UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS

Yan Pablo Gomes Maciel Passos

ANÁLISE COMPOSICIONAL, ESTRUTURAL E MORFOLÓGICA DE CONCHAS DE *Bulimulus tenuissimus* E *Biomphalaria glabrata* SOB INFECÇÃO PARASITÁRIA

SEROPÉDICA
2026

Yan Pablo Gomes Maciel Passos

ANÁLISE COMPOSICIONAL, ESTRUTURAL E MORFOLÓGICA DE CONCHAS DE *Bulimulus tenuissimus* E *Biomphalaria glabrata* SOB INFECÇÃO PARASITÁRIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Renato Bigansolli

Coorientador: Prof. Dr. Robson Mariano da Silva.

SEROPÉDICA
2026

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central/ Secção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
Com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P289a

PASSOS, YAN PABLO GOMES MACIEL , 1999-
Análise composicional, estrutural e morfológica de conchas de Bulimulus tenuissimus e Biomphalaria glabrata sob infecção parasitária / YAN PABLO GOMES MACIEL PASSOS. - Seropédica, 2026.
90 f.: il.

Orientador: Antonio Renato Bigansolli.
Coorientador: Robson Mariano da Silva.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, 2026.

1. Ciência dos materiais. 2. Biomineralização. 3. Difração de raios X. 4. Moluscos. 5. Williamson-Hall. I. Bigansolli, Antonio Renato, 1974-, orient. II. da Silva, Robson Mariano, 1963-, coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. IV. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS

YAN PABLO GOMES MACIEL PASSOS

ANÁLISE COMPOSICIONAL, ESTRUTURAL E MORFOLÓGICA DE CONCHAS DE *Bulimulus tenuissimus* E *Biomphalaria glabrata* SOB INFECÇÃO PARASITÁRIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais, área de concentração em Ciência e Engenharia de Materiais.

Dissertação aprovada em 25 de junho de 2026.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
SISTEMA INTEGRADO DE PATRIMÔNIO, ADMINISTRAÇÃO E CONTRATOS

UFRRJ

FOLHA DE ASSINATURAS

ATA Nº 2965/2026 - DEQ (12.28.01.00.00.00.00.45)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 03/07/2026 08:52)
ANTONIO RENATO BIGANSOLLI
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DEQ (12.28.01.00.00.00.00.45)
Matrícula: ###231#2

(Assinado digitalmente em 03/07/2026 12:19)
ROBSON MARIANO DA SILVA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DCOMP (11.39.97)
Matrícula: ##82#8

(Assinado digitalmente em 03/07/2026 12:14)
YAN PABLO GOMES MACIEL PASSOS
DISCENTE
Matrícula: 2025######0

(Assinado digitalmente em 03/07/2026 15:02)
SINARA BORBOREMA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.786-##

(Assinado digitalmente em 03/07/2026 08:55)
ANTONIETA MIDDEA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.317-##

*Visualize o documento original em https://sipac.ufrrj.br/documentos/ informando seu número: **2965**, ano: **2026**, tipo: **ATA**, data de emissão: **03/07/2026** e o código de verificação: **366a4b0718***

Dedico este trabalho à minha família, que sempre acreditou em mim e esteve ao meu lado em todos os momentos desta jornada, e a mim mesmo, pela persistência e pelo esforço dedicados à realização deste sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por toda força e sabedoria concedidas ao longo desta jornada, aos meus pais, por todo amor, apoio incondicional, sacrifícios e por sempre acreditarem nos meus sonhos. Sem vocês, esta conquista não seria possível.

Aos meus amigos de turma, pela amizade, companheirismo e por todas as trocas de experiências que tornaram esta caminhada acadêmica mais rica e agradável. Levarei vocês comigo para sempre.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Antonio Renato Bigansolli, pela paciência, orientação precisa, confiança e por todos os ensinamentos compartilhados ao longo desta pesquisa. Sua dedicação foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Robson Mariano da Silva, pelas valiosas contribuições, pela disponibilidade, pelas discussões científicas e pelo constante apoio ao longo desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Jairo Pinheiro da Silva e ao Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), pelo apoio científico, pelo conhecimento compartilhado na área biológica e pela disponibilização dos dados biológicos que tornaram possível a integração entre a Ciência dos Materiais e a Parasitologia, contribuindo de forma decisiva para o desenvolvimento deste estudo.

À instituição Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEMAT), pela oportunidade de realização deste mestrado e por todo o suporte estrutural e acadêmico.

Ao Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) e à Central Analítica Multiusuário (CAM–PPGQ/UFRRJ), pela infraestrutura laboratorial disponibilizada e pelo suporte técnico na realização das análises experimentais, fundamentais para a execução desta pesquisa.
A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta pesquisa, meu muito obrigado.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

PASSOS, Yan Pablo Gomes Maciel. **Análise composicional, estrutural e morfológica de conchas de Bulimulus tenuissimus e Biomphalaria glabrata sob infecção parasitária**. 2026. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2026.

As infecções parasitárias em moluscos gastrópodes provocam alterações fisiológicas capazes de comprometer a biomineralização das conchas. Esta dissertação investigou os efeitos do parasitismo sobre a microestrutura das conchas de carbonato de cálcio ($CaCO_3$) de *Bulimulus tenuissimus*, constituída predominantemente por calcita, *e Biomphalaria glabrata*, constituída predominantemente por aragonita, infectadas por *Angiostrongylus cantonensis* e *Echinostoma paraensei*. O objetivo foi caracterizar as modificações cristalográficas, espectroscópicas, morfológicas e composicionais induzidas pelo parasitismo, identificando biomarcadores estruturais associados ao estresse fisiológico do hospedeiro. As conchas foram caracterizadas por Difração de Raios X (DRX), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Espectroscopia Raman, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Dispersão de Energia (EDS). A análise quantitativa dos difratogramas foi realizada por meio de um pipeline computacional desenvolvido em Python, baseado no método de Williamson–Hall, permitindo determinar o tamanho médio dos cristalitos, a microdeformação cristalina e estimar propriedades mecânicas pela relação de Hall–Petch. Os resultados demonstraram respostas distintas entre os dois polimorfos. Em *Bulimulus tenuissimus*, a infecção promoveu refinamento microestrutural nas fases iniciais, seguido por crescimento desordenado dos cristalitos, redução da resistência mecânica e perda progressiva da matriz orgânica. Em *Biomphalaria glabrata*, a aragonita apresentou maior sensibilidade ao parasitismo, com aumento do tamanho dos cristalitos, alterações espectroscópicas mais pronunciadas e maior degradação estrutural nos grupos de coinfecção. Esses resultados demonstram que as modificações cristalográficas, composicionais e morfológicas das conchas constituem registros mensuráveis do estresse fisiológico provocado pelos parasitos, evidenciando o potencial desse biomineral como biomarcador estrutural da interação parasito-hospedeiro e ampliando sua aplicação em Ciência dos Materiais, Parasitologia e Saúde Única.

Palavras-chave: Degradação microestrutural; Biomineralização; Difração de raios X (DRX); Método de Williamson-Hall; Biomarcadores ambientais.

ABSTRACT

PASSOS, Yan Pablo Gomes Maciel. **Compositional, structural, and morphological analysis of Bulimulus tenuissimus and Biomphalaria glabrata shells under parasitic infection.** 2026. 90 f. Dissertation (Master's in Materials Science and Engineering) – Postgraduate Program in Materials Science and Engineering, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, 2026.

Parasitic infections in gastropod mollusks promote physiological alterations capable of impairing biomineralization, one of the most energy-demanding biological processes involved in shell formation. This dissertation investigated the effects of parasitism on the microstructure of calcium carbonate ($CaCO_3$) shells from *Bulimulus tenuissimus*, predominantly composed of calcite, and *Biomphalaria glabrata*, predominantly composed of aragonite, infected with *Angiostrongylus cantonensis* and *Echinostoma paraensei*. The objective was to characterize the crystallographic, spectroscopic, morphological, and compositional modifications induced by parasitic infection, identifying structural biomarkers associated with host physiological stress. Shell samples were characterized using X-ray Diffraction (XRD), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Raman Spectroscopy, Scanning Electron Microscopy (SEM), and Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS). Quantitative analysis of the diffraction patterns was performed using a Python-based computational pipeline implementing the Williamson–Hall method, enabling the determination of crystallite size, lattice microstrain, and the estimation of mechanical properties through the Hall–Petch relationship. The results revealed distinct responses between the two calcium carbonate polymorphs. In *Bulimulus tenuissimus*, parasitic infection promoted initial microstructural refinement followed by disordered crystallite growth, reduced mechanical strength, and progressive loss of the organic matrix. In *Biomphalaria glabrata*, aragonite exhibited greater sensitivity to parasitic stress, characterized by increased crystallite size, more pronounced spectroscopic changes, and greater structural degradation under coinfection. These findings demonstrate that crystallographic, compositional, and morphological modifications in mollusk shells provide measurable records of parasite-induced physiological stress, highlighting the potential of biogenic calcium carbonate as a structural biomarker of host–parasite interactions and expanding its applications in Materials Science, Parasitology, and One Health.

Keywords: Microstructural degradation; Biomineralization; X-ray diffraction (XRD); Williamson-Hall method; Environmental biomarkers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Espécies de gastrópodes utilizadas no presente estudo. (A) Biomphalaria glabrata; (B) Bulimulus tenuissimus.....20

Figura 2 – Ciclo biológico de Echinostoma paraensei. Ovos eliminados nas fezes do hospedeiro definitivo (aves e mamíferos) eclodem na água, liberando miracídios que infectam moluscos, como Biomphalaria glabrata. Após o desenvolvimento em esporocistos e rédias, são produzidas cercárias que deixam o hospedeiro e se encistam como metacercárias em um segundo hospedeiro intermediário, sendo posteriormente ingeridas pelo hospedeiro definitivo. 21

Figura 3 – Ciclo de vida de Angiostrongylus cantonensis. Larvas de primeiro estágio (L1) são eliminadas nas fezes do hospedeiro definitivo (roedores). Essas larvas são ingeridas por moluscos terrestres ou aquáticos, nos quais se desenvolvem até o terceiro estágio. 22

Figura 4 – Modelo conceitual da castração parasitária e suas repercussões fisiológicas em moluscos. Comparação esquemática entre molusco saudável e molusco infectado, evidenciando o redirecionamento de energia metabólica. No organismo infectado, há priorização de processos como resposta imune e reparo tecidual, com redução do investimento reprodutivo e da síntese de matriz orgânica, caracterizando castração metabólica e estrutural.....23

Figura 5 – Representação esquemática da biomineralização da concha, destacando a formação da matriz orgânica, a nucleação e o crescimento dos cristais de carbonato de cálcio. ...24

Figura 6 – Representação esquemática da cadeia de eventos do parasitismo na biomineralização e microestrutura da concha do molusco. 25

Figura 7 – Esquema de um difratômetro de raios X. 27

Figura 8 – Ilustração do Gráfico de Williamson–Hall 29

Figura 9 – Fluxograma do sistema computacional proposto para análise dos dados de difração de raios X. 30

Figura 10 – Fluxograma da metodologia experimental empregada neste estudo, desde a obtenção dos moluscos até a análise final dos dados.....32

Figura 11 – Etapas de preparação das amostras: (1º) conchas intactas, (2º) maceração em almofariz de ágata, (3º) calcinação e (4º) pó final calcinado.....33

Figura 12 – Fluxograma do pipeline computacional desenvolvido para o processamento dos dados de difração de raios X.....36

Figura 13 – Espectros de FTIR em offset da concha de Bulimulus tenuissimus nos grupos controle e infectados por Angiostrongylus cantonensis ao longo do período experimental 1ª, 2ª e 3ª semanas. As bandas características da calcita estão indicadas, com destaque para as regiões dos modos vibracionais ν_2, ν_3 e ν_4.....38

Figura 14 – Espectros Raman consolidados da concha de Bulimulus tenuissimus nos grupos

controle e infectados com Angiostrongylus cantonensis ao longo do período experimental. As bandas características da calcita estão indicadas, com destaque para o modo de estiramento simétrico ν_1 e o modo de deformação no plano ν_4. 40

