

RAFAEL JESUS GONÇALVES RUBIRA

**DETECÇÃO DE AGROTÓXICOS (COQUETEL) UTILIZADOS NAS LAVOURAS
DE CANA-DE-AÇÚCAR E O EFEITO DESTES SOBRE SISTEMAS
BIOLÓGICOS**

Relatório de Pós-doutorado realizado
na Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Faculdade de Ciências e
Tecnologia (FCT), Presidente Prudente

Supervisor(a): Prof. Dr. Aldo Eloizo
Job

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paul (FAPESP) -
2020/05423-0

Presidente Prudente

2024

Resumo do Projeto - Bolsa no País

A demanda por alimento em nível mundial requer sua produção em larga escala. Neste contexto, a aplicação de agrotóxicos, entre outras estratégias para o aumento de produtividade por área plantada, é uma realidade. Porém, a aplicação intensiva de agrotóxicos pode induzir sua retenção nas culturas e no solo e, principalmente por escoamento ou lixiviação, esses podem atingir desde águas superficiais até subterrâneas. Portanto, a determinação de resíduos de agrotóxicos em água, solo e alimentos tem atraído a atenção de diversos pesquisadores para melhor compreender e determinar os impactos ambiental e na saúde. Neste projeto, pretende-se detectar por meio de técnicas cromatográficas os agrotóxicos Clorantraniliprole (CLTP), Isoxaflutol (ISF), Imazapique (IMZ), Parationa Metilica (PM) e Simazina (SMZ) aplicados em lavouras de cana-de-açúcar na região de Presidente Prudente. Além da vertente de detecção, o trabalho visa contribuir no entendimento dos possíveis efeitos destes agrotóxicos sobre sistemas biológicos: i) modelos da estrutura lipídica da membrana celular através de filmes de Langmuir (monocamadas) e por meio de vesículas unilamelares gigantes (GUVs – giant unilamellar vesicles - bicamadas) do fosfolipídio dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolin (DOPC); ii) cultivo in vitro de células humanas para testes de viabilidade celular; iii) sistemas in vivo (peixes e, eventualmente, ratos). Em ambas as vertentes, detecção e efeitos sobre sistemas biológicos, os agrotóxicos serão investigados não só de forma individual, mas também em coquetel (mistura) e oriundos de amostras reais de rios da região de Presidente Prudente. Este projeto insere-se no Temático Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) em Eletrônica Orgânica (INEO), 2014/50869-6, e será desenvolvido no Laboratório de Pesquisa com Certificação de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos, Água e Solos, coordenado pelo Prof. Dr. Aldo Eloizo Job e construído na FCT/UNESP em parceria com os Ministérios Públicos Estadual e Federal. Além do mais, um estágio BEPE será realizado na Espanha/Málaga.

Project Summary – BEPE - 30/08/2022 a 29/08/2023

This research internship abroad project (BEPE) is related to the postdoctoral project FAPESP 2020/05423-0, which involves the detection and effects of the pesticides Chlorantraniliprole, Isoxaflutol, Imazapique, Methyl Parathion, and Simazine on biological systems. The high consumption of pesticides causes irreversible damage to human health, such as carcinogenesis, and to the environment, contaminating the soil and, mainly, groundwater and water sources. According to a report by the United Nations (UN), it is estimated that around 200,000 people die each year worldwide as victims of acute pesticide poisoning. Therefore, this study will aim to verify the effect of the pesticides Chlorantraniliprole (CLTP), Isoxaflutol (ISF), Imazapique (IMZ), Methyl Parathion (MP) and Simazine (SMZ) on the liver and cardiac, and muscle tissue, analyzed by the CARS (Coherent Anti-Stokes Raman Spectroscopy) microscopy technique. This technique will complement the studies under development of the post-doctoral research project (n° 2020/05423-0), helping to understand the effect of pesticides on human liver epithelial cells (HeP G2) and on the liver and gill tissues of fish of the species *Oreochromis niloticus* (Tilapia). In addition to this study, we will carry out micro-Raman spectroscopy/imaging studies combined with SERS (Surface-Enhanced Raman Scattering) in order to check the powerfulness of this technique for detecting these kinds of pollutants. For that, we will have the collaboration of Prof. Dr. Carlos Juan Otero (Letter from the BEPE supervisor and University attached to SAGE) from the University of Malaga, Spain.

Motivo: Relatório Final Antecipado - Encerramento da Bolsa

Venho com imensa satisfação e gratidão mencionar que eu beneficiário do processo Fapesp 2020/05423-0 fui aprovado no concurso público EDITAL N° 336/2023 - STGP/IGCE/CRC para o cargo de Professor Assistente, com titulação mínima de Doutor, sob o regime jurídico efetivo, na área de conhecimento de Física da Matéria Condensada, junto ao departamento de Física do Instituto de Geociências e Ciências Exatas (IGCE) da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho (UNESP), campus de Rio Claro, em RDIDP - Regime de Dedicção Integral à Docência e à Pesquisa, aplicado pela Portaria de 14/06/2024, publicada no DOE de 17/06/2024. Proc. 350/2024-IGCE/CRC. A admissão referente ao concurso foi assinada em 01/07/2024 (comprovante em anexo no SAGE) no mesmo dia do envio do pedido de cancelamento da bolsa de pesquisa.

Importante relatar que, nesse período de pós-doutorado (01/01/2021 a 30/05/2024), foram publicados cerca de 19 artigos científicos, sendo 6 como primeiro autor (**Anexo 01**). Antes de iniciar o relatório, gostaria de mencionar alguns pontos que julgo serem importantes durante esse período. Em 01 de janeiro de 2021, iniciei o pós-doutorado; no entanto, até aquele momento, eu não trabalhava com sistemas biológicos complexos (in vivo). Desses 19 artigos, 6 foram voltados à área biológica, com análises em ratos e peixes. Esses 6 artigos na área biológica são frutos do pós-doutorado e de novas colaborações adquiridas durante esse período (**Anexo 02**). Já os 13 artigos restantes são de colaborações adquiridas ao longo da carreira científica, que foram mantidas até chegar no pós-doutorado. Portanto, o bolsista chega em 2024 na data de 30 de junho de 2024 com o pedido de finalização da bolsa com um total de 19 artigos publicados (**Anexo 03**). Além desses trabalhos publicados (comprovantes em anexo no SAGE), o candidato possui cerca de 8 artigos em fase final de preparação para submissão (comprovantes no **Anexo 04**). Desses, quatro são na área de espectroscopia vibracional e 4 voltados para a análise de sistemas biológicos.

Os estudos em material biológico ocorreram devido a uma sugestão de um dos revisores da FAPESP:

“Adicionalmente, seria interessante também ser realizado análises dos efeitos dos agrotóxicos em organismos aquáticos (peixes), e eventualmente testes com ratos, e tentar estabelecer correlações com modelos de membranas. Certamente isto elevaria os impactos do resultado do projeto”. Revisor FAPESP.

