidade de tempos maiores de exposição. Contudo, de modo geral, *C. elegans* tem se mostrado adequado para estudos toxicológicos e a adição de análises de parâmetros fisiológicos e comportamentais pode contribuir para a maior sensibilidade do teste.

Nessa perspectiva, implementar CQ utilizando o modelo pode contribuir para o monitoramento e mitigação da presença de agentes tóxicos em alimentos, mesmo sendo necessária a complementação com outras abordagens e análises, a fim de garantir uma avaliação sensível e abrangente desses alimentos. Nesse sentido, são necessárias pesquisas e inovações contínuas. Soma-se a isso o ensino de métodos de análise de alimentos, em contextos variados, como no ensino médio, visando à promoção da Saúde Única por meio da integração de práticas acadêmicas na sociedade.

Ademais, a característica extensionista do estudo atende a perspectiva de Pluriversidade Solidária, concebida por Souza e Santos²⁶, que propõe a transformação das instituições de ensino superior em espaços que reconhecem, dialogam e integram múltiplas formas de conhecimento. A partir desse conceito, trabalhamos com a criação de ambientes inclusivos de ensino que possibilitam a transmissão de conhecimentos e técnicas importantes para uma comunidade²⁷. Desse modo, a própria comunidade pode contribuir para o CQ dos alimentos que consome.

A metodologia utilizada no presente estudo foi desenvolvida para favorecer o ensino e a aplicação de biotecnologias para promoção da saúde humana, dos animais e do ambiente, em escolas; no entanto, ela necessita ser aprimorada. Dessa forma, estudos futuros podem avaliar outros aspectos tóxicos no *C. elegans*, diferentes modelos, testar uma maior variedade de amostras e produtos, entre outros.

5. Conclusão

Os testes de exposição realizados com diferentes marcas e lotes de WP comercializados localmente demonstraram que as amostras avaliadas não promoveram efeitos tóxicos agudos em *C. elegans*, uma vez que as taxas de sobrevivência observadas foram compatíveis com o controle negativo. Esses resultados indicam que o modelo biológico utilizado foi capaz de responder adequadamente às condições experimentais, demonstrando potencial como ferramenta biotecnológica para triagem e controle de qualidade de alimentos destinados ao consumo humano e animal, contribuindo para a garantia da segurança alimentar e da saúde dos consumidores. Além disso, a integração ensino, pesquisa e extensão, empregada no estudo, pôde favorecer a formação científica dos estudantes e fortalecer a produção compartilhada de conhecimentos com potencial impacto social e científico para a comunidade.

Agradecimentos

Agradecemos a Liga acadêmica de estudos em *Caenorhabditis elegans* (LaeCe), a Dra. Francine Coa e ao Dr. Luiz Paulo Rigueira de Moraes pelas contribuições ao trabalho.

Contribuição de autoria

Douglas Correia de Souza, Rodrigo Miranda, Sabrina Kineip Lino, Lara Pires, Vinicius Brumano Andrade Cardinali redigiram o manuscrito, contribuíram para a concepção e desenho do estudo, revisaram criticamente o manuscrito, aprovaram a versão final e concordam em ser responsáveis por todos os aspectos do trabalho, garantindo integridade e precisão. Maria Aparecida Scatamburlo Moreira e Jackson Victor de Araújo contribuíram para a concepção e desenho do estudo, revisaram criticamente o manuscrito, aprovaram a versão final e concordam em ser responsáveis por todos os aspectos do trabalho, garantindo integridade e precisão.

Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse na realização do presente trabalho.

Fonte de financiamento

Esta pesquisa foi apoiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) código financeiro 001.