Figura 15– Difratogramas de raios X (DRX) em perspectiva tridimensional das conchas de Bulimulus tenuissimus nos grupos Controle e infectados por Angiostrongylus cantonensis ao longo do período experimental. Os índices cristalográficos (hkl) correspondem às principais reflexões da fase calcita. A seta vermelha indica uma reflexão secundária em aproximadamente $2\theta = 26{,}5°$, observada exclusivamente na amostra da 3ª semana.....42

Figura 16 – Gráficos de Williamson–Hall para Bulimulus tenuissimus: (A) grupo controle, mostrando comportamento típico da calcita não estressada; (B) amostra da 2ª semana B de infecção com Angiostrongylus cantonensis, representativa do estágio de colapso estrutural, evidenciando a acentuada redução da inclinação da reta (microdeformação) e a alteração no tamanho de cristalito.....43

Figura 17 – Composição de cálcio (Ca%) vs. tempo pós-infecção em conchas de Bulimulus tenuissimus infectado experimentalmente com Angiostrongylus cantonensis. 46

Figura 18 – Tensão de escoamento estimada (σ_γ) vs. tempo pós-infecção em conchas de Bulimulus tenuissimus infectado experimentalmente com Angiostrongylus cantonensis. 46

Figura 19 – Evolução dos parâmetros microestruturais obtidos pelo método de Williamson–Hall em conchas de Bulimulus tenuissimus infectadas experimentalmente por Angiostrongylus cantonensis: (A) tamanho médio de cristalito (D); (B) microdeformação (ε); e (C) densidade de discordâncias (ρ). 47

Figura 20 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das conchas de Bulimulus tenuissimus (A) Controle: superfície regular e organização cristalina bem definida; (B) Infectado experimentalmente com Angiostrongylus cantonensis. 1ª semana: início da desorganização superficial e sutil aumento da rugosidade; (C) 2ª semana A: manutenção da desorganização com aumento da porosidade; (D) 2ª semana B: estágio de colapso estrutural, com acentuada perda da orientação preferencial e fragmentação dos domínios; (E) 3ª semana: crescimento de cristais maiores, apresentando arquitetura desorganizada e perda da textura refinada.....49

Figura 21 – Espectros de FTIR das conchas de Biomphalaria glabrata obtidos para os diferentes grupos experimentais, evidenciando as bandas características da aragonita (ν_2, ν_3 e ν_4). 52

Figura 22 – Espectros Raman das conchas de Biomphalaria glabrata nos grupos controle, infectado por Angiostrongylus cantonensis, infectado por Echinostoma paraensei e coinfectados. As bandas características da aragonita estão destacadas, com ênfase no modo de estiramento simétrico ν_1.....54

Figura 23 – Difratogramas de raios X (DRX) das conchas de Biomphalaria glabrata obtidos para os grupos controle, infectado por Angiostrongylus cantonensis, infectado por Echinostoma paraensei e coinfectados. 56

Figura 24 – Gráficos de Williamson–Hall para Biomphalaria glabrata: (A) grupo controle, mostrando comportamento típico da aragonita não estressada; (B) coinfecção

Angiostrongylus cantonensis + Echinostoma paraensei (E+A), representativa do cenário de maior degradação estrutural, com alterações pronunciadas na inclinação da reta e no intercepto. 57

Figura 25 – Composição de cálcio (Ca%) vs. grupo experimental em Biomphalaria glabrata. . 60

Figura 26 – Tensão de escoamento estimada (σ_γ) vs. grupo experimental em Biomphalaria glabrata. 61

Figura 27 – Evolução dos parâmetros microestruturais obtidos pelo método de Williamson–Hall para as conchas de Biomphalaria glabrata: (A) tamanho médio de cristalito (D); (B) microdeformação (ε); e (C) densidade de discordâncias (ρ), em função das diferentes condições experimentais de infecção. 62

Figura 28 – Micrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das conchas de Biomphalaria glabrata sob diferentes condições experimentais: (A) grupo controle; (B) infecção por Angiostrongylus cantonensis; (C) infecção por Echinostoma paraensei; (D) coinfecção Angiostrongylus cantonensis + Echinostoma paraensei (A+E); e (E) coinfecção Echinostoma paraensei + Angiostrongylus cantonensis (E+A). As colunas correspondem às imagens de MEV, ao mapeamento de oxigênio, ao mapeamento de cálcio e ao mapa composicional Ca/O obtido por EDS. 64

Figura 29 – Correlação entre composição de cálcio (Ca%) e tensão de escoamento (σ_γ) 68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características cristalográficas dos principais polimorfos do carbonato de cálcio encontrados em conchas de moluscos. 24

Tabela 2 – Evolução dos modos vibracionais do carbonato obtidos por FTIR em conchas de Bulimulus tenuissimus ao longo do tempo de infecção por Angiostrongylus cantonensis. 39

Tabela 3 – Evolução dos principais modos vibracionais obtidos por espectroscopia Raman em conchas de Bulimulus tenuissimus ao longo do tempo de infecção com Angiostrongylus cantonensis. 40

Tabela 4 – Principais reflexões cristalográficas identificadas por difração de raios X (DRX) em conchas de Bulimulus tenuissimus. 42

Tabela 5 – Parâmetros microestruturais obtidos pela análise de Williamson–Hall dos difratogramas de raios X das conchas de Bulimulus tenuissimus sob diferentes condições experimentais ao longo do período de infecção com Angiostrongylus cantonensis. 44

Tabela 6 – Composição química elementar e relações estequiométricas obtidas por EDS em conchas de Bulimulus tenuissimus ao longo do tempo de infecção com Angiostrongylus cantonensis 45

Tabela 7 – Deslocamentos dos modos vibracionais ν_2, ν_3 e ν_4 do carbonato de cálcio identificados por FTIR nas conchas de Biomphalaria glabrata sob diferentes condições de infecção parasitária. 52

Tabela 8 – Variação do modo de estiramento simétrico (ν_1) e dos modos de rede obtidos por espectroscopia Raman em conchas de Biomphalaria glabrata sob diferentes condições de infecção parasitária 54

Tabela 9 – Principais reflexões cristalográficas identificadas por difração de raios X (DRX) em conchas de Biomphalaria glabrata, com respectivos ângulos de difração (2θ) e planos cristalográficos (hkl) 56

Tabela 10 – Parâmetros microestruturais obtidos pela análise de Williamson-Hall dos difratogramas de raios X das conchas de Biomphalaria glabrata (aragonita) sob diferentes condições experimentais de infecção 58

Tabela 11 – Composição química elementar e relações estequiométricas obtidas por EDS em conchas de Biomphalaria glabrata sob diferentes condições de infecção parasitária. 59

Tabela 12 – Síntese comparativa dos mecanismos de degradação estrutural induzidos pelo parasitismo em Bulimulus tenuissimus (calcita) e Biomphalaria glabrata (aragonita). 66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ATR	Attenuated Total Reflectance
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CETEM	Centro de Tecnologia Mineral
DRX	Difração de Raios X
EDS	Espectroscopia por Dispersão de Energia
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PPGCEMAT	Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
A+E	*Angiostrongylus cantonensis* + *Echinostoma paraensei*
E+A	*Echinostoma paraensei* + *Angiostrongylus cantonensis*
A. cantonensis	*Angiostrongylus cantonensis*
E. paraensei	*Echinostoma paraensei*

LISTA DE SÍMBOLOS

D	Tamanho médio do cristalito
ε	Microdeformação
λ	Comprimento de onda
θ	Ângulo de Bragg
ρ	Densidade de discordâncias
σ_γ	Tensão de escoamento
β	Largura à meia altura (FWHM)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO **17**

2 OBJETIVOS **19**

2.1 Objetivo geral **19**

2.2 Objetivos específicos **19**

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA **20**

3.1 Moluscos gastrópodes **20**

3.2 Interações parasitárias e suas repercussões fisiológicas **20**

3.3 Biomineralização em moluscos **23**

3.4 Efeitos do parasitismo na biomineralização e na microestrutura da concha **25**

3.4.1 Redistribuição energética e seu impacto na biomineralização 26

3.4.2 Alterações Microestruturais Detectáveis por DRX e suas Implicações Mecânicas 26

3.5 Análise cristalográfica por difração de raios X (DRX) **27**

3.5.1 Método de Scherrer 28

3.5.2 Método de Williamson–Hall 28

3.6 Correlação entre microestrutura e propriedades mecânicas **29**

3.7 Sistema computacional para análise de dados de difração **30**

4 MATERIAL E MÉTODOS **32**

4.1 Amostras biológicas e delineamento experimental **32**

4.1.1 Espécies e Grupos Experimentais 32

4.1.2 Manejo e Condições Experimentais 33

4.2 Preparação das amostras **33**

4.3 Técnicas de caracterização **34**

4.3.1 Difração de Raios X (DRX) 34

4.3.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) 34

4.3.3 Espectroscopia Raman 35

4.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Dispersão de Energia (EDS) 35

4.4 Processamento e análise computacional **35**

4.5 Uso de Ferramentas de Inteligência Artificial Generativa **36**

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO **38**

5.1 *Bulimulus tenuissimus* (Calcita) **38**

5.1.1 Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de

Fourier (FTIR) 38
5.1.2 Caracterização por Espectroscopia Raman 39
5.1.3 Caracterização por Difração de Raios X (DRX) e Parâmetros Microestruturais 41
5.1.4 Caracterização por Espectroscopia de Dispersão de Energia (EDS) 45
5.1.5 Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 48
5.1.6 Efeitos do parasitismo por *Angiostrongylus cantonensis* na microestrutura da concha de *Bulimulus tenuissimus* 50
5.2 *Biomphalaria glabrata* (Aragonita) 51
5.2.1 Caracterização por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) 51
5.2.2 Caracterização por espectroscopia Raman 53
5.2.3 Caracterização por Difração de Raios X (DRX) e Parâmetros Microestruturais 55
5.2.4 Caracterização por Espectroscopia de Dispersão de Energia (EDS) 59
5.2.5 Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 63
5.3 Discussão comparativa: calcita vs. Aragonita 65
5.3.1 Efeitos do Parasitismo na Aragonita de *Biomphalaria Glabrata* 65
5.3.2 Síntese dos Mecanismos de Degradação 66
5.3.3 Correlação Integrada: Composição vs. Propriedades Mecânicas 67
5.3.4 Implicações Ecológicas 69
6 CONCLUSÃO 70
7 SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS 72
REFERÊNCIAS 73
APÊNDICE 77
APÊNDICE A – Relatório DRX: Biomphalaria glabrata – Controle 77
APÊNDICE B – Relatório DRX: Biomphalaria glabrata Angiostrongylus cantonensis 78
APÊNDICE C – Relatório DRX: Biomphalaria glabrata – Echinostoma paraensei 79
APÊNDICE D – Relatório DRX: Biomphalaria glabrata – Coinfecção A+E 80
APÊNDICE E – Relatório DRX: Biomphalaria glabrata – Coinfecção E+A 81
APÊNDICE F – Relatório DRX: Bulimulus tenuissimus – Controle 82
APÊNDICE G – Relatório DRX: Bulimulus tenuissimus – 1ª Semana 83
APÊNDICE H – Relatório DRX: Bulimulus tenuissimus – 2ª Semana A 84
APÊNDICE I – Relatório DRX: Bulimulus tenuissimus – 2ª Semana B 85
APÊNDICE J – Relatório DRX: Bulimulus tenuissimus – 3ª Semana 86

APÊNDICE K – Pipeline Computacional em Python **87**

K.1 Descrição Geral **87**

K.2 Constantes e Parâmetros Utilizados **87**

K.3 Principais Funções Implementadas **87**

K.4 Bibliotecas Utilizadas **89**

1 INTRODUÇÃO

Os moluscos gastrópodes desempenham importante função ecológica, integrando diversas cadeias alimentares e contribuindo para o equilíbrio dos ecossistemas. Além disso, muitas espécies possuem relevância para a saúde pública por atuarem como hospedeiros intermediários de parasitos, especialmente aqueles associados aos hábitos alimentares humanos ou presentes em ambientes habitados por pessoas (Lafferty; Kuris, 2009).