O bolsista é grato ao revisor (a), pois fez o pesquisador sair da zona de conforto. Aceitei o desafio mesmo sendo Físico de formação e nunca ter entrado em um biotério. Desta forma, começo a trabalhar com sistemas *in vivo* no pós-doutorado no Laboratório de Pesquisa com Certificação de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos, Água e Solos. O objetivo do projeto de pós-doutorado era estudar a detecção de agrotóxicos utilizados nas lavouras de cana-de-açúcar e seu efeito sobre sistemas biológicos complexos, como peixes, ratos e células. Os resultados obtidos durante o pós-doutorado foram de grande relevância, permitindo a publicação do artigo intitulado "*Biological responses to imazapic and methyl parathion pesticides in bioinspired lipid membranes and Tilapia fish*" em 2023 na conceituada revista *Journal of Hazardous Materials*. Em 2022 foi possível realizar um estágio sanduíche BEPE de pós-doutorado financiado pela FAPESP (Processo n° 2021/13884-0) na Universidade de Málaga (UMA), na Espanha, onde foi possível trabalhar com técnicas avançadas de microespectroscopia a sistemas biológicos. O projeto desenvolvido no BEPE era intitulado "Análise de sistemas biológicos expostos a pesticidas por meio de espalhamento Raman anti-stokes coerente (CARS)". Recentemente (2024) com parceria do Prof. Dr. Juan (supervisor BEPE) foi publicado o artigo "*Assessing the negative impact of chlorantraniliprole, isoxaflutole, and simazine pesticides on phospholipid membrane models and tilapia gill tissues*" na *Environmental Pollution* (artigo completo no SAGE). Além da parceria com o Prof. Dr. Juan Carlos o estágio BEPE possibilitou, a cooperação com a Universidade de Coimbra, onde o bolsista passou um período aprendendo análise multivariada de espectros Raman em sistemas biológicos com a Profa. Dra. Paula Marques e o Prof. Dr. Luis Alberto Esteves Batista de Carvalho, sendo este grupo uma referência mundial na utilização de Raman em análise clínica (artigos em elaboração). O objetivo principal no projeto BEPE era aprimorar a compreensão sobre como os contaminantes afetam os sistemas biológicos complexos. Para isso foram utilizadas técnicas de microespectroscopia avançadas lineares como espectroscopia Raman, Infravermelho (FTIR), Fluorescência, e não lineares como CARS e Microscopia de Segunda Harmônica (SHG), o que permitiu a análise de processos dinâmicos em sistemas biológicos complexos.

Na data de elaboração deste relatório de conclusão da bolsa FAPESP, o projeto intitulado "Efeitos dos Agrotóxicos utilizados em plantações de Cana-de-Açúcar da região de Presidente Prudente em Ratos Wistar: Análise via Microespectroscopia Raman", proposto à FAPESP com a renovação (de 10 de janeiro de 2024 a 10 de janeiro de 2025), foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) e assinado SOMENTE no dia 19/09/2024 (certificado anexado no SAGE), momento em que o bolsista se encontrava

exercendo o cargo de professor na UNESP de Rio Claro. No entanto, mesmo com o fim da bolsa, o bolsista, em parceria com a Prof.^a Dr.^a Giovana Rampazzo, continuará utilizando o biotério para gerar resultados que subsidiem futuras publicações deste trabalho. Além disso, importante destacar que, mesmo com a conclusão do projeto, o pesquisador manterá todo o conhecimento e linha de pesquisa adquirida no pós-doutorado e no BEPE. Concentrando-se na investigação dos efeitos dos contaminantes em sistemas biológicos via microespectroscopia Raman. Neste contexto, o beneficiário submeteu um projeto Jovem Pesquisador (JP) (comprovante em anexo no SAGE) intitulado como “Biofotônica: análise dos efeitos de agrotóxicos em sistemas biológicos via microespectroscopia Raman.” Portanto, no dia 12/07/2024 com o processo FAPESP nº 2024/11108-1 (escopo do projeto Figura 1), foi submetido o projeto para ser realizado na UNESP campus de Rio Claro focado no estudo de sistema biológico (peixes, ratos e abelhas). Importante ressaltar que este projeto vislumbra abrir uma nova linha de pesquisa no campus da universidade, e como objetivo futuro, aplicar os conhecimentos adquiridos no projeto JP em amostras biológicas humanas. Essa iniciativa futura buscará colaboração com hospitais da região de Rio Claro, com o propósito de contribuir para avanços significativos nessa área de pesquisa. Portanto, agradeço ao incentivo do revisor da FAPESP por ampliar meus objetivos e me tirar da zona de conforto, o que abriu várias perspectivas.

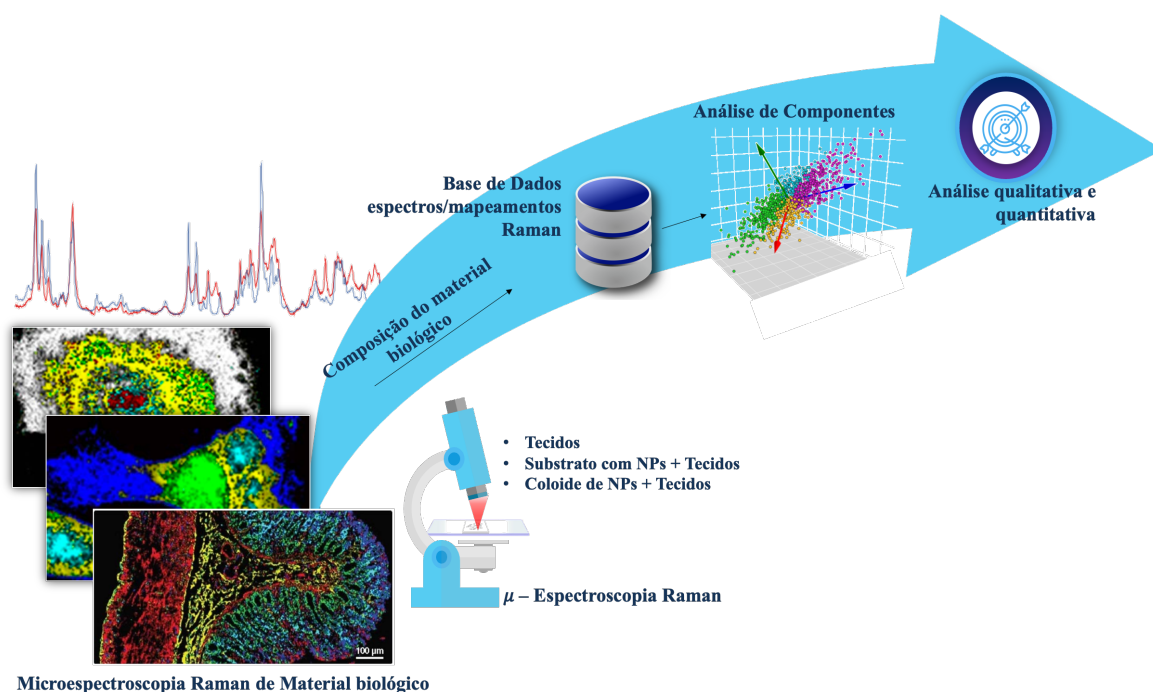


Figura 1: ilustração dos passos necessários para a execução do projeto JP, tendo como objetivo final a obtenção de diagnósticos precisos e efetivos.