Referências

1. Newell DG, Koopmans M, Verhoef L, *et al.* Food-borne diseases — The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *International Journal of Food Microbiology*. 2010;139:S3-S15. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.021
2. Organisation mondiale de la santé, ed. WHO Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases. World health organization; 2015.
3. Bernardes NB, Facioli LDS, Ferreira ML, Costa RDM, Sá ACFD. Intoxicação Alimentar: Um problema de Saúde Pública. *IDonline*. 2018;12(42):894-906. doi:10.14295/online.v12i42.1373
4. Silva VBD, Cardoso RDCV. Controle da qualidade higiênico-sanitária na recepção e no armazenamento de alimentos: um estudo em escolas públicas municipais de Salvador, Bahia. *Segur Aliment Nutr*. 2015;18(1):43. doi:10.20396/san.v18i1.8634687
5. Rodrigues RM, Souza ADM, Bezerra IN, Pereira RA, Yokoo EM, Sichieri R. Evolução dos alimentos mais consumidos no Brasil entre 2008-2009 e 2017-2018. *Rev saúde pública*. 2021;55(Supl.1):1-10. doi:10.11606/s1518-8787.2021055003406
6. Porto LTDS, Miranda ME, Theodoropoulos VCT. Assessment of hygienic and sanitary conditions in food and nutrition service units in the Campinas-SP region. *S*. 2025;26(1):133-142. doi:10.37777/dscs.v26n1-5300
7. Cava E, Padua E, Campaci D, *et al.* Investigating the Health Implications of Whey Protein Consumption: A Narrative Review of Risks, Adverse Effects, and Associated Health Issues. *Healthcare*. 2024;12(2):246. doi:10.3390/healthcare12020246
8. Haraguchi FK, Abreu WCD, Paula HD. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. *Rev Nutr*. 2006;19(4):479-488. doi:10.1590/S1415-52732006000400007
9. Hayes A, Cribb PJ. Effect of whey protein isolate on strength, body composition and muscle hypertrophy during resistance training: Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. 2008;11(1):40-44. doi:10.1097/MCO.0b013e3282f2a57d
10. Felix P. Consumo de whey protein cresce 25% no Brasil; veja benefícios. Consumo de whey protein cresce 25% no Brasil; veja benefícios. 2023. Accessed May 30, 2026. <https://veja.abril.com.br/saude/consumo-de-whey-protein-cresce-25-no-brasil-veja-beneficios/>
11. Strickland F. Importação de Whey cresce 176% em quatro anos, mostra análise. Importação de Whey cresce 176% em quatro anos, mostra análise. May 27, 2024. Accessed May 30, 2026. <https://www.correiobraziliense.com.br/economia/2024/05/6865860-importacao-de-whey-cresce-176-em-quatro-anos-mostra-analise.html>
12. Beckman TO, De Souza CCN, Do Nascimento KLA, *et al.* O papel do médico veterinário frente a saúde única – uma revisão. *Scientific Electronic Archives*. Published online October 31, 2023. doi:10.36560/161120231805
13. Mansur R. Caso Backer: mais de 2 anos após mortes por intoxicação, Justiça começa a ouvir testemunhas. *G1 Minas*. March 23, 2022. Accessed May 30, 2026. <https://g1.globo.com/mg/minas-gerais/noticia/2022/05/23/caso-backer-mais-de-2-anos-apos-mortes-por-intoxicacao-justica-comeca-a-ouvir-testemunhas.ghtml>
14. Deji-Oloruntoba OpeyemiO, Elufioye TaiwoO, Adefegha SA, Jang M. Can *Caenorhabditis elegans* Serve as a Reliable Model for Drug and Nutraceutical Discovery? *Applied Biosciences*. 2025;4(2):23. doi:10.3390/applbiosci4020023
15. Babu K, Koushika SP. *Caenorhabditis elegans*: Origins and use as a modern model organism. *J Biosci*. 2025;50(4):84, s12038-025-00567-7. doi:10.1007/s12038-025-00567-7
16. Hunt PR. The *C. elegans* model in toxicity testing. *J of Applied Toxicology*. 2017;37(1):50-59. doi:10.1002/jat.3357
17. Hoshino K, Yasui C, Ikeda T, Arikawa K, Toshima H, Nishikawa Y. Evaluation of *Caenorhabditis elegans* as the Host in an Infection Model for Food-borne Pathogens. *Jpn J Food Microbiol*. 2008;25(4):137-147. doi:10.5803/jsfm.25.137

18. Zhang W, Zhang N, Zheng S, *et al.* Effects of commercial beverages on the neurobehavioral motility of *Caenorhabditis elegans*. *PeerJ*. 2022;10:e13563. doi:10.7717/peerj.13563
19. De Oliveira Caland RB, Cadavid COM, Carmona L, Peña L, De Paula Oliveira R. Pasteurized Orange Juice Rich in Carotenoids Protects *Caenorhabditis elegans* against Oxidative Stress and β -Amyloid Toxicity through Direct and Indirect Mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019;2019:1-13. doi:10.1155/2019/5046280
20. Canedo-Reis NAP, De Oliveira Pereira FS, Ávila DS, *et al.* Grape juice reduces the effects of amyloid β aggregation phenotype and extends the longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Nutritional Neuroscience*. 2023;26(11):1147-1158. doi:10.1080/1028415X.2022.2140394
21. Gubert P. Guia Para Pesquisadores Inciantes Em *Caenorhabditis Elegans*. Editora e-Publicar; 2022.
22. Jeong JW, Sarmast ND, Terlier T, Van Der Hoeven R, Holland JN, Parikh N. Assessment of the cytotoxic effects and chemical composition of the insoluble precipitate formed from sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *Int Endodontic J*. 2021;54(10):1892-1901. doi:10.1111/iej.13583
23. Correia DS, Lopes IS, Lopes VM, Polveiro RC, Moreira MAS, Araujo J V JV. Nematicidal Activity of Goat Milk in *Caenorhabditis elegans*. *JDVS*. 3 de abril de 2023. doi:10.19080/JDVS.2023.15.555915
24. Correia DS, Argumedo AKJ, Queiroz CL, Morais LPR, Moreira MAS, Araujo JV. Nematicidal activity of Equine milk in *Caenorhabditis elegans*. *JDVS*. 10 de janeiro de 2025;17(3). doi:10.19080/JDVS.2025.17.555964
25. Alimi D, Rekik M, Akkari H. Comparative in vitro efficacy of kefir produced from camel, goat, ewe and cow milk on *Haemonchus contortus*. *J Helminthol*. 2019;93(04):440-446. doi:10.1017/S0022149X18000378
26. Santos B de S. O futuro começa agora: da pandemia à utopia. Boitempo; 2021.
27. Santos B de S, Almeida Filho N de. A universidade no século XXI: para uma universidade nova. Edições Almedina; 2008.