Neste estudo foram utilizadas duas espécies de moluscos gastrópodes, selecionadas em função de suas distintas características biológicas e ecológicas:

1. *Bulimulus tenuissimus* atua como um hospedeiro intermediário das larvas de *Angiostrongylus cantonensis* (Martins et al., 2019).
2. *Biomphalaria glabrata* atua como um modelo para estudos de parasitos, sendo sensível a infecções e coinfecções por *Angiostrongylus cantonensis* e *Echinostoma paraensei* (Bonfim, 2016; Mendes et al., 2020).

A escolha desses animais permite investigar uma variedade de infecções e diferentes mecanismos para avaliar a resposta fisiológica na interação parasito-hospedeiro. A infecção parasitária impõe elevado custo energético ao organismo, promovendo alterações metabólicas e a redistribuição dos recursos fisiológicos, podendo culminar no fenômeno denominado castração parasitária (Lafferty; Kuris, 2009). Embora essas mudanças tenham sido muito exploradas em relação à reprodução, ainda há poucos estudos para analisar o que ocorre na formação das conchas quando o hospedeiro é infectado.

A concha é uma biocerâmica natural, constituída predominantemente por carbonato de cálcio ($CaCO_3$), depositado sobre uma matriz orgânica durante um processo cuidadosamente controlado de biomineralização (Marin et al., 2008; Nudelman, 2015). O processo é sensível às alterações fisiológicas do organismo. A simples mudança na saúde dos moluscos pode alterar a homeostase do cálcio e o ritmo de diversos processos metabólicos no organismo (Silva et al., 2010). A infecção parasitária pode alterar as características da concha, como o tamanho de cristalitos e a tensão na estrutura cristalina.

A difração de raios X combinada ao método de Williamson–Hall constitui uma ferramenta robusta para identificar alterações em tamanho de cristalito e microdeformação (Dardo et al., 2024; Parveen et al., 2021). Essas alterações na microestrutura apresentam relação direta com as propriedades mecânicas da concha, que influenciam diretamente o comportamento mecânico do biomineral.

Os principais polimorfos de carbonato de cálcio presentes nas conchas estudadas são a

calcita, predominante em *Bulimulus tenuissimus*, e a aragonita, predominante em *Biomphalaria glabrata*, os quais respondem de maneira distinta aos estresses ambientais e fisiológicos. Pesquisas mostram que íons, como Mg^{2+} e Sr^{2+}, podem afetar a produção da fase do $CaCO_3$ (Kawano et al., 2015), sugerindo que perturbações fisiológicas, incluindo infecções parasitárias, têm potencial para alterar a qualidade estrutural do biomineral.

Nesse contexto, a presente dissertação investiga de uma forma integrada os efeitos do parasitismo sobre o organismo dos moluscos, conectando Parasitologia, Fisiologia Comparada e Ciência dos Materiais. A análise dos diferentes polimorfos de $CaCO_3$ (calcita e aragonita) em moluscos submetidos a infecções por distintos parasitos proporciona uma abordagem integrada e inovadora sobre os efeitos do estresse parasitário na organização estrutural e na composição das conchas desses hospedeiros.

Além da relevância teórica, a presente dissertação também apresenta importante aplicabilidade prática. Alterações na morfologia das conchas podem atuar como bioindicadores do histórico de infecção, contribuindo para uma compreensão mais aprofundada dos processos fisiológicos dos moluscos (Brian et al., 2021; García-Huidobro et al., 2020). Essa abordagem permite avaliar o estado de saúde do hospedeiro frente ao desvio energético provocado pelo parasitismo. Adicionalmente, o estresse parasitário pode influenciar atributos ecológicos fundamentais, como a vulnerabilidade à predação e a tolerância às variações ambientais. Dessa forma, os resultados obtidos ampliam a compreensão das interações parasita-hospedeiro e reforçam o potencial da concha como ferramenta de análise em investigações biológicas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar as modificações microestruturais, cristalográficas e morfológicas nas conchas de *Bulimulus tenuissimus* infectado por *Angiostrongylus cantonensis* e de *Biomphalaria glabrata* infectada por *Angiostrongylus cantonensis* e/ou *Echinostoma paraensei*, visando identificar biomarcadores estruturais associados ao impacto fisiológico do parasitismo.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar e confirmar as fases polimórficas do $CaCO_3$ (calcita/aragonita) nos grupos controle e infectados por meio das técnicas de DRX, FTIR, Raman e MEV-EDS.
- Quantificar, por meio do método de Williamson–Hall aplicado aos dados de DRX, os parâmetros microestruturais: tamanho médio de cristalito (D), microdeformação (ε) e densidade de discordâncias (ρ).
- Analisar a cinética das alterações microestruturais na concha de *Bulimulus tenuissimus* ao longo do tempo de infecção (0, 1, 2 e 3 semanas pós-infecção) por Angiostrongylus cantonensis.
- Comparar o impacto de infecções simples (*Angiostrongylus cantonensis* ou *Echinostoma paraensei*) e co-infecções sequenciais na microestrutura da concha de *Biomphalaria glabrata* .
- Correlacionar as assinaturas espectroscópicas (FTIR e Raman) com os parâmetros microestruturais obtidos por DRX, validando possíveis biomarcadores espectroscópicos do estresse parasitário.
- Caracterizar a morfologia das conchas por MEV, identificando alterações na textura, porosidade, organização lamelar e hábito cristalino decorrentes da infecção.
- Determinar a composição elementar e a distribuição dos elementos por EDS, avaliando desvios estequiométricos e possíveis substituições iônicas associadas ao parasitismo.
- Estimar as propriedades mecânicas (tensão de escoamento e dureza) a partir dos parâmetros microestruturais obtidos, utilizando o princípio de Hall–Petch, e correlacioná-las com as alterações morfológicas observadas.
- Propor um modelo integrado dos mecanismos de degradação biomineralógica induzidos pelo parasitismo em cada espécie e avaliar o potencial da concha como biomarcador estrutural do estresse fisiológico.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 MOLUSCOS GASTRÓPODES

Os gastrópodes são um grupo muito variado dentro do filo *Mollusca* e estão presentes em diversos ambientes, como os terrestres, marinhos e de água doce. Essa ampla distribuição resulta da elevada capacidade de adaptação das espécies, relacionadas à alimentação, locomoção e defesa (Lafferty; Kuris, 2009; Brian et al., 2021). A principal estrutura de proteção dos gastrópodes é a concha.

A concha é composta basicamente por carbonato de cálcio ($CaCO_3$), depositado sobre uma matriz orgânica secretada pelo manto. Essa organização resulta em um compósito natural que combina rigidez e resiliência, decorrentes da deposição altamente controlada do mineral durante o processo de biomineralização (Marin et al., 2008; Nudelman, 2015; Sun; Bhushan, 2012; Parveen et al., 2021). Além da proteção, a concha atua como um reservatório de cálcio, que pode ser mobilizado para atender às demandas dos processos metabólicos do hospedeiro, uma vez que as desidrogenases envolvidas no metabolismo oxidativo utilizam cátions divalentes como cofatores para sua atividade catalítica, além de outras funções fisiológicas desempenhadas pelo cálcio (Silva et al., 2010). A Figura 1 apresenta os gastrópodes utilizados neste estudo, *Bulimulus tenuissimus* e *Biomphalaria glabrata*, espécies selecionadas em função de sua importância como modelos experimentais para a investigação dos efeitos do parasitismo sobre a biomineralização das conchas.

Figura 1 – Espécies de gastrópodes utilizadas no presente estudo. (A) *Biomphalaria glabrata*; (B) *Bulimulus tenuissimus.*



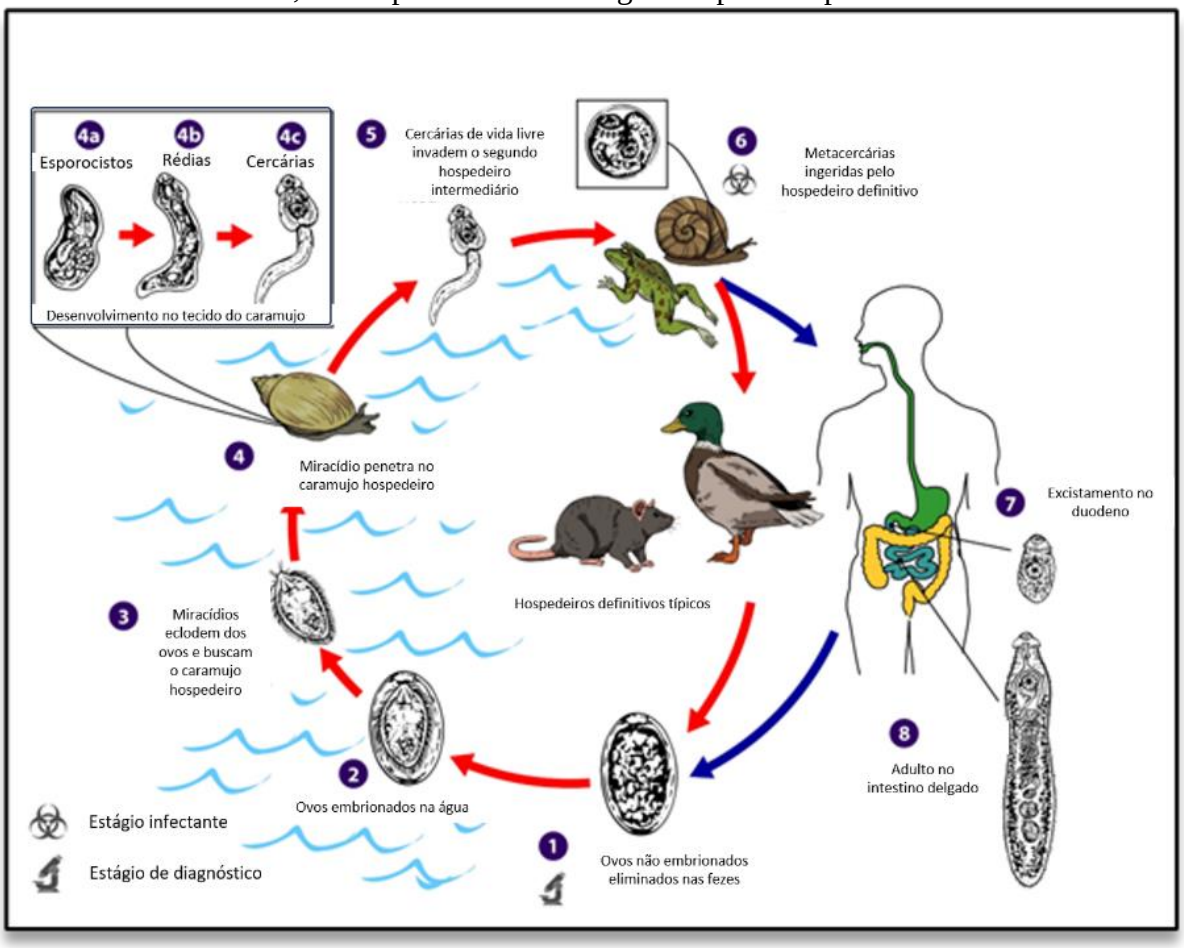
Fonte**:** Aquaportail (2026) (A) e BioFaces (2026) (B).

3.2 INTERAÇÕES PARASITÁRIAS E SUAS REPERCUSSÕES FISIOLÓGICAS

Do ponto de vista ecológico e sanitário, os gastrópodes desempenham um papel fundamental como hospedeiros intermediários de diversos parasitos de importância para a saúde pública e para o conceito de Saúde Única (One Health). Em regiões tropicais, muitas espécies atuam na transmissão de helmintos, como o nematódeo *Angiostrongylus cantonensis*, agente etiológico da meningoencefalite eosinofílica, e o trematódeo *Echinostoma paraensei*, que infecta o intestino delgado de aves e mamíferos (Martins et al., 2019; Mendes et al., 2020).