1. REALIZAÇÃO NO PERÍODO DE VIGÊNCIA (01/01/2024 a 31/12/2024)

Descrição geral

Este relatório de pesquisa abrange os resultados referentes ao período de 01/01/2024 a 31/12/2024, conforme mencionado no pedido de renovação. No entanto, devido ao pedido de cancelamento da bolsa em virtude da aprovação em concurso público para o cargo de professor no campus da UNESP de Rio Claro, os resultados contemplam apenas o período de 01/01/2024 a 30/06/2024. Um fato relevante a ser mencionado foi, infelizmente, a demora na aprovação do projeto pelo CEUA de Presidente Prudente. Isso é evidenciado no comprovante anexado no SAGE, que foi assinado somente em 19/09/2024, momento em que o bolsista já estava exercendo suas funções como professor na UNESP de Rio Claro. Como previsto anteriormente, o primeiro semestre foi utilizado para a elaboração do projeto e do formulário para o comitê de ética (comprovantes anexados no SAGE), sendo o segundo semestre programado para o uso dos animais e todos os experimentos. Nesse período, os tecidos hepáticos, ósseo, cardíaco e o fluido sanguíneo na ausência e na presença dos agrotóxicos, serão estudados via microespectroscopia Raman com análise multivariada dos espectros e mapeamentos químicos em 2D e 3D. Até o momento da elaboração deste relatório para a finalização da bolsa, o bolsista está organizando o biotério em colaboração com a Prof. Dra. Giovana Rampazzo. Portanto, durante o período do primeiro semestre de 2024, o bolsista trabalhou em artigos que foram publicados e em outros que estão em fase de submissão (Anexos 3 e 4). Como o bolsista precisa dos animais para dar continuidade ao estudo, neste período trabalhou em experimentos de microespectroscopia Raman nos tecidos dos peixes, como mostram os resultados abaixo. Importante mencionar que estes resultados a baixos, juntamente com os resultados da BEPE serão compilados em 2 artigos, como intitulados abaixo:

1) Victor R.G. Batista; Rafael R. Correia; Luís A. E. Batista de Carvalho; Maria Paula M. Marques; Giovana R. Teixeira; Aldo E. Job; Juan. C. Otero; **Rafael J.G. Rubira.**; Exploring Vibrational Changes with CARS and Raman in Tilapia Gills and Livers Exposed to CLTP and MP Pesticides and Detection by Surface Amplified Raman Spectroscopy (SERS) of the Pesticides. 2024. **Em Elaboração.**

2) Rafael R. Correia; Victor R.G. Batista; Rafael R. Correia; Luís A. E. Batista de Carvalho; Maria Paula M. Marques; Giovana R. Teixeira; Aldo E. Job; Juan. C. Otero.; **Rafael J.G. Rubira.** Analysis of the effect of pesticides used on sugar cane on the gills and livers of Tilapias. 2024. **Em Elaboração.**

Este RC foi estruturado de acordo com as normas de relatórios científicos de bolsa no país, disponível em <https://fapesp.br/14453/formato-para-os-relatorios-cientificos-anuais-e-final-bolsas-no-pais> (atualizado em 22/09/2020). A **Seção 1** trata-se desta descrição geral do relatório. A **Seção 2** traz o cronograma proposto e o que foi realizado. A **Seção 3** relata de forma resumida os materiais e métodos, enquanto a **Seção 4** mostra um resumo dos resultados (detalhes completos nos artigos em anexo no SAGE). A **Seção 5** abrange as conclusões. As **seções 6 e 7** trazem as atividades realizadas, como a lista de publicações durante todo o pós-doutorado (01/01/2021 a 30/06/2024) e os artigos em fase de submissão (01/01/2024 a 30/06/2024). A **seção 8** mostra as demais atividades realizadas durante o pós-doutorado (01/01/2021 a 30/06/2024), tais como prêmios, atuação como editor, parcerias internacionais e nacionais, cursos, docência, coorientações, participações em bancas, participação em eventos, entrevistas, divulgação, trabalhos com destaque e revisão de artigos de periódicos internacionais. Por fim, a **seção 9** traz o Plano de gestão de dados da bolsa no país.

2. CRONOGRAMA PROPOSTO/ATIVIDADES REALIZADAS

Previsto - 1º Semestre:

1. Elaboração do projeto para submissão ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências e Tecnologia da UNESP, campus de Presidente Prudente.
2. Elaboração do formulário para submissão ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências e Tecnologia da UNESP, campus de Presidente Prudente.
3. Submissão do artigo 2 referentes ao efeito dos agrotóxicos em sistemas aquáticos (artigo aceito, DOI: 10.1016/j.envpol.2024.123904).

Previsto - 2º Semestres:

1. Compra dos 90 camundongos machos da linhagem C57BL/6 com 21 dias de vida provenientes do Biotério Central de Botucatu-SP após a aceitação do projeto do CEUA.
2. Início dos experimentos no Biotério de Pequenos Mamíferos da FCT/UNESP, em condições controladas e de acordo com o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) após a aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UNESP.
3. Eutanásia por decapitação para coleta do sangue através do rompimento dos vasos cervicais. A próstata ventral, o testículo e o epidídimo direitos, coração, músculo sóleo extensor digital longo (EDL), e fígado serão coletados e pesados em balança analítica.
4. Análise dos tecidos biológicos via espectros Raman correlacionando com análise multivariada
5. Elaboração do relatório científico final,

As atividades referentes ao segundo semestre serão realizadas, porém, até o momento da elaboração deste relatório científico, foram concluídas até o item 3 do 1º semestre. Isso ocorreu porque o bolsista foi aprovado no concurso para professor na UNESP, campus de Rio Claro, como mencionado acima.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Esta seção visa destacar as principais facetas experimentais do experimento realizado durante o primeiro semestre de 2024 do projeto.

3.1. Agrotóxicos

Os herbicidas Isoxaflutole (massa molar 359,32 g/mol), Imazapic (massa molar 275,30 g/mol), Simazina (massa molecular 201,66 g/mol) e os inseticidas Clorantraniliprole (massa molar 483,15 g/mol) e Metil Paration (massa molar 263,21 g/mol) foram adquiridos comercialmente da Sigma Aldrich. A utilização desses agrotóxicos está relacionada ao fato de serem encontrados em coquetéis para aplicação em lavouras de cana-de-açúcar na região de Presidente Prudente-SP, Brasil.

3.2. Fígado de peixe

Peixes pesando 30g foram expostos aos agrotóxicos mencionados em 3.1 por 24 e 96 horas. Após o período de exposição, os peixes foram eutanasiados por secção medular para coleta de amostras de tecido hepático. As amostras foram pesadas e congeladas em freezer a -80°C, e fixadas em formalina 10% diluída em tampão fosfato de sódio, pH 7,4, lavadas em álcool 70%, desidratadas, clarificadas, embebidas em paraplástico e cortadas com 4 µm de espessura. A pesquisa foi e está sendo desenvolvida de acordo com as normas éticas nacionais e internacionais. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Conselho de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Faculdade de Ciências e Tecnologia - FCT/UNESP sob protocolo número 01/2021.

Tabela 1: nome comercial, classe a que pertence, qual aplicação, classificações toxicológicas nova e antiga, classificação ambiental e Dose Letal (DL) dos agrotóxicos Clorantraniliprole, Imazapic, Isoxaflutole, Parationa Metílica, e Simazina.

Principal elemento na composição	Nome Comercial	Classe	Aplicação	Classificação Toxicológica Antiga	Classificação Toxicológica Nova	Classificação Ambiental	DL50 (mg/Kg)
Clorantraniliprole	Altacor (Dupont)	Inseticida	Aéreo	III (Mediamente Tóxico)	V (Improvável de Causar Dano Agudo)	II (Muito Perigoso ao Meio Ambiente)	Entre 5 e 50
Imazapic	Plateu (BASF)	Herbicida	Terrestre	I (Extremamente Tóxico)	V (Improvável de Causar Dano Agudo)	III (Perigoso ao Meio Ambiente)	Entre 50 e 500

Isoxaflutol	Provence 750 WG (Bayer)	Herbicida	Terrestre	I (Extremamente Tóxico)	V (Improvável de Causar Dano Agudo)	II (Muito Perigoso ao Meio Ambiente)	Entre 5 e 50
Parationa Metilica	PARACAP 450 CS	Inseticida	Terrestre	I (Extremamente Tóxico)	I (Extremamente Tóxico)	II (Muito Perigoso ao Meio Ambiente)	Entre 5 e 50
Simazina	Atrasimex WG	Herbicida	Aéreo	III (Mediamente Tóxico)	IV (Pouco Tóxico)	III (Perigoso ao Meio Ambiente)	Entre 50 e 500

3.3. Medidas no Raman

As medidas Raman foram realizadas em fígados de peixes *Oreochromis niloticus* (Tilápia) com o intuito de analisar e quantificar a saturação lipídica, proteínas, ácidos nucleicos e glicogênio na ausência e presença dos agrotóxicos. Os espectros Raman foram correlacionados com análise multivariada via softwerar Quasar e OriginLab 12 Pro.