O ciclo biológico de *Echinostoma paraensei* está ilustrado na Figura 2, destacando os diferentes estágios de desenvolvimento do parasito e a participação dos moluscos como hospedeiros intermediários.

Figura 2 – Ciclo biológico de Echinostoma paraensei. Ovos eliminados nas fezes do hospedeiro definitivo (aves e mamíferos) eclodem na água, liberando miracídios que infectam moluscos, como Biomphalaria glabrata. Após o desenvolvimento em esporocistos e rédias, são produzidas cercárias que deixam o hospedeiro e se encistam como metacercárias em um segundo hospedeiro intermediário, sendo posteriormente ingeridas pelo hospedeiro definitivo.



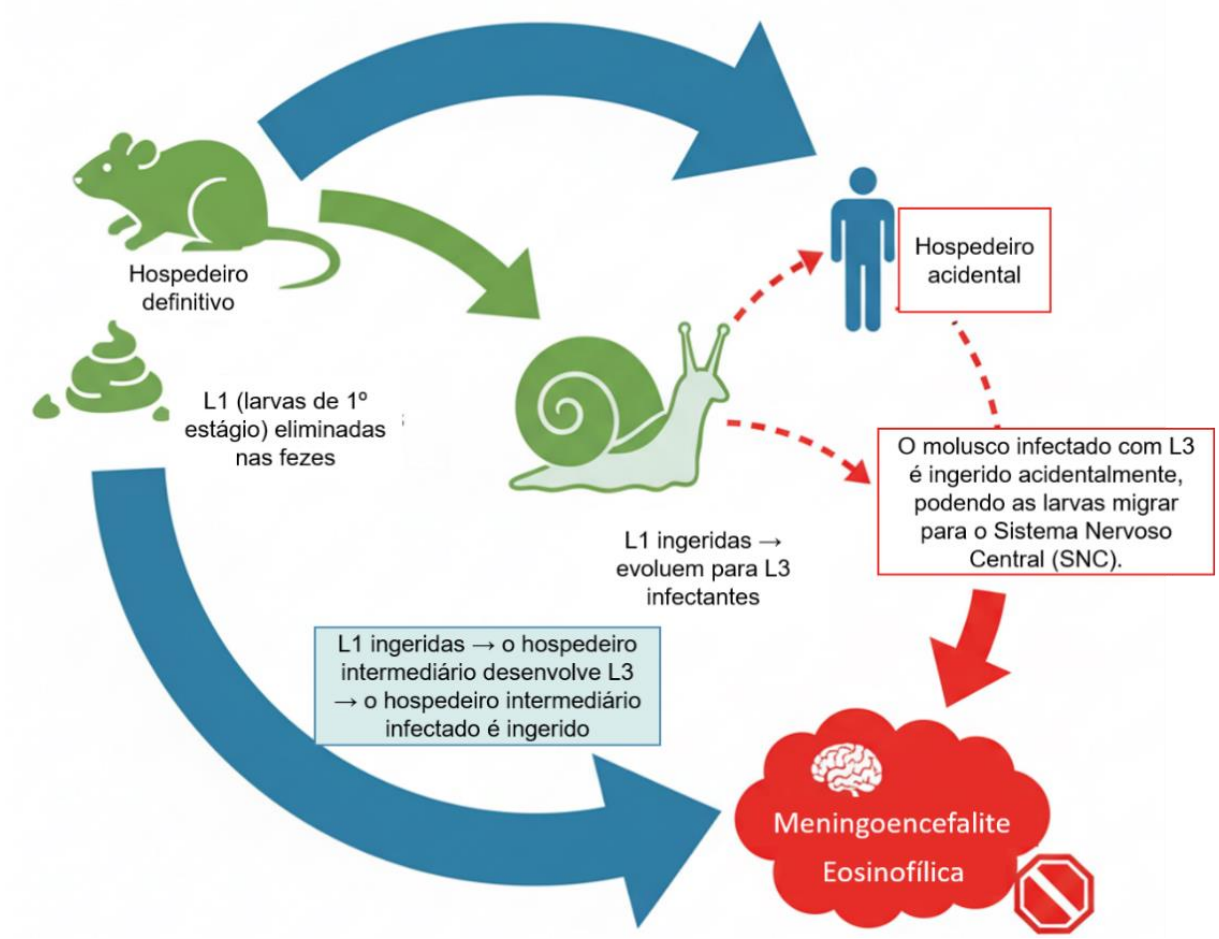
Fonte: Adaptado de Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2026)

Outro helminto de grande relevância médico-sanitária é o nematódeo *Angiostrongylus cantonensis*, responsável pela meningoencefalite eosinofílica em humanos. Seu ciclo biológico envolve moluscos como hospedeiros intermediários e roedores como hospedeiros definitivos,

podendo os seres humanos atuar como hospedeiros acidentais (Bonfim, 2016; Martins et al., 2019).

A Figura 3 apresenta o ciclo de vida de *Angiostrongylus cantonensis*, evidenciando a participação dos moluscos terrestres e dulcícolas como hospedeiros intermediários e dos roedores como hospedeiros definitivos, além da possibilidade de infecção acidental em seres humanos.

Figura 3 – Ciclo de vida de *Angiostrongylus cantonensis*. Larvas de primeiro estágio (L1) são eliminadas nas fezes do hospedeiro definitivo (roedores). Essas larvas são ingeridas por moluscos terrestres ou aquáticos, nos quais se desenvolvem até o terceiro estági



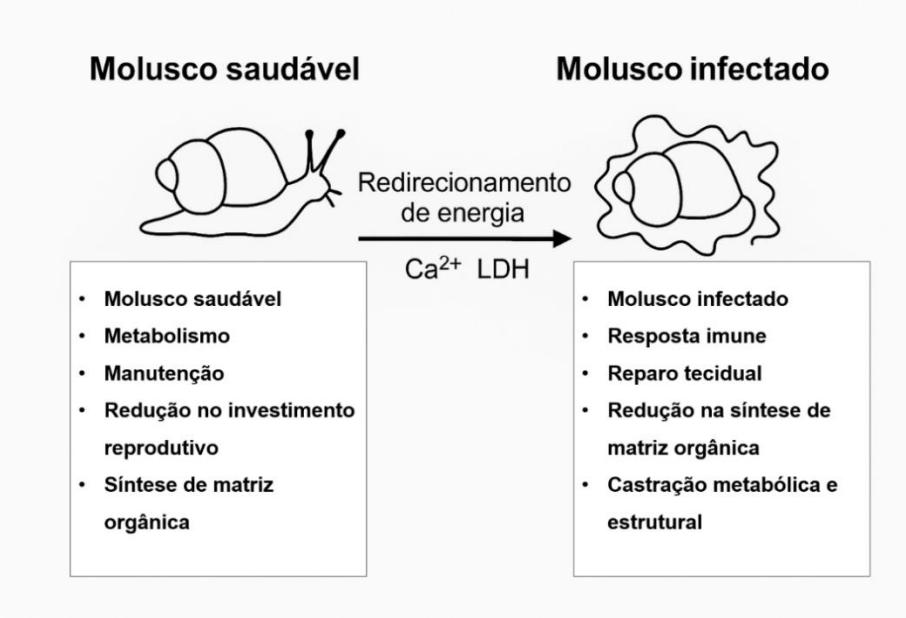
Fonte: Adaptado de Wang et al. (2008) e elaborado pelo autor com auxílio de Inteligência Artificial (2026).

A infecção por larvas desses parasitos desencadeia profundas alterações metabólicas no hospedeiro intermediário, incluindo a redistribuição de recursos energéticos. Este fenômeno, conhecido como castração parasitária, caracterizada pela interferência direta ou indireta do parasito na capacidade reprodutiva do hospedeiro, reduzindo ou eliminando completamente. Em vez de matar rapidamente o hospedeiro, o parasito redireciona os recursos energéticos que seriam utilizados na reprodução para seu próprio crescimento, manutenção ou transmissão (Lafferty; Kuris, 2009). Consequentemente, processos metabolicamente custosos como a

biomineralização da concha podem ser comprometidos (Bonfim, 2016; Mendes et al., 2020).

Com base nesses mecanismos, a Figura 4 apresenta um modelo conceitual que sintetiza os principais efeitos fisiológicos do parasitismo sobre o hospedeiro, evidenciando o redirecionamento dos recursos energéticos e suas possíveis repercussões sobre a biomineralização das conchas.

Figura 4 – Modelo conceitual da castração parasitária e suas repercussões fisiológicas em moluscos. Comparação esquemática entre molusco saudável e molusco infectado, evidenciando o redirecionamento de energia metabólica. No organismo infectado, há priorização de processos como resposta imune e reparo tecidual, com redução do investimento reprodutivo e da síntese de matriz orgânica, caracterizando castração metabólica e estrutural

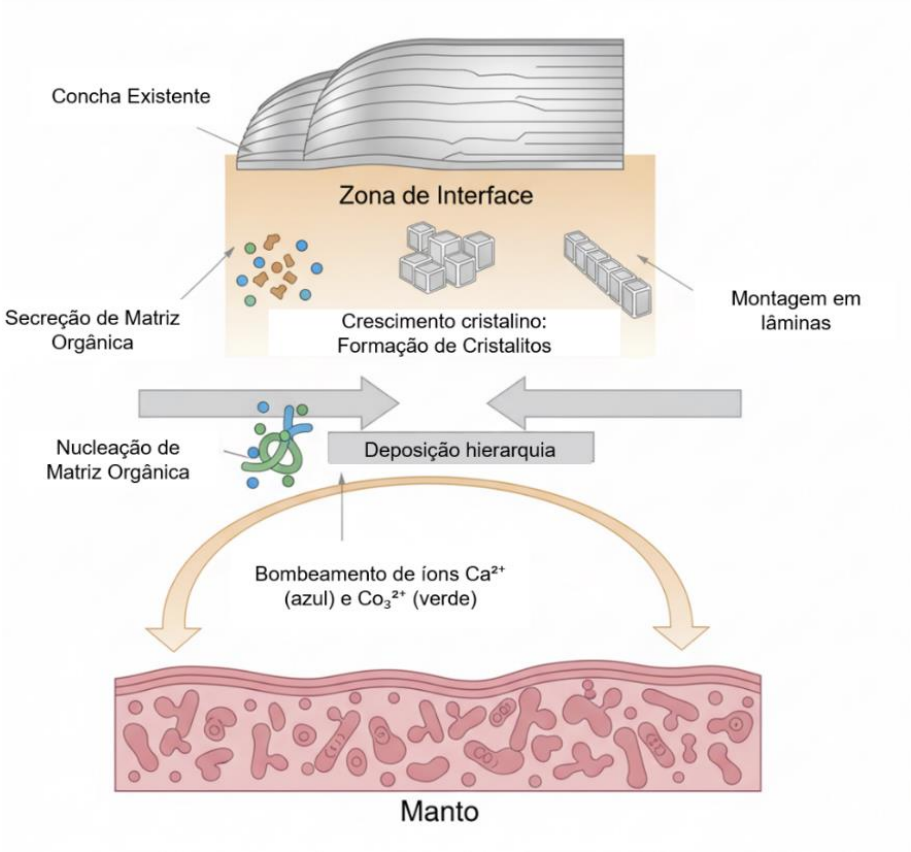


Fonte**:** Elaborado pelo autor com auxílio de Inteligência Artificial (2026).

3.3 Biomineralização em moluscos

O processo de biomineralização é rigorosamente regulado e envolve a deposição hierárquica de cristais de $CaCO_3$ sobre uma matriz orgânica. Essa matriz, composta por proteínas, glicoproteínas e polissacarídeos, atua como um molde molecular, direcionando a nucleação, o crescimento cristalino e a formação dos diferentes polimorfos do carbonato de cálcio (ADDADI et al. 2006; Marin et al., 2008; Nudelman, 2015; Sun; Bhushan, 2012; Gránásy et al., 2021). Com o objetivo de sintetizar os principais mecanismos envolvidos na formação da concha, a Figura 5 apresenta um esquema do processo de biomineralização em moluscos, destacando a secreção da matriz orgânica pelo manto, a nucleação dos cristais e o crescimento controlado dos polimorfos de carbonato de cálcio que constituem a estrutura mineralizada da concha.

Figura 5 – Representação esquemática da biomineralização da concha, destacando a formação da matriz orgânica, a nucleação e o crescimento dos cristais de carbonato de cálcio.



Fonte: Elaborado pelo autor com auxílio de Inteligência Artificial (2026).

O carbonato de cálcio pode formar diferentes fases cristalinas, sendo a aragonita e a calcita as mais comuns em conchas. A formação dos diferentes polimorfos cristalinos é influenciada pela composição da matriz orgânica e por íons como Mg^{2+} e Sr^{2+} na hemolinfa, que atuam como modificadores da estrutura cristalina (Kawano et al., 2015). A Tabela 1 apresenta uma síntese das principais características cristalográficas da calcita e da aragonita, os polimorfos de carbonato de cálcio mais frequentemente encontrados em conchas de moluscos.

Tabela 1 – Características cristalográficas dos principais polimorfos do carbonato de cálcio encontrados em conchas de moluscos.

Polimorfo	Sistema Cristalino	Hábito Cristalino	Estabilidade
Aragonita	Ortorrômbico	Acicular, Prismático	Metaestável
Calcita	Trigonal	Romboédrico, Escalenohédrico	Estável

Fonte: Elaborado pelo autor com base em Kawano et al. (2015), Marin et al. (2008) e Nudelman (2015).

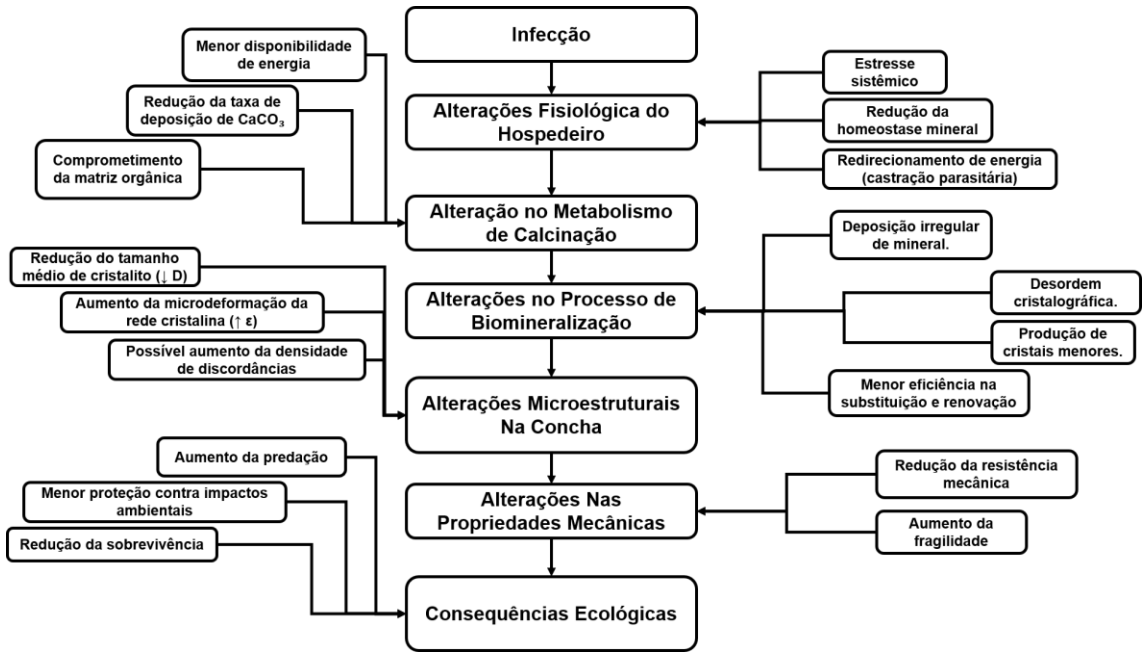
A homeostase do cálcio garante a disponibilidade de íons para a mineralização. Esse

equilíbrio é dinâmico, e a concha pode servir como fonte de cálcio durante situações de estresse fisiológico, como infecções parasitárias (Silva et al., 2010). Portanto, distúrbios na síntese da matriz orgânica ou no equilíbrio iônico afetam diretamente a qualidade e a organização dos biominerais.

3.4 EFEITOS DO PARASITISMO NA BIOMINERALIZAÇÃO E NA MICROESTRUTURA DA CONCHA

A infecção por Angiostrongylus cantonensis desencadeia uma série de alterações fisiológicas no organismo do molusco hospedeiro que afetam diretamente o processo de biomineralização (Bonfim, 2016; Mendes et al., 2020). Considerando que a concha constitui um registro das condições fisiológicas do organismo, é possível estabelecer uma relação direta entre o parasitismo e as alterações da microestrutura do biomineral, com reflexos em suas propriedades mecânicas (García-Huidobro et al., 2020; Brian et al., 2021). Com base nesses mecanismos, a Figura 6 apresenta um modelo conceitual que sintetiza a sequência de eventos desencadeados pelo parasitismo, evidenciando como as alterações fisiológicas do hospedeiro repercutem sobre a biomineralização, a microestrutura da concha e, consequentemente, suas propriedades mecânicas.

Figura 6– Representação esquemática da cadeia de eventos do parasitismo na biomineralização e microestrutura da concha do molusco.



Fonte: Elaborado pelo autor

3.4.1 Redistribuição energética e seu impacto na biomineralização

A biomineralização é um processo metabolicamente custoso que consome muita energia para a síntese da matriz orgânica e da manutenção. Em moluscos infectados, ocorre uma drástica redistribuição de recursos, desviados para o desenvolvimento das larvas. Com a extensiva drenagem dos substratos energéticos de eleição, a saber os carboidratos, os moluscos passam a utilizar a via de fermentação láctica, assim como a via da gliconeogênese para obtenção de energia livre necessária à sua manutenção. Como consequência, há uma elevação na concentração de ácidos orgânicos na hemolinfa, como ácido láctico, o que altera o seu pH. Tal processo faz com que o molusco precise mobilizar mais o principal sistema tamponante do seu meio interno, o tampão bicarbonato, e, para isso, ele aumenta a retirada do carbonato de cálcio da concha, utilizando tanto o carbonato (CO_3^{2-}), para compor o tampão bicarbonato, como o cálcio iônico (Ca2+) para atuar como cofator das desidrogenases envolvidas no metabolismo oxidativo (Lafferty; Kuris, 2009).

Como consequência, pode ser notada uma redução na síntese da matriz orgânica, que serve como molde para o crescimento cristalino. Simultaneamente, o metabolismo do cálcio é comprometido, com evidências apontando para alterações em sua concentração na hemolinfa e aumento da mobilização de reservas minerais da própria concha (HALL et al., 2007; Silva et al., 2010; Bonfim, 2016). A combinação de energia reduzida para a síntese da matriz e a menor disponibilidade de íons Ca^{2+} resulta em um menor controle biológico sobre a deposição mineral. Isso se manifesta microestruturalmente por meio de alterações no tamanho dos cristalitos, possíveis modificações no polimorfismo e incorporação anômala de íons como Mg^{2+} e Sr^{2+} (Kawano et al., 2015).

3.4.2 Alterações Microestruturais Detectáveis por DRX e suas Implicações Mecânicas

O comprometimento do processo de biomineralização é visto em parâmetros cristalográficos que podem ser determinados por difração de raios X.

- Variações no Tamanho de Cristalito (D): Um aumento em D é um indicativo de menor controle biótico durante a nucleação e o crescimento cristalino (Parveen et al., 2021).
- Aumento da Microdeformação (ε): Valores elevados de ε revelam a presença de tensões internas e distorções na rede cristalina, decorrentes de uma deposição mineral irregular (Dardo et al., 2024).
- O método de Williamson–Hall é particularmente sensível para identificar diferenças no

tamanho dos cristais, sendo esperado que moluscos infectados apresentem valores significativamente diferentes de D e ε em comparação com indivíduos saudáveis (Dardo et al., 2024; Parveen et al., 2021; Silva et al., 2010).

3.5 Análise cristalográfica por difração de raios X (DRX)

A difração de raios X (DRX) é uma técnica amplamente utilizada para a caracterização estrutural e microestrutural de materiais cristalinos. O fenômeno da difração é descrito pela Lei de Bragg na equação 1:

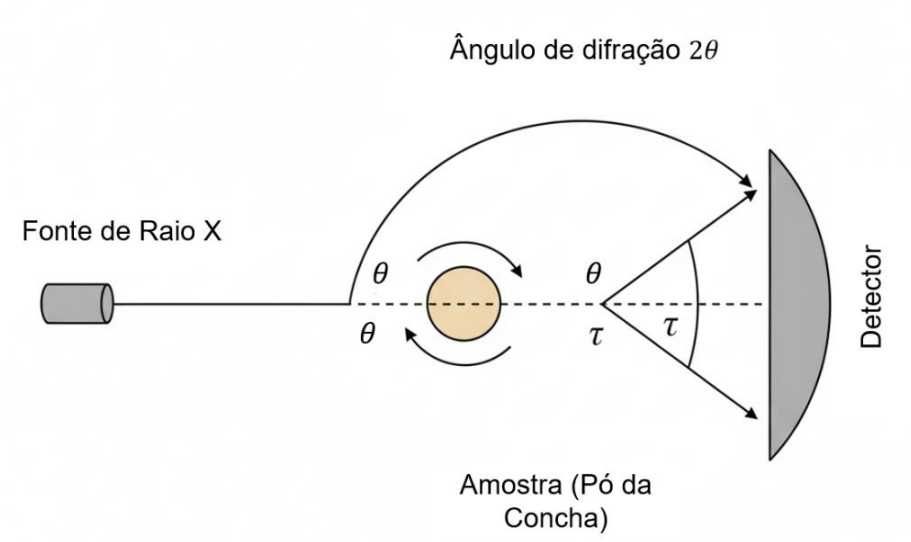
$$n\lambda = 2d\,\mathrm{sen}\theta \quad (1)$$

Onde:

- n é a ordem de difração,
- λ o comprimento de onda,
- d o espaçamento interplanar e
- θ o ângulo de Bragg.

A Figura 7 apresenta um esquema simplificado de um difratômetro de raios X. Nesse equipamento, registra-se a intensidade da radiação difratada em função do ângulo de difração, produzindo um difratograma que permite identificar fases cristalinas e analisar o alargamento dos picos para extrair informações microestruturais (Cordero et al., 2016; Dardo et al., 2024).

Figura 7 – Esquema de um difratômetro de raios X.



Fonte: Adaptado de Callister Jr. (2020) com auxílio de Inteligência Artificial (2026).

O alargamento dos picos de difração está relacionado principalmente ao tamanho dos cristalitos e à presença de microdeformações (ε) na rede cristalina, constituindo a base para os métodos de Scherrer e Williamson–Hall utilizados na caracterização microestrutural dos materiais.

3.5.1 Método de Scherrer

O método de Scherrer fornece uma estimativa inicial do tamanho médio dos cristalitos (D), sendo expresso pela Equação (2):

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta} \tag{2}$$

Onde:

- K é o fator de forma de Scherrer (≈ 0,9);
- β corresponde à largura do pico à meia altura (Full Width at Half Maximum – FWHM);
- θ é o ângulo de Bragg;
- λ é o comprimento de onda da radiação incidente.

O método considera que o alargamento dos picos de difração é decorrente exclusivamente do tamanho finito dos cristalitos, não levando em consideração as contribuições provenientes das microdeformações da rede cristalina.