4. RESULTADOS

Como mencionado acima, em paralelo as atividades referentes ao primeiro semestre de 2024, o bolsista procurou realizar análises de microespectroscopia Raman nos tecidos hepáticos dos peixes¹, como mostra as Figuras 1 e 2 abaixo. Isto se deu em virtude de esperar a aprovação do comitê de ética, relacionado ao projeto de estudar os efeitos dos agrotóxicos em ratos. Portanto, como exemplo, a Figura 1 mostra um total de 25 espectros Raman dos tecidos hepáticos de peixes (tilápias), incluindo o grupo controle (Figura 1a), o tecido exposto ao agrotóxico IMZ por 24 horas (Figura 1b) e por 96 horas (Figura 1c).

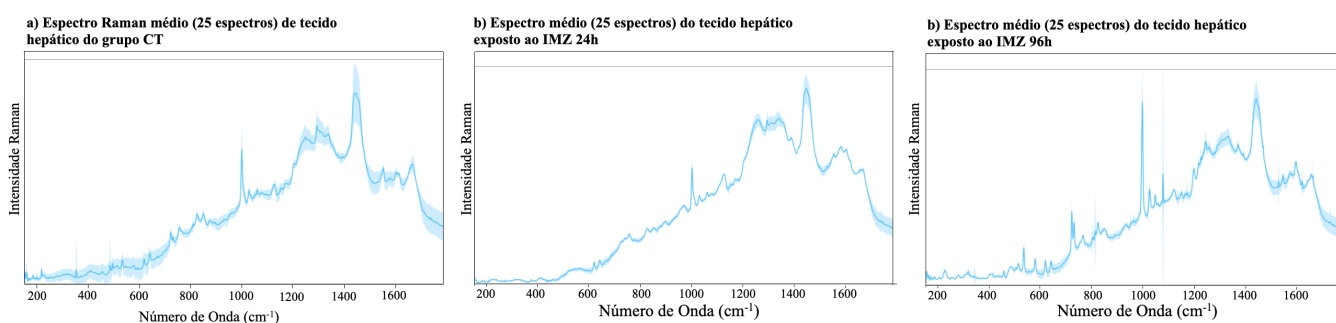


Figura 1: 25 espectros Raman dos tecidos hepáticos de tilápias para o a) grupo controle e para animais expostas ao agrotóxico IMZ por b) 24 e c) 96 horas.

A Figura 2a mostra os 25 espectros coletados todos juntos com seus respectivos biomarcadores, e o PCA (Figura 2b) das amostras com suas diferenciações. Os primeiros dois componentes principais (PC1 e PC2) geralmente explicam a maior parte da variação nos dados^{2,3}. Assim, a análise do gráfico de dispersão de PC1 vs. PC2 fornece uma visão

inicial das principais diferenças entre os grupos. Separação clara entre grupos (amostra controle (CT) e na presença dos agrotóxicos), sugerindo que os efeitos principais dos tratamentos ou condições analisadas são capturados por esses dois componentes. A análise de PC1 vs. PC3 pode fornecer informações adicionais que não foram capturadas na combinação de PC1 e PC2. Isso é útil especialmente quando o PC3 também explica uma parte significativa da variância (embora menor que PC1 e PC2). Subgrupos ou variações secundárias entre amostras que não estavam evidentes no gráfico de PC1 vs. PC2. No entanto, como podemos observar a separação clara tanto em PC1 vs. PC2 e PC1 vs. PC3, isso sugere que o PC2 e PC3 capturam variações bem explicadas, podendo representar efeitos sutis ou interações complexas. Nos artigos em elaborações mencionados na **Seção I** será aprofundado essa análise, estudando a contribuição das variáveis através dos *loadings*, que permite identificar quais bandas espectrais (picos) estão associadas aos diferentes grupos, destacando aquelas que mais influenciam a distinção entre eles. Assim, a análise dos *loadings* dos componentes (PC1, PC2 e PC3) é importante para entender quais variáveis (bandas espectrais) têm maior contribuição para cada componente⁴.

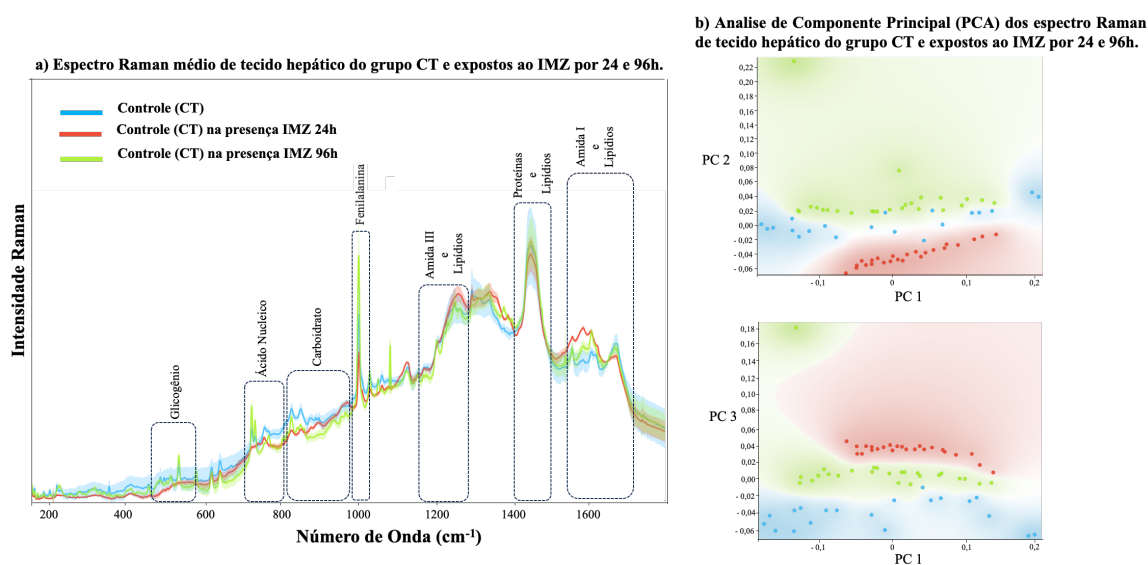


Figura 2: a) espectros Raman dos tecidos hepáticos de tilápias para o grupo controle e para animais expostas ao agrotóxico por 24 e 96 horas. b) análise via PCA dos componentes (PC1, PC2 e PC3) para os espectros Raman dos tecidos hepáticos.

Os espectros Raman refletem as vibrações moleculares dos componentes bioquímicos presentes nos tecidos, como proteínas, lipídios, ácidos nucleicos e carboidratos^{5,6}. Para identificar alterações específicas no fígado exposto aos agrotóxicos, é necessário focar em bandas características, como mostra a Figura 1a: Proteínas: Analisar as bandas de Amida I (~1650 cm⁻¹) e Amida III (~1260 cm⁻¹) para identificar mudanças estruturais, como a

formação de α -hélices e β -pregas. Lipídios: Avaliar as bandas em $\sim 1445\text{ cm}^{-1}$ e $\sim 1300\text{ cm}^{-1}$, que indicam a presença de grupos CH_2 e CH_3 . Mudanças nesses picos sugerem variações na concentração ou no estado de agregação dos lipídios. Ácidos nucleicos: Observar bandas em $\sim 785\text{ cm}^{-1}$ (anéis de purinas) e $\sim 1090\text{ cm}^{-1}$ (ligações fosfodiéster), que indicam alterações na estrutura do DNA/RNA. Carboidratos: Detectar picos como $\sim 480\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ e $\sim 1080\text{ cm}^{-1}$, associados a glicogênios e polissacarídeos. Diferenças significativas nas intensidades ou nos deslocamentos de frequência dessas bandas entre amostras controle (sem agrotóxicos) e amostras tratadas podem indicar modificações bioquímicas induzidas pela exposição^{7,8}. Para distinguir as alterações induzidas pelo agrotóxico, métodos comparativos, como a Análise de Componentes Principais (PCA), são essenciais. Nesse caso, o PCA é utilizado para reduzir a dimensionalidade dos dados e evidenciar as principais variações entre as amostras. A separação clara no gráfico de PCA, como mostrado na Figura 2b, entre as amostras controle e aquelas expostas aos agrotóxicos (IMZ) por 24 e 96 horas, indica diferenças nos perfis espectrais, sugerindo que os pesticidas estão causando alterações bioquímicas no tecido hepático dos peixes em comparação ao sistema na ausência de agrotóxicos.