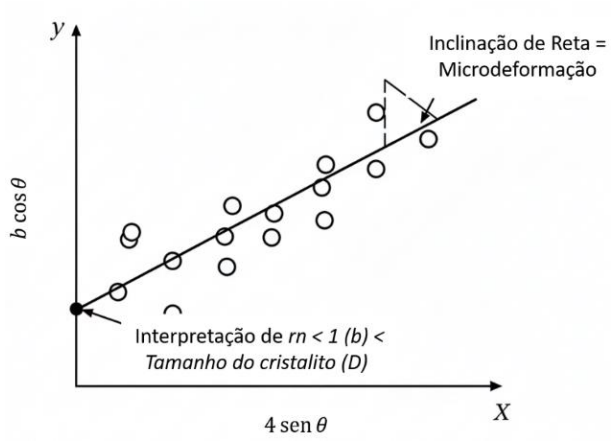
3.5.2 Método de Williamson–Hall

O método de Williamson–Hall representa uma extensão do método de Scherrer ao permitir a separação das contribuições do tamanho dos cristalitos e das microdeformações da rede cristalina, representada na equação 3 (Prabhu et al., 2014; Dardo et al., 2024; Parveen et al., 2021).

$$\beta \cos\theta = \frac{K\lambda}{D} + 4\,\varepsilon \,\mathrm{sen}\theta \tag{3}$$

A plotagem de $\beta \cos\theta$ em função de $4\,\mathrm{sen}\theta$, conforme ilustrado na Figura 8, resulta em uma relação linear. Nesse gráfico, o coeficiente linear está associado ao termo $\frac{K\lambda}{D}$, permitindo a determinação do tamanho médio dos cristalitos (D), enquanto o coeficiente angular corresponde diretamente ao valor da microdeformação (ε).

Figura 8 – Ilustração do Gráfico de Williamson–Hall



Fonte: Elaborado pelo autor com auxílio de Inteligência Artificial (2026).

3.6 Correlação entre microestrutura e propriedades mecânicas

As cerâmicas e os biominerais apresentam elevada sensibilidade às alterações em sua microestrutura, as quais influenciam diretamente o seu desempenho mecânico. Entre os modelos mais utilizados para descrever essa relação destaca-se a equação de Hall–Petch, representada na equação 4, que estabelece a dependência das propriedades mecânicas, particularmente da resistência mecânica, em função do tamanho dos grãos ou cristalitos (Cordero et al., 2016; Li et al., 2016; Kato, 2014).

A literatura demonstra que o refinamento da microestrutura está associado ao aumento da resistência mecânica. Esse comportamento indica que modificações na escala microestrutural podem resultar em alterações significativas nas propriedades mecânicas de materiais cerâmicos e biominerais (Dangwal et al., 2023).

$$\sigma_y = \sigma_0 + k D^{-\frac{1}{2}} \quad (4)$$

Onde:

- σ_y é a tensão de escoamento,
- σ_0 a tensão de atrito da rede e
- k a constante de Hall–Petch.
- D é o tamanho médio dos cristalitos.

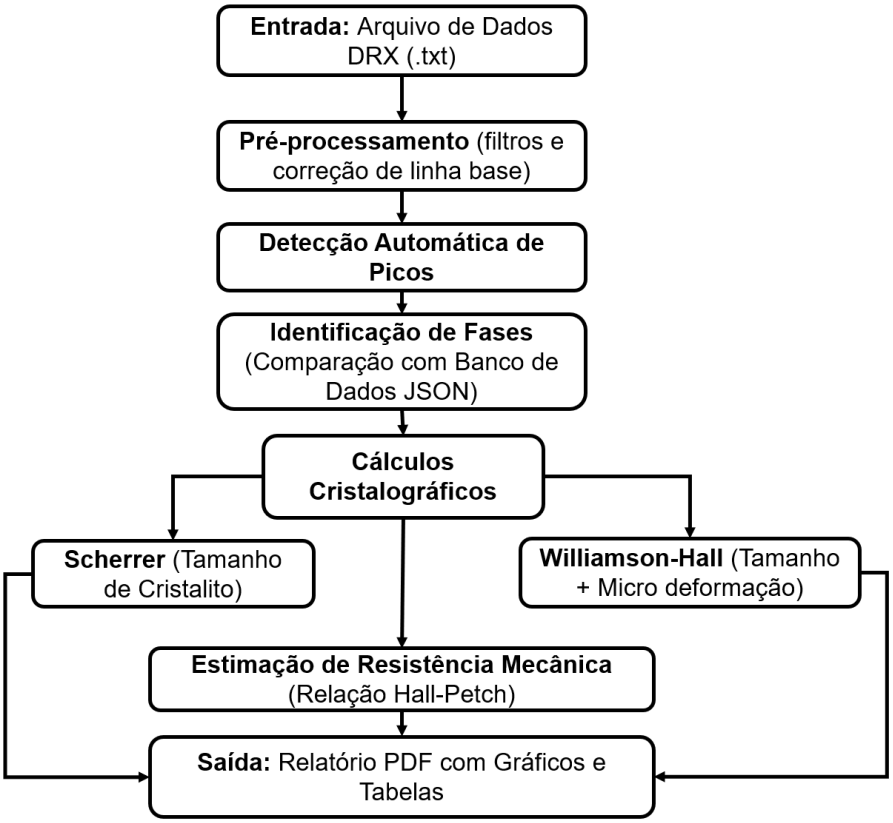
Essa relação indica que a redução do tamanho dos grãos ou cristalitos promove o aumento da resistência ao escoamento, uma vez que os contornos de grão atuam como barreiras à movimentação das discordâncias. Embora originalmente proposta para materiais metálicos, estudos recentes demonstram que essa relação também pode ser aplicada a materiais cerâmicos

e biominerais, nos quais parâmetros cristalográficos, como o tamanho médio de cristalito obtido por difração de raios X, apresentam correlação com propriedades mecânicas mensuráveis (Parveen et al., 2021; Silva et al., 2010).

3.7 Sistema computacional para análise de dados de difração

Para garantir robustez e reprodutibilidade na análise dos dados de difração de raios X, foi desenvolvido um sistema computacional em Python para processamento semi-automático dos difratogramas e extração dos parâmetros microestruturais. O fluxo de trabalho proposto é apresentado na Figura 9, sintetizando as principais etapas do processamento, desde a leitura dos dados experimentais até a estimativa das propriedades mecânicas (Surdu; Gyorgy, 2023; Rabiej; Rabiej, 2021).

Figura 9 – Fluxograma do sistema computacional proposto para análise dos dados de difração de raios X.



Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Conforme ilustrado na Figura 9, o sistema foi estruturado em quatro etapas principais: (i) pré-processamento e identificação automática dos picos de difração; (ii) identificação das fases cristalinas por comparação com bancos de dados de referência; (iii) determinação dos parâmetros microestruturais por meio das equações de Scherrer e Williamson–Hall; e (iv)

estimativa das propriedades mecânicas utilizando a relação de Hall–Petch. Essa sequência permite automatizar o processamento dos difratogramas e padronizar a obtenção dos parâmetros utilizados neste trabalho.

As etapas principais do sistema são:

1. Pré-processamento e Identificação de Picos: O software realiza a leitura dos dados brutos, aplica filtros de suavização para reduzir o ruído e identifica automaticamente a posição e a intensidade dos picos de difração (Holm et al., 2020; Gorynski et al., 2023).
2. Análise de Fases: Os picos identificados são cruzados com um banco de dados de referência para identificação das fases cristalinas presentes (Chen et al., 2024; Szymanski et al., 2023).
3. Cálculo de Parâmetros Microestruturais: A partir da largura dos picos, o sistema calcula o tamanho médio dos cristalitos (D) utilizando a equação de Scherrer (Equação 2). Adicionalmente, implementa o método de Williamson–Hall (Equação 3) para discriminar e quantificar simultaneamente as contribuições do tamanho dos cristalitos e da microdeformação (ε) da rede cristalina (Dardo et al., 2024).
4. Correlação com Propriedades Mecânicas: Com base nos parâmetros microestruturais obtidos, o sistema estima o impacto na resistência mecânica por meio da relação de Hall–Petch (Equação 4) (Cordero et al., 2016).

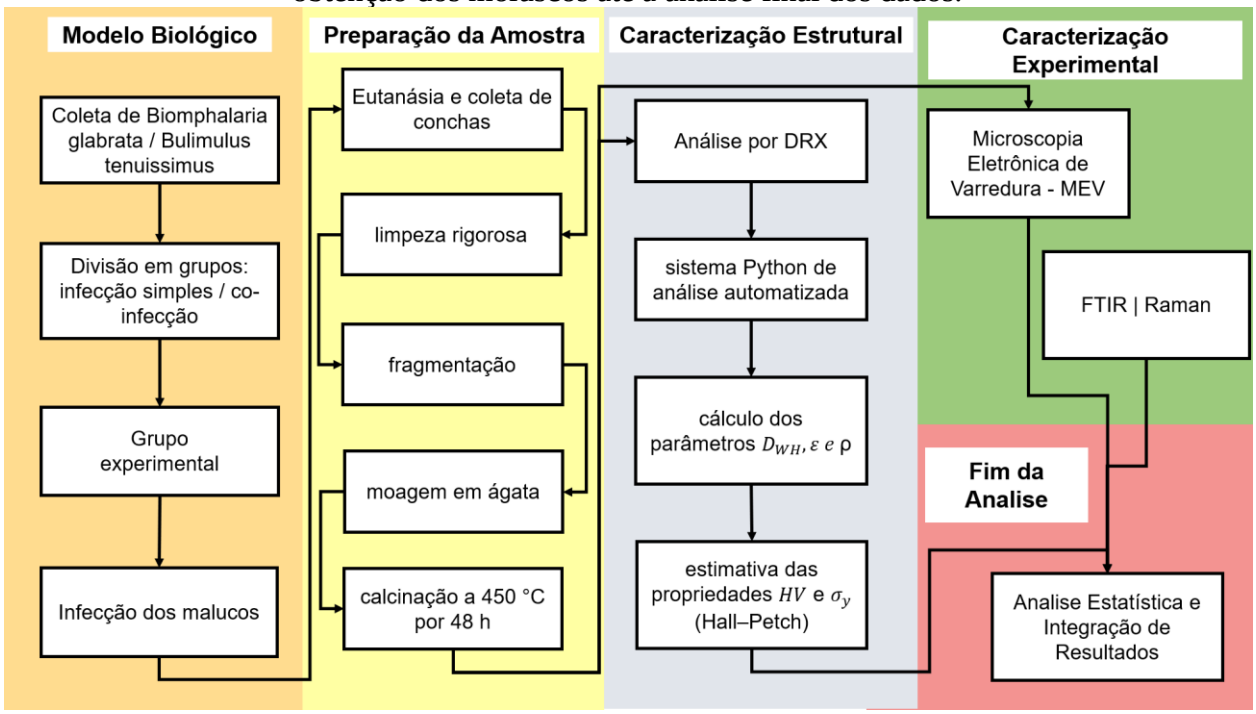
Essa automatização está alinhada com os avanços da tecnologia aplicada à ciência de materiais, que empregam ferramentas computacionais para a análise robusta de padrões de difração (Surdu; Gyorgy, 2023; Zhao et al., 2023).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostras biológicas e delineamento experimental

A metodologia experimental, ilustrada na Figura 10, foi delineada para investigar os efeitos da infecção parasitária na microestrutura das conchas, abrangendo desde a coleta dos moluscos até a análise final dos dados.

Figura 10 – Fluxograma da metodologia experimental empregada neste estudo, desde a obtenção dos moluscos até a análise final dos dados.



Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

4.1.1 Espécies e Grupos Experimentais

a) *Bulimulus tenuissimus* (Espécie Terrestre)

- Grupo infectado: Indivíduos experimentalmente infectados com larvas L1 de *Angiostrongylus cantonensis*, seguindo protocolos experimentais previamente estabelecidos (Bonfim, 2016; Martins et al., 2019). As conchas foram coletadas em diferentes tempos pós-infecção (1, 2 e 3 semanas) para avaliação da evolução temporal das alterações microestruturais.
- Grupo Controle: Indivíduos não infectados, mantidos nas mesmas condições de manejo, dieta e ambiente.

b) *Biomphalaria glabrata* (Espécie Aquática)

Foram estabelecidos cinco grupos para avaliar infecções simples e coinfecções (Bonfim, 2016; Mendes et al., 2020):

- Grupo Controle: Moluscos não infectados.
- Grupo Infectado por *Angiostrongylus cantonensis*: Infecção simples com o nematoide.
- Grupo Infectado por *Echinostoma paraensei*: Infecção simples com o trematódeo.
- Grupo de Coinfecção: Infecção sequencial com *Angiostrongylus cantonensis* e *Echinostoma paraensei*.
- Grupo de Coinfecção: Infecção sequencial com *Echinostoma paraensei* e *Angiostrongylus cantonensis.*

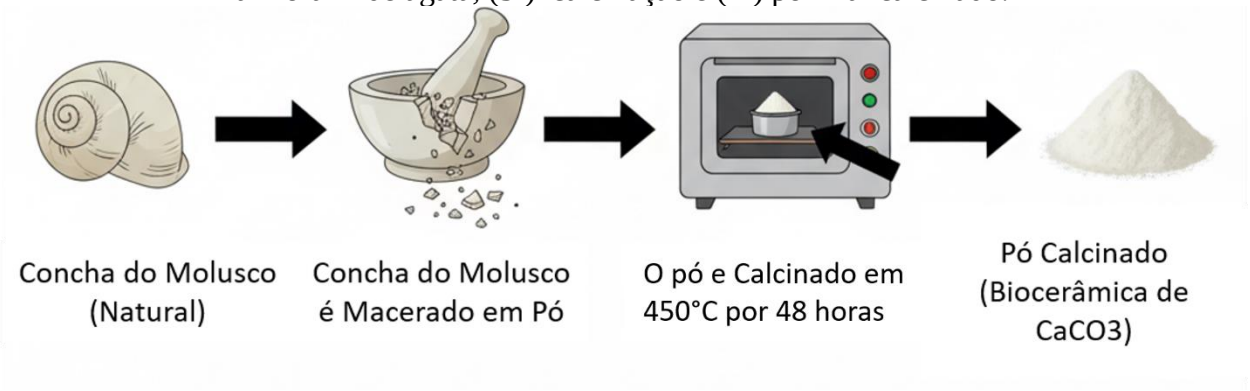
4.1.2 Manejo e Condições Experimentais

Todos os moluscos foram mantidos em condições controladas. Após os períodos experimentais, os moluscos foram submetidos à eutanásia, as conchas foram lavadas em água destilada e armazenadas em dessecador de vidro para análise (Silva et al., 2010; Parveen et al., 2021).

4.2 Preparação das amostras

O procedimento de preparação das amostras compreendeu etapas sucessivas de limpeza, fragmentação, moagem e tratamento térmico, visando à obtenção de um pó homogêneo e adequado às análises estruturais e composicionais. As principais etapas do processo experimental são apresentadas na Figura 11.

Figura 11 – Etapas de preparação das amostras: (1º) conchas intactas, (2º) maceração em almofariz de ágata, (3º) calcinação e (4º) pó final calcinado.



Fonte: Elaborado pelo autor com auxílio de Inteligência Artificial (2026).

Conforme ilustrado na Figura 11, a preparação das amostras foi realizada de forma sequencial, iniciando com a limpeza das conchas, seguida da moagem em almofariz de ágata, do tratamento térmico por calcinação e da obtenção do pó final utilizado nas análises de difração de raios X, espectroscopia no infravermelho, Raman e microscopia eletrônica de varredura. As etapas individuais do procedimento são descritas a seguir.

I. Limpeza e Fragmentação: As conchas foram submetidas a um protocolo de limpeza que incluiu lavagem com água destilada e secagem à temperatura ambiente por 24 horas (Ogresta et al., 2021).
II. Moagem e Peneiramento: As conchas secas foram fragmentadas manualmente e maceradas em almofariz de ágata até a obtenção de um pó homogêneo (Parveen et al., 2021).
III. Tratamento Térmico: As amostras pulverizadas foram calcinadas em forno mufla (450 °C por 48h) para eliminação de matéria orgânica remanescente e estabilização das fases cristalinas, sendo subsequentemente armazenadas em recipientes herméticos (Silva et al., 2010).

4.3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

4.3.1 Difração de Raios X (DRX)

As análises de difração de raios X foram realizadas utilizando um instrumento Bruker-AXS D8 Advance Eco (CETEM/UFRJ), que empregou radiação Cu Kα (λ = 1,5406 Å) com configurações operacionais de 40 kV e 25 mA. Um detector de deriva de silício LynxEye XE com discriminação de energia foi utilizado para a detecção. A coleta de dados ocorreu em uma faixa angular de 5° a 70° (2θ), com um incremento de 0,01° e uma duração de contagem de 92 segundos por passo (Dardo et al., 2024). O uso dessa técnica de análise facilitou a identificação de polimorfos de $CaCO_3$, bem como a determinação dos parâmetros cristalográficos necessários para os cálculos subsequentes do tamanho do cristalito e da microdeformação (Parveen et al., 2021).

4.3.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR foram coletados no espectrômetro Bruker Vertex 70 (CAM-

UFRRJ) em modo de reflectância total atenuada (ATR), com as amostras na forma sólida. Os dados foram coletados na região espectral de 4000 a 400 cm^{-1}, com resolução de 1 cm^{-1} (Ogresta et al., 2021). Essa técnica foi utilizada para a caracterização dos grupos funcionais presentes, a identificação e diferenciação entre os polimorfos de carbonato de cálcio, e a detecção de possíveis alterações na assinatura da matriz orgânica remanescente (Konwar; Baruah, 2017).

4.3.3 Espectroscopia Raman

A análise foi realizada com um laser de 532 nm com potência controlada; os *scans* foram feitos entre 100 e 1200 cm^{-1} (Sarabia; Sharma, 2021). A técnica permitiu distinguir com muita precisão os movimentos de vibração típicos para carbonato de cálcio nas fases calcita e aragonita (Konwar; Baruah, 2017).

4.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Dispersão de Energia (EDS)

A análise morfológica das conchas foi realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) em equipamento de alta resolução. Para as análises por MEV com espectrometria de dispersão de energia (EDS) acoplada, utilizou-se um equipamento FEI Quanta 400, operando em alto vácuo, com tensão de aceleração de elétrons de 20 kV e detector de elétrons retroespalhados. O sistema de EDS utilizado foi um Esprit 2.5 da Bruker (CETEM/UFRJ) (Parveen et al., 2021).

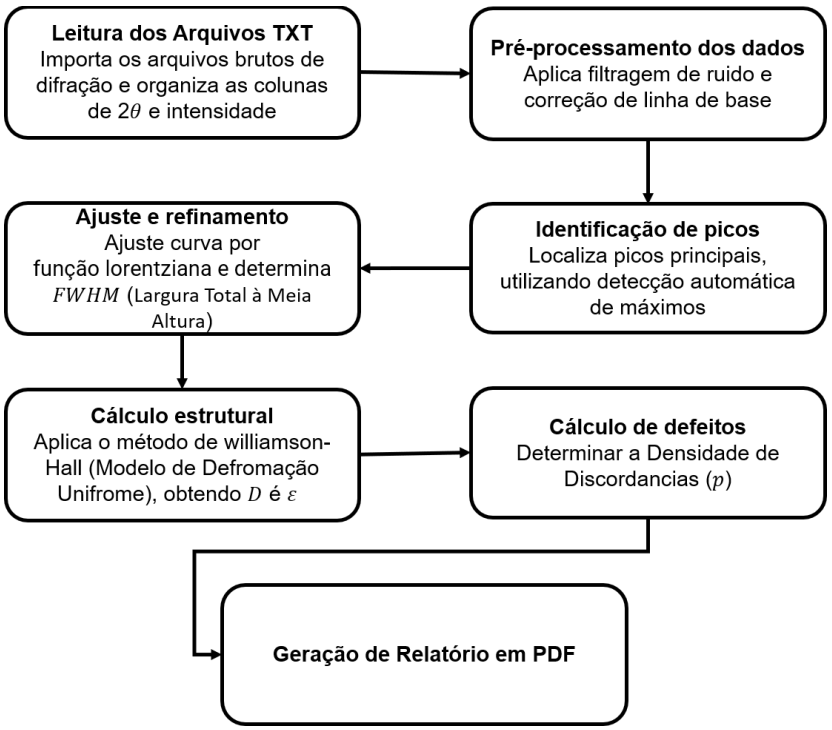
As amostras foram aderidas in natura sobre suporte de alumínio utilizando fita de carbono adesiva dupla face, sendo posteriormente recobertas com prata em metalizador BalTech SCD 050, sob atmosfera de argônio, aplicando-se corrente de 30 mA durante 250 segundos (Silva et al., 2010).

A análise composicional foi realizada por Espectroscopia por Dispersão de Energia (EDS) acoplada ao MEV, permitindo a determinação semiquantitativa da composição elementar e a obtenção de mapas de distribuição dos elementos (Ca, O, C e possíveis traços como Mg e Sr) nas regiões de interesse (Kawano et al., 2015).

4.4 Processamento e análise computacional

A etapa de processamento e análise computacional foi realizada utilizando um pipeline desenvolvido em Python, cuja estrutura é apresentada na Figura 12 (Surdu; Gyorgy, 2023; Rabiej; Rabiej, 2021). O sistema inicia com o pré-processamento dos dados, incluindo a suavização dos picos e a correção da linha de base. Em seguida, é realizada a identificação das fases cristalinas por comparação com um banco de dados interno. Posteriormente, são efetuados os cálculos cristalográficos, incluindo a estimativa do tamanho médio dos cristalitos pelo método de Scherrer e a aplicação do método de Williamson–Hall, permitindo discriminar as contribuições do tamanho dos cristalitos (D) e da microdeformação (ε) (Dardo et al., 2024). O pipeline também contempla uma etapa de estimativa das propriedades mecânicas, na qual a tensão de escoamento teórica é calculada com base na relação de Hall–Petch (Cordero et al., 2016; Li et al., 2016). Por fim, o programa gera automaticamente relatórios em formato PDF contendo tabelas e gráficos consolidados, padronizando e otimizando o processamento dos difratogramas (Holm et al., 2020; Gorynski et al., 2023).

Figura 12 – Fluxograma do pipeline computacional desenvolvido para o processamento dos dados de difração de raios X.



Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

4.5 USO DE FERRAMENTAS DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL GENERATIVA

Em conformidade com a Política de Integridade na Atividade Científica do CNPq (Portaria nº 2.664/2026) e com as orientações do Manual de Trabalhos Finais da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), foram utilizadas ferramentas de Inteligência

Artificial (IA) generativa como apoio técnico e editorial durante o desenvolvimento desta dissertação.

As ferramentas ChatGPT (OpenAI) e Gemini (Google) foram empregadas como suporte à revisão gramatical, ao aprimoramento da organização textual, ao refinamento metodológico e à elaboração de ilustrações esquemáticas e modelos conceituais, sempre sob supervisão e validação do autor.