5. CONCLUSÕES

Os estudos realizados com animais aquáticos (tilápias) utilizando a microespectroscopia Raman proporcionaram uma análise aprofundada não apenas da membrana plasmática dos tecidos, como explorado em publicações anteriores pelo bolsista, mas também abriram novas perspectivas para o uso da técnica em diferentes contextos biológicos. Através da microespectroscopia Raman, foi possível identificar e monitorar biomarcadores essenciais para a sobrevivência e funcionamento de qualquer organismo, como glicogênios, ácidos nucleicos, proteínas e lipídios, permitindo uma compreensão mais abrangente das alterações bioquímicas provocadas pela exposição a agrotóxicos. Além disso, a técnica possibilita a construção de mapeamentos espectrais detalhados, gerando milhares de espectros distribuídos por grandes áreas do tecido analisado. Essa abordagem fornece um panorama mais representativo e preciso das condições dos sistemas biológicos estudados, permitindo a visualização de heterogeneidades e a diferenciação de respostas bioquímicas nos tecidos em estado normal e sob estresse químico. Assim, conseguimos estabelecer uma correlação direta entre as mudanças observadas e o impacto dos agrotóxicos nos organismos aquáticos, fornecendo subsídios valiosos para futuras investigações em ecotoxicologia.

Por fim, a capacidade de obter informações moleculares não destrutivas e em alta resolução amplia o potencial da microespectroscopia Raman para o estudo de outros modelos biológicos, incluindo sistemas mais complexos, como amostras humanas. Esses resultados reforçam o papel dessa técnica como uma ferramenta poderosa na investigação dos efeitos ambientais de contaminantes, contribuindo para a geração de novos conhecimentos que possam orientar políticas de conservação e manejo sustentável.

ATIVIDADES REALIZADAS

6. LISTA DE PUBLICAÇÕES - 01/01/2021 a 30/06/2024 - (ANEXO 3) (Comprovantes na ordem - artigos completos no SAGE)

1) **Rafael J.G. Rubira**; Rafael R. Correia; Victor R.G. Batista; Wallance M. Pazin;; Francisco G. González; Juan C. Otero; Giovana R. Teixeira; Aldo E. Job.; Assessing the negative impact of chlorantraniliprole, isoxaflutole, and simazine pesticides on phospholipid membrane models and tilapia gill tissues. *Environmental Pollution*. (Fator de impacto: 8.9). **2024**. DOI: 10.1016/j.envpol.2024.123904. **Aceito**.

2) Allice Santos Cruz Veras; Victor Rogério Garcia Batista; Rafael Ribeiro Correia; Maria Eduarda de Almeida Tavares; **Rafael J. G. Rubira**; Elaine Rufo Tavares; Raul Cavalcante Maranhão; Giovana Teixeira.; Integrated aerobic exercise with LDE-docetaxel treatment: A novel approach to combat prostate cancer progression. *Scientific Reports*. (Fator de impacto: 4.6). **2024**. DOI: 10.1038/s41598-024-60138-y. **Aceito**.

3) Maíza S. Ozório, **Rafael J. G. Rubira**, Douglas H. Vieira, Cibely S. Martin; Carlos J. L. Constantino. Potential of Electrolyte-Gated Transistors for Anionic Molecule Detection: Proof of Concept Using Dye Solution. *Journal of Physics D: Applied Physics*. (Fator de Impact: 3.40). **2024**. DOI: 10.1088/1361-6463/ad06ec. **Aceito**.

4) **Rafael J.G. Rubira**; Leonardo N. Furini; Mateus D. Maximino; Carlos J. L. Constantino.; Effect of the Ametryn Pesticide on biomembrane models based on Langmuir film and Giant Unilamellar Vesicles (GUVs). *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. (Fator de impacto: 5.2). **2024**. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2024.134476. **Aceito**.

5) **Rubira, R.J.G**; Furini, L.N: Tuttolomondo, M.E; Constantino, C.J.L; Sanchez-Cortes, S. Advancing on ametryn pesticide detection through SERS and Ag colloid: understanding the pH effect and the adsorption mechanism supported by theoretical calculation. *Journal of Raman Spectroscopy*. (Fator de impacto: 3.13). **2024**. DOI: 10.1002/jrs.6719. **Aceito**

6) Santos Silva, Rafael Augusto; Peres-Ueno, Melise; Nicola, Angela; Santos, Luis Fernando Gadioli; Fernandes-Breitenbach, Fernanda; **Rafael J. G. Rubira**; Pereira, Rafael; Chaves-Neto, Antônio Hernandez; Dornelles, Rita. The microarchitecture and chemical composition of the femur neck of senescent female rats after different physical training protocols. *Geroscience*. (Fator de impacto: 5.6). **2023**. DOI: 10.1007/s11357-023-00948-6. **Aceito**.

7) Allice Santos Cruz Veras; Rafael Ribeiro Correia; Victor Rogério Garcia Batista; Maria Eduarda de Almeida Tavares; **Rafael J. G. Rubira**; Gabriela Alice Fiais; Inês Cristina Giometti; Antonio Hernandez Chaves-Neto; Giovana Rampazzo Teixeira. Aerobic physical

exercise modifies prostate tumoral environment. Life Sciences. (Fator de impacto: 6.78). **2023**. DOI: 10.1016/j.lfs.2023.122097. **Aceito**.

8) Guilherme Dognani; Andressa Gomes; Grazielle Setti; Cibely Martin; **Rafael Rubira**; Carlos Constantino. Functionalized cellulose microfibers as reductant agent to gold nanoparticles and its application on SERRS for sensitive detection of pollutant. Journal of Environmental Chemical Engineering. (Fator de impacto: 7.96). **2023**. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111266>. **Aceito**.

9) Tatiana A. Oliveira¹; Cibely S. Martin; **Rafael J. G. Rubira**; Anerise de Barros; Italo O. Mazali; Carlos J. L. Constantino. Influence of L-Dopa adsorption time and concentration on Au nanorods aggregation for SERS quantitative analysis. Current Applied Physics. (Fator de impacto: 2.85). **2023**. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cap.2023.08.002>. **Aceito**.

10) Rafael J.G. Rubira; Victor R.G. Batista; Rafael R. Correia; Wallance M. Pazin; Mateus D. Maximino; Gilia C.M. Ruiz; Giovana R. Teixeira; Aldo E. Job.; Biological responses to Imazapic and methyl parathion pesticides in bioinspired lipid membranes and Tilapia Fish. Journal of Hazardous Materials. (Fator de impacto: 14.3). **2023**. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2023.131943. **Aceito**.

11) Robson Chacon Castoldi; Ines Cristina Giometti; Guilherme Akio Tamura Ozaki; Thiago Alves Garcia; João Domingos Augusto dos Santos Pereira; **Rafael J. G. Rubira**; Carlos José Leopoldo Constantino; Silvio Assis de Oliveira Júnior; Mario Jefferson Quirino Louzada; William Dias Belangero; José Carlos Silva Camargo Filho.; Effects of resistance exercise training on bone physical and mineral properties in rats submitted to growth hormone intervention. Vibrational Spectroscopy. (Fator de impacto: 2.4). **2023**. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2022.103489>. **Aceito**.

12) Martin, C.S.; **Rubira, R.J.G.**; Silva, J.N.; Alessio, P. Role of iron phthalocyanine coordination in catecholamines detection. Journal: Surfaces. (Fator de impacto: 2.5) **2021**. DOI: <https://doi.org/10.3390/surfaces4040027>. **Aceito**

13) Rubira, R.J.G.; Camacho S.A.; Constantino, C.J.L.; Sanchez-Cortes, S. Increasing the sensitivity of SERS detection for s-triazine pesticides by taking advantage of interactions with soil humic substances. Journal of Raman Spectroscopy. (Fator de impacto: 3.13). **2022**. DOI: 10.1002/jrs.6262. **Aceito**

14) Oliveira, M.J.S.; Martin, C.S.; **Rubira, R.J.G.**; Batagin-Neto, A.; Constantino, C.J.L.; Aroca, R.F. Surface-enhanced Raman scattering of thiram: Quantitative and theoretical analyses. Journal of Raman Spectroscopy. (Fator de impacto: 3.13). **2021**. DOI: 10.1002/jrs.6222. **Aceito**

15) Zanasi, G.; **Rubira, R.J.G.**; Francioso, O.; Canamares, MV.; Constantino, C.J.L.; Sanchez-Cortes, S. Sensing Atrazine Herbicide Degradation Products through Their Interactions with Humic Substances by Surface-Enhanced Raman Scattering. Chemosensor. 2021. (Fator de impacto: 3.29). **2021**. DOI: 10.3390/chemosensors9060148. **Aceito**

16) Ferreira, A.L.; Moraes, A.S.; **Rubira, R.J.G.**; Constantino, C.J.L.; Leite, F.L.; Ferreira, M. Development of a novel biosensor for Creatine Kinase (CK-MB) using Surface Plasmon

Resonance (SPR). Applied Surface Science. (Fator de impacto: 6.18). **2021**. DOI: 10.1016/j.apsusc.2021.149565. **Aceito**

17) Rubira, R.J.G.; Furini, L.N.; Constantino, C.J.L.; Sanchez-Cortes, S. SERS detection of prometryn herbicide based on its optimized adsorption on Ag nanoparticles. Vibrational Spectroscopy. (Fator de impacto: 2.50). **2021**. DOI: 10.1016/j.vibspec.2021.103245. **Aceito**

18) Hassan, A.; Macedo, L.J.A.; Mattioli, I.A.; **Rubira, R.J.G.**; Constantino, C.J.L.; Amorim, R.G.; Lima, F.C.D.A.; Crespilho, F.N. A three component-based van der Waals surface vertically designed for biomolecular recognition enhancement. Electrochimica ACTA. (Fator de impacto: 6.90). **2021**. DOI: 10.1016/j.electacta.2021.138025. **Aceito**

19) Oliveira, TA.; **Rubira, R.J.G.**; Martin, CD.; de Barros, A.; Mazali, IO.; Constantino, CJL. The Plasmonic Effect of Gold Nanorods on Charged Molecules: SERRS and SEF effects. Materials research Journal of Materials. (Fator de impacto: 1.52). **2021**. DOI: 10.1590/1980-5373-MR-2021-0029. **Aceito**.

7. LISTA DE ARTIGOS EM FASE DE SUBMISSÃO – 01/01/2024 a 30/06/2024 - (ANEXO 4)

(Comprovantes na ordem - artigos completos no SAGE)

Artigos em preparação referente aos resultados do BEPE e do Pós-doutorado

1) Veras, A.S.C; Batista, V.R.G; Tavares, M.E.A; Correia, R.R; **Rubira, R.J.G;** Maranhão, R.C; Teixeira, G.R. The LDE nanoparticle emulsified methotrexate associated to endurance physical training reduced the inflammation on prostate cancer. **2024. Em fase de submissão.**

2) Santos, D.M; **Rubira, R.J.G;** Salzedas, G.P; Kobal, M.B; Moreira, L.G; Toledo, K.A; Aoki, P.H.B; Wolf, C.; Camacho, S.A. Cytotoxic effects of pesticides used in sugarcane plantations on cells derived from human hepatocellular carcinoma (HepG2) and membrane interactions. **2024. Em fase de submissão.**

3) Tavares, M.E.A; Pinto, A.P; **Rubira, R.J.G;** Rocha, A.L; Batista, V.R.G; Coreia, R. R; Veras, A.S.C; da Silva, A.S.R; Rampazzo, R.T. The increased calcium, phosphate, and type I collagen stores, and improved strength and running speed in 24-month-old mice trained with combined physical training. **2024. Em fase de submissão.**

4) Batista, V.R.G; Tavares, M.E.A; Fernandes, V.S; Correia, R.R.C; Verasa, A.S.C; Neto, A.H.C; Fiaisa, G.A; **Rubira, R.J.G;** de Oliveira, T.A; Teixeira, G.R. High-intensity interval training attenuates the fibrotic effects and improves the angiogenic effects of arterial hypertension in the urinary bladder of spontaneously hypertensive rats. **2024. Em fase de submissão.**

5) Oliveira, M.J.S; Ruiz, G.C.M, **Rubira, R.J.G;** Batagin-Neto, A; Sanchez-Cortes, S; Constantino, C.J.L; Furini, L.N. Consequences of surface composition and aggregation conditions of Ag nanoparticles on surface-enhanced Raman scattering (SERS) of pesticides. **2024. Em fase de submissão.**

6) Ozório, M; Pimentel A; Morais, M; Cortinhal, M; Rubira, R.J.G; Oliveira, T; Deuermeier, J; Águas, H; Pereira, L; Constantino, C.J.L; Martins, R. Paper Substrate Functionalized with

ZnO Nanorods for Sensitive SERS Detection of Thiabendazole. **2024. Em fase de submissão.**

7) Oliveira, M.J.S; Bianchi-Carvalho, I; **Rubira, R.J.G**; Sánchez-Cortés, S; Constantino, C.J.L. Plasmonic Ag Nanoparticles: Correlating Nanofabrication and Aggregation for SERS Detection of Thiabendazole Pesticide. **2024. Em fase de submissão.**

8) de Oliveira, T, Martin, C.S; Rubira, R.J.G; Baros, A.B; Mazali, I.O; Zidoi, L.P; Batagin-Neto, A; Constantino, C.J.L. Gold nanorods SERS substrate for L-Dopa detection: experimental and theoretical approaches. **2024. Em fase de submissão.**

8. DEMAIS ATIVIDADES REALIZADAS - 01/01/2021 a 30/06/2024 - (ANEXO 5) (Comprovantes na ordem)

Prêmios:

1) Realização da Capa do Volume 672 da "Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects" da Elsevier referente ao trabalho intitulado como "Gold conjugated-magnetite nanoparticles for magnetic concentration towards reproducibility and repeatability of SERS measurements". **2023.**

2) Prêmio Destaque Científico no IX Congresso Brasileiro de Metabolismo, Nutrição e Exercício com o trabalho intitulado "Exercício Físico Aeróbio Associado ao Docetaxel Emulsificado em Nanopartícula de LDE Potencializa os Efeitos Anticancer na Próstata". **2023.**

3) Reconhecimento pelo artigo "Surface-enhanced Raman scattering of Thiram: Quantitative and theoretical analyses, Journal of Raman Spectroscopy" ser o mais citado durante 2021-2022 na Journal of Raman Spectroscopy. **2023.**

4) Prêmio de Melhor Trabalho no VII Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman (EnbraER) com o trabalho intitulado "SERS detection of acephate degradation product: methamidophos". **2022.**

5) Honra ao mérito: Prêmio CAPES de Tese edição **2021**: autor da melhor Tese de Doutorado do Brasil defendida no ano de 2020 na área de Materiais, CAPES.

Editor:

1) Editor convidado da edição especial "Raman and Surface-Enhanced Raman Scattering Techniques in Analytical and Biomedical Fields", na revista Chemosensors (ISSN 2227-9040). IF 4.2. 2023-2024 (em andamento).

Parcerias científicas nacionais e internacionais adquiridas e consolidadas no Período 2021-2024:

1) Visita técnico científica no grupo Grupo de Química-Física Molecular da Profa. Dra. Maria Paula Marques e do Prof. Dr. Luis Alberto Esteves Batista de Carvalho da Universidade de Coimbra – Portugal. **2023.**

2) Visita técnico científica no Grupo de Espectroscopia Vibracional y Procesos Multifotónicos coordenado pelo Pesquisador. Dr. Santiago Sanches Cortes do Consejo Superior de Investigaciones Cientificas (CSIC), Instituto de Estructura da Matéria (CSIC/IEM) – Madri, Espanha.

3) Parceria consolidada com a Prof. Dra. Maria Eugenia Tuttolomondo da Instituto de Química Física, Universidad Nacional de Tucumán (UNT), Tucumán, Argentina. Artigo submetido na *Journal of Raman Spectroscopy*.

4) Parceria consolidada com o supervisor da BEPE Juan Carlos Otero da Universidade de Málaga (UMA), Málaga, Espanha. Artigo publicado na *Environmental Pollution*.

5) Parceria consolidada com a Prof. Dra. Rita Cássia Menegati Dornelles coordenadora do Grupo de Pesquisa em Biologia do Envelhecimento, Departamento de Ciências Básicas, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araçatuba, SP, Brasil. Artigo publicado *GeroScience*.

6) Parceria consolidada com a Prof. Dra. Giovana R. Teixeira da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente, SP, Brasil. Artigos aceitos na *Scientific Reports*.

Cursos:

1) Curso intitulado “Avanços recentes na caracterização de materiais” realizado durante a 5ª Reunião Técnica do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais. 2023.

2) Curso intitulado “Difração de raios X em condições extremas” realizado durante a 5ª Reunião Técnica do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais. 2023.

3) Curso virtual intitulado “Treinamentos virtuais temáticos da ACS Publications Brasil – Treinamento 1: Ciências da saúde”. 2023.

4) Webinar da CHEManager International sobre “Making Better Use of Spectral and Chromatographic Data in Product and Process Development”. 2023.

5) Webinar da Wiley Analytical Science sobre “Enhancing your imaging workows and ultrastructural data using Biological EDS”. 2023.

6) Curso virtual da ACS Publications intitulado “Como escrever e publicar sua pesquisa científica? - Como buscar por referências para uma revisão da literatura”. 2023.

7) Curso virtual intitulado “Treinamentos virtuais temáticos da ACS Publications Brasil - Treinamento 2: Engenharias”. 2023.

8) Curso virtual intitulado “Treinamentos virtuais temáticos da ACS Publications Brasil - Treinamento 3: Multidisciplinar”. 2023.

9) Capacitação no Uso e Manejo de Animais de Laboratório” em formato de ensino a distância, coordenado pela Central de Biotério do Instituto de Ciências Biomédicas em

parceria com a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e realizado pela REBIOTERIO – CNPq. **2021**

Docência:

1) Professor colaborador para UNESP campus de Presidente Prudente, ministrando aulas de Física I para o curso de Engenharia Ambiental (2023). UNESP. **2023**.

2) Professor colaborador para UNESP campus de Presidente Prudente, ministrando aulas de Laboratório de Física I para o curso de Engenharia Ambiental (2023). UNESP. **2023**.

3) Professor colaborador do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais (POSMAT), ministrando aulas da disciplina de Tópicos em Caracterização de Materiais 2023. UNESP. 2023.

4) Professor colaborador do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais (POSMAT), ministrando aulas da disciplina de Ciência e Tecnologia de Filmes Finos (2022). UNESP. **2022**.

5) Professor Voluntário: Minicurso Nanotecnologia apresentado na XVI Semana da Física (SeFis) na Unesp Câmpus de Presidente Prudente. **2022**.

6) Professor colaborador do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais (POSMAT), ministrando aulas da disciplina de Espectroscopia Óptica. UNESP. **2021**.

7) Professor voluntário: Mecânica Clássica (Física I), Carga horária: 4h, Curso: Engenharia Ambiental. UNESP, junho a novembro de **2021**.

Coorientações

1) Marcelo José dos Santos Olive – Aluno de Mestrado (Bolsista FAPESP, processo 2021/05460-6). “Detecção de contaminantes emergentes em meio aquoso via espalhamento Raman amplificado em superfície (SERS)”. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais - Universidade Estadual Paulista. UNESP. **2021-2023. Encerrado**.

Participação em bancas de trabalhos de conclusão

Teses de doutorado:

1) **Rubira R.J.G.**; Furini, L. N.; Olivati, C. A.; Ferreira, M. Participação em banca de Melina Paula Batista Garcia. Desenvolvimento de Sensores Eletroquímicos Baseados em Filmes Finos para Detecção de Paraquat. **2024**. Tese (Doutorado em Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais) - Universidade Estadual Paulista Julio De Mesquita F.

2) **Rubira, R.J.G.**; Gomes, C.G; Roveda, A. C; Gozzi, G.F. Participação em banca de José Bruno Cantuária. Desenvolvimento e caracterização de matrizes de sensores na detecção de metais pesados em água e de compostos orgânicos voláteis. **2024**. Tese (Doutorado em Pós-Graduação em Biofísica Molecular) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

Trabalhos de conclusão de curso de graduação:

3) **Rubira, R.J.G.**; Oliveira, J.. Participação em banca de Gabriela Peres Salzedas. Análise da citotoxicidade de agrotóxicos utilizados no cultivo de cana-de-açúcar sobre células derivadas de carcinoma pulmonar humano (A549). **2023**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Biotecnológica) - Universidade Estadual Paulista.

4) **Rubira, R.J.G.**; Mayer CRM. Participação em banca de Daniela Mayra dos Santos. Efeitos citotóxicos de agrotóxicos utilizados em plantações de cana-de-açúcar, nas concentrações estabelecidas por legislação, sobre células derivadas de hepatocarcinoma humano (HepG2). **2023**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Biotecnológica) - Universidade Estadual Paulista.

Participação em eventos:

1) Workshop do Instituto Nacional de Eletrônica orgânica. INEO. **2024**.

2) 5ª Reunião Técnica do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais. **2023**.

3) “Redox Status of Skin and Blood Measured by EPR Spectroscopy”. BRUKER. **2023**.

4) Evento com Debate online do Instituto de Estudo, Capacitação e Políticas Pública do Poder Legislativo do Estado de São Paulo em colaboração com a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) sobre “Câncer: Presente e futuro”. **2023**.

5) Evento com Debate online do Instituto de Estudo, Capacitação e Políticas Pública do Poder Legislativo do Estado de São Paulo em colaboração com a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) sobre “Inteligência Artificial: ChatGPT, Colaboração ou Ameaça?” **2023**.

6) VII Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman (EnBraER) do trabalho intitulado “Paper-based SERS substrate applied to the detection of acephate pesticide” de autoria de Grazielle O. Setti; Maíza da S. Ozório; Rafael J. G. Rubira e Carlos J.L. Constantino. **2022** em São Pedro – SP, Brasil.

7) VII Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman (EnBraER) do trabalho intitulado “SERS detection of acephate pesticide degradation product: methamidophos” de autoria de Maíza S. Ozório; Rafael J. G. Rubira; Cibely S. Martin; Luis F. C Morato e Carlos J. L. Constantino. **2022** em São Pedro – SP, Brasil.

8) VII Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman (EnBraER) do trabalho intitulado “Detection of thiabendazole pesticide in matrix of food by surface-enhanced Raman scattering (SERS)” de autoria Marcelo J.S. Oliveira; Rafael J.G. Rubira; Augusto Batagin-Neto; Carlos E.M. de Campos; Carlos J.L. Constantino e Leonardo N. Furini. **2022** em São Pedro – SP, Brasil.

9) Curso de curta duração em “Desafios para a Análise de Água-Sessão III: EDX e FTIR”. Shimadzu, UNESP, Brasil. **2021**.

10) Curso de curta duração em “Desafios para a Análise de Água-Sessão V: Utilização de TOC em substituição à DBO e DQO”. Shimadzu, Brasil. **2021**.

11) Curso de curta duração em Segurança de Alimentos - Tópico I: MOSH e MOAH. Shimadzu, Brasil. **2021**.

12) Rubira, R.J.G. Detecção de pesticidas via espectroscopia Raman amplificada em superfície (SERS). 2º Congresso Online Nacional de Química Analítica e Ambiental – CONQUIAMB. **2021**. (Palestrante).

13) Oliveira, M.J.S.; Rubira, R.J.G.; Sanchez-CORTES, S.; Constantino, C.J.L. *Anisotropic nanoparticles as substrates for surface-enhanced Raman scattering (SERS)*. Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais (SBPMat). **2021**. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

14) 2º Workshop Qualidade da Água: Soluções e Desafios para o Futuro da Água. **Jun/2021**. (Ouvinte).

15) Workshop INEO: Instituto Nacional de Eletrônica Orgânica. **mar/2021**. (Ouvinte).

16) Evento: “Latin American Seminar on Open Science and Open Access. **Mar/2021**. (ouvinte).

Entrevista – Divulgação – trabalhos com destaque :

1) Rubira, R.J.G; Estudo revela que dois pesticidas usados na cana-de-açúcar causam morte de tilápias por asfixia, **2024**. Home page: <https://theconversation.com/estudo-revela-que-dois-pesticidas-usados-na-cana-de-acucar-causam-morte-de-tilapias-por-asfixia-224931>.

2) Rubira, R.J.G; Pesquisa mostra o efeito letal de pesticidas sobre o sistema respiratório de Tilápias, **2024**. Home page: <https://agencia.fapesp.br/pesquisa-mostra-efeito-letal-de-pesticidas-sobre-o-sistema-respiratorio-de-tilapias/50961>.

3) Rubira, R.J.G; Pesticidas usados na cana-de-açúcar causam morte de tilápias, **2024**. Home page: <https://www.uol.com.br/ecoa/ultimas-noticias/2024/04/06/pesticidas-usados-na-cana-de-acucar-causam-morte-de-tilapias.htm>.

4) Entrevista no 4º Episódio do LebioCast. Laboratório Experimental de Biologia. Entrevista, Link: <https://www.youtube.com/watch?v=pewf89-lOms>. **Jun/2021**.

Revisor: Parecer/Revisão

- 1) Biosensors (1);
- 2) Journal of Environmental Science and Health, Part B (1);
- 3) Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy (3)
- 4) Chemical Papers (1);
- 5) Molecules (1);
- 6) Journal of Materials Sciences and Applications (1);
- 7) Chemosensors (2);

Demais atividades

1) Participação na implementação do “*Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas em Água, Alimentos e Solos*”, uma parceria entre a FCT/UNESP e o Ministério Público Estadual e Federal. **2021-2022**.

2) Colaborador no projeto de Pesquisa (processo FAPESP nº 2021/11344-9) intitulado “Avaliação da citotoxicidade de agrotóxicos empregados em lavouras de cana-de-açúcar no cultivo in vitro de células derivadas de hepatocarcinoma humano (HepG2)” da Aluna de Iniciação científica Daniella Mayra dos Santos da Universidade Estadual de São Paulo “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)/Campus de Assis. **2022-2023**.

3) Colaborador no projeto de Bolsa Pesquisa de Estágio no Exterior (BEPE) (processo FAPESP nº 2022/15041-3) intitulado “Unveiling molecular interactions of pesticides in biomimetic membranes from human hepatocarcinoma (HepG2) cells” da Aluna de Iniciação científica Daniela Mayra dos Santos da Universidade Estadual de São Paulo “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)/Campus de Assis. **2023**.

9. PLANO DE GESTÃO DE DADOS (ANEXO 6)

O plano de gestão de dados da bolsa no país foi gerado seguindo as normas da FAPESP e se encontram no **Anexo 06**. Os dados serão armazenados e disponibilizados no repositório de dados científicos da Universidade estadual Paulista (UNESP) (<https://repositorio.unesp.br/>), de acordo com a política do repositório. No caso dos estudos envolvendo os peixes, o projeto (Processo FAPESP nº 2020/05423-0), passou pela aprovação do comitê de ética para a utilização dos animais. O projeto aprovado pelo comitê de ética consta em **anexo no SAGE**, juntamente com o certificado de aceite. Portanto, ele foi aprovado de acordo com o protocolo nº 01/2021, Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6899, de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS- CEUAS da Faculdade de Ciência e Tecnologia da UNESP, campus de Presidente Prudente, em reunião de 24.08.2021. Os dados obtidos estão disponíveis em .dts, .spc e .csv, os quais podem ser analisados utilizando os softwares, Zetasizer, GRAMS e OriginLab, respectivamente. As imagens em PJG e JPEG foram analisadas utilizando o software ImageJ. No caso do projeto em relação aos camundongos, o projeto foi aprovado pelo CEUA com o número de protocolo, nº 02/2024.

REFERÊNCIAS

1. Butler, H. J. *et al.* Using Raman spectroscopy to characterize biological materials. *Nat Protoc* 11, 664–687 (2016).

2. Bonnier, F. & Byrne, H. J. Understanding the molecular information contained in principal component analysis of vibrational spectra of biological systems. *Analyst* 137, 322–332 (2012).
3. Morais, C. L. M., Lima, K. M. G., Singh, M. & Martin, F. L. Tutorial: multivariate classification for vibrational spectroscopy in biological samples. *Nat Protoc* 15, 2143–2162 (2020).
4. Kuzmin, A., Pliss, A. & Prasad, P. Ramanomics: New Omics Disciplines Using Micro Raman Spectrometry with Biomolecular Component Analysis for Molecular Profiling of Biological Structures. *Biosensors (Basel)* 7, 52 (2017).
5. Movasaghi, Z., Rehman, S. & Rehman, I. U. Raman Spectroscopy of Biological Tissues. *Appl Spectrosc Rev* 42, 493–541 (2007).
6. Kuhar, N., Sil, S., Verma, T. & Umapathy, S. Challenges in application of Raman spectroscopy to biology and materials. *RSC Adv* 8, 25888–25908 (2018).
7. Kapeleka, J. A., Sauli, E. & Ndakidemi, P. A. Pesticide exposure and genotoxic effects as measured by DNA damage and human monitoring biomarkers. *Int J Environ Health Res* 31, 805–822 (2021).
8. Lazaro-Pacheco, D., Shaaban, A. M., Rehman, S. & Rehman, I. Raman spectroscopy of breast cancer. *Appl Spectrosc Rev* 55, 439–475 (2020).