Todas as decisões científicas, incluindo a concepção da pesquisa, o delineamento experimental, a interpretação e validação dos resultados, a elaboração das conclusões e a redação final deste trabalho permaneceram sob responsabilidade exclusiva do autor.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

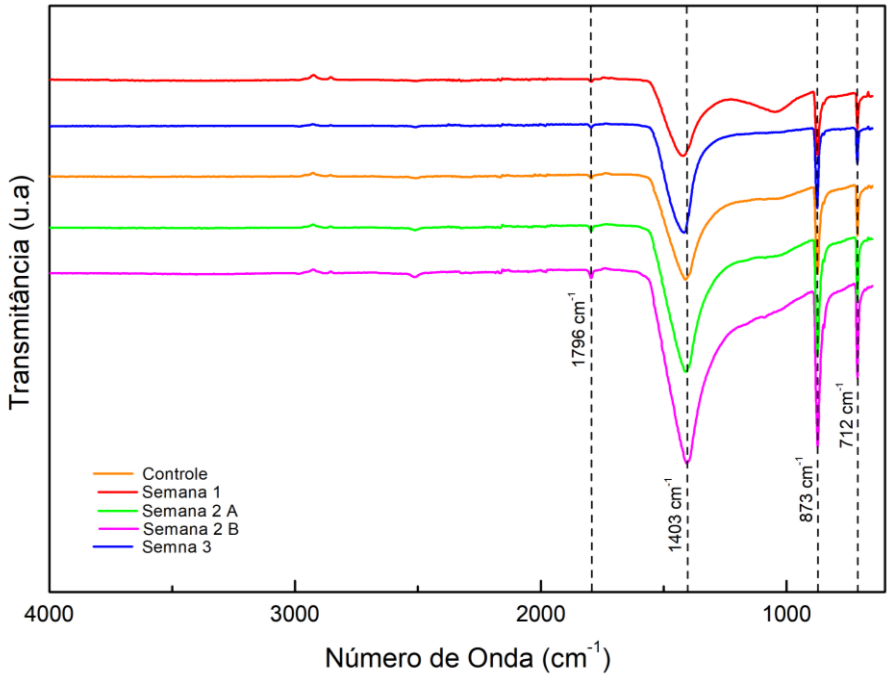
5.1 *Bulimulus tenuissimus* (CALCITA)

Moluscos da espécie Bulimulus tenuissimus apresentam concha formada predominantemente pela fase calcita do carbonato de cálcio ($CaCO_3$) (Parveen et al., 2021; Silva et al., 2010). Os espécimes foram divididos em grupo controle (não infectados) e grupo infectado experimentalmente com larvas L1 de *Angiostrongylus cantonensis*, com coletas realizadas em diferentes tempos pós-infecção (1ª, 2ª e 3ª semanas) para análise cinética das alterações microestruturais (Martins et al., 2019; Bonfim, 2016).

5.1.1 Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR obtidos para as conchas de *Bulimulus tenuissimus* são apresentados na Figura 13. As bandas vibracionais características da calcita foram identificadas, predominantemente associadas aos modos fundamentais do grupo carbonato (CO_3^{2-}) (Konwar; Baruah, 2017; Ogresta et al., 2021).

Figura 13 – Espectros de FTIR em offset da concha de *Bulimulus tenuissimus* nos grupos controle e infectados por *Angiostrongylus cantonensis* ao longo do período experimental 1ª, 2ª e 3ª semanas. As bandas características da calcita estão indicadas, com destaque para as regiões dos modos vibracionais ν_2, ν_3 e ν_4.



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

A comparação entre os grupos experimentais evidencia deslocamentos espectrais progressivos nas bandas da calcita, conforme sintetizado na Tabela 2.

Tabela 2 – Evolução dos modos vibracionais do carbonato obtidos por FTIR em conchas *de Bulimulus tenuissimus* ao longo do tempo de infecção por *Angiostrongylus cantonensis*.

Condição	ν_2 (cm^{-1})	$\Delta\nu_2$	ν_3 (cm^{-1})	$\Delta\nu_3$	ν_4 (cm^{-1})	$\Delta\nu_4$
Controle	875	---	1423	---	712	---
1ª semana	874	-1	1415	-8	712	0
2ª semana A	873	-2	1410	-13	711	-1
2ª semana B	872	-3	1406	-17	711	-1
3ª semana	872	-3	1404	-19	710	-2

Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

A análise dos dados revela um deslocamento progressivo do modo de estiramento assimétrico ν_3, que varia de 1423 cm^{-1} no grupo controle para 1404 cm^{-1} na terceira semana de infecção, totalizando um deslocamento para frequências mais baixas de 19 cm^{-1} para menores números de onda. Esse comportamento indica o desenvolvimento de tensões compressivas na rede cristalina da calcita (Ogresta et al., 2021; Konwar; Baruah, 2017), sugerindo que o parasitismo interfere na energia de ligação dos grupos carbonato devido à provável alteração na disponibilidade de precursores orgânicos durante a biomineralização.

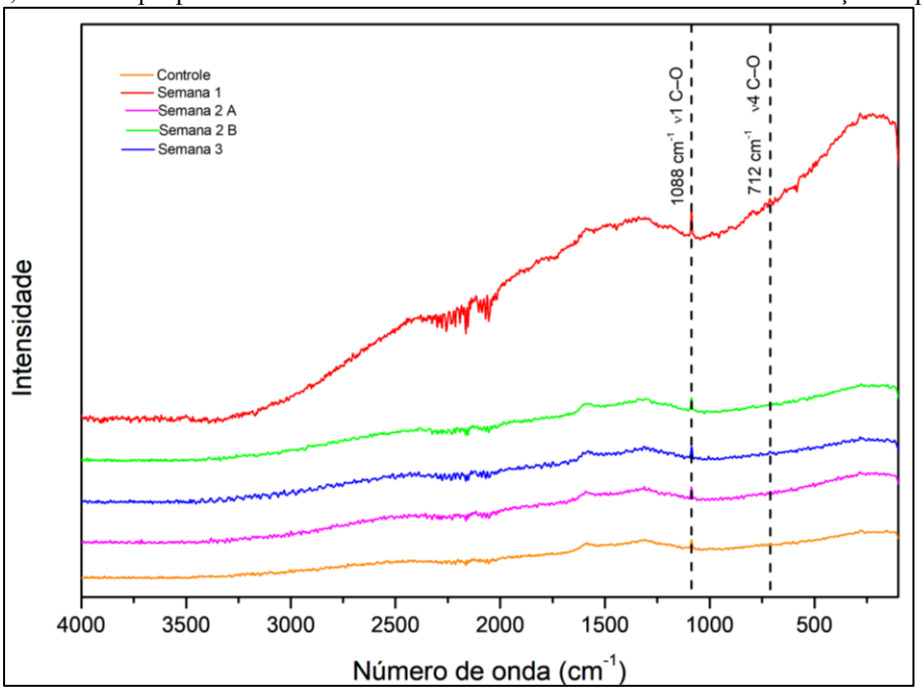
Já a banda correspondente ao modo de deformação fora do plano ν_2, localizada em 875 cm^{-1} no grupo controle, apresenta um deslocamento para 872 cm^{-1} nos indivíduos infectados ($\Delta\nu \approx -3\ cm^{-1}$). Esse deslocamento reforça a presença de tensões internas e indica uma modificação no ambiente cristalino local induzida pelo estresse parasitário. Tais alterações vibracionais são os primeiros indícios de que a integridade estrutural da concha está sendo comprometida em nível atômico antes mesmo das falhas macroscópicas (Sarabia; Sharma, 2021).

5.1.2 Caracterização por Espectroscopia Raman

Os espectros Raman obtidos para as conchas de *Bulimulus tenuissimus* são

apresentados na Figura 14, nos quais se evidenciam as bandas vibracionais características da fase calcita. A análise permitiu identificar os principais modos vibracionais, sintetizados na Tabela 3, bem como suas variações ao longo do período experimental (Konwar; Baruah, 2017; Sarabia; Sharma, 2021).

Figura 14 – Espectros Raman consolidados da concha de *Bulimulus tenuissimus* nos grupos controle e infectados com *Angiostrongylus cantonensis* ao longo do período experimental. As bandas características da calcita estão indicadas, com destaque para o modo de estiramento simétrico ν_1 e o modo de deformação no plano ν_4.



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

Tabela 3 – Evolução dos principais modos vibracionais obtidos por espectroscopia Raman em conchas de *Bulimulus tenuissimus* ao longo do tempo de infecção com *Angiostrongylus cantonensis*.

Condição	ν_1 (cm^{-1})	ν_4 (cm^{-1})	v3 (cm^{-1})	Observações
Controle	1086,14	706,23	1593,34	Estrutura estável
1ª semana	1086,4	712,02	1591,41	Pequena variação no ν_4
2ª semana A	1086,14	710,09	1591,41	Oscilação do ν_4
2ª semana B	1086,14	712,02	1589,48	Tendência de queda na banda orgânica

Condição	ν_1 (cm^{-1})	ν_4 (cm^{-1})	ν_3 (cm^{-1})	Observações
3ªsemana	1086,14	712,02	1587,55	Manutenção das alterações

Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

Os resultados mostram que o modo de estiramento simétrico ν_1 se manteve praticamente constante em aproximadamente $1086{,}14\ cm^{-1}$ ao longo de todo o experimento. Esta estabilidade é fundamental, pois indica a preservação da estrutura cristalina básica da calcita e a ausência de transformações de fase polimórfica no carbonato de cálcio induzidas pelo parasitismo (Konwar; Baruah, 2017).

Em contrapartida, o modo de deformação no plano ν_4 apresentou variações significativas, se deslocando de $706{,}23\ cm^{-1}$ no grupo controle para a faixa entre $710\ e\ 712\ cm^{-1}$ nos grupos infectados. Esse comportamento sugere alterações agudas no ambiente cristalino local e na simetria da rede, possivelmente relacionadas ao acúmulo de tensões internas e desordem estrutural nas interfaces entre a fase mineral e a matriz orgânica (Sarabia; Sharma, 2021).

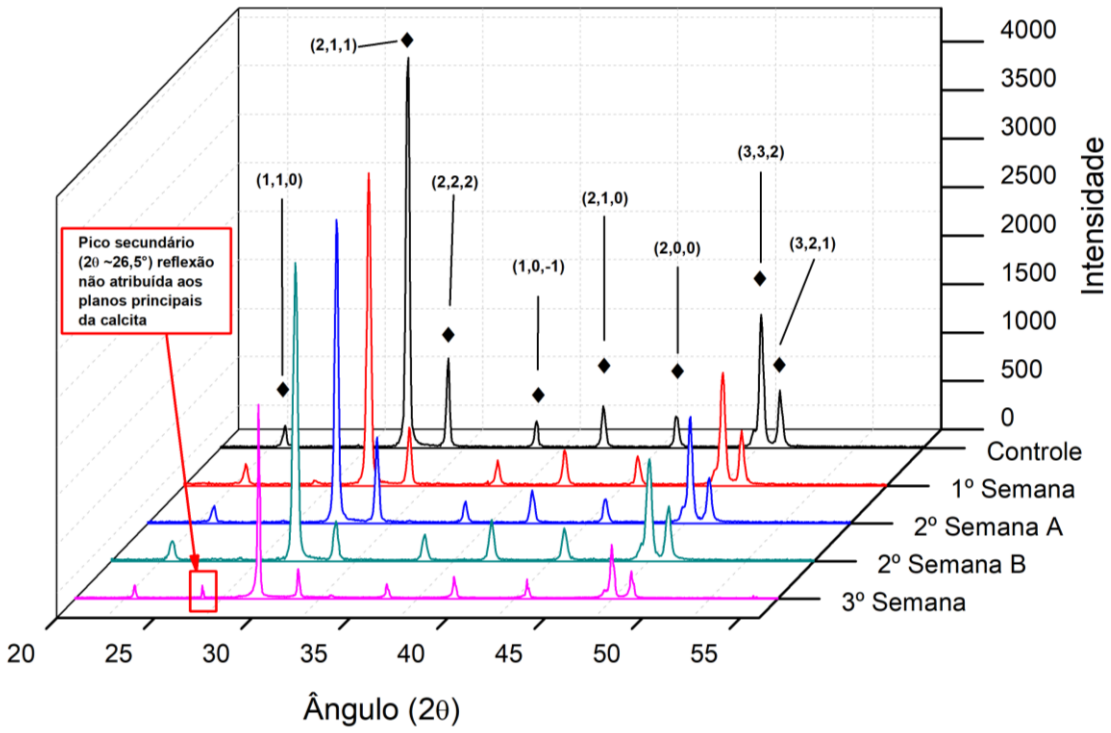
Adicionalmente, foram observadas bandas na região de alta frequência ($\sim 1587 - 1593\ cm^{-1}$), atribuídas à presença de constituintes orgânicos da biomatriz, uma vez que essa região não é característica da calcita pura (Marin et al., 2008; Nudelman, 2015). Ao longo do período experimental, estas bandas apresentaram um deslocamento progressivo para menores números de onda, acompanhado por uma tendência de queda na intensidade. Este fenômeno reflete a degradação química ou a desorganização dos componentes orgânicos em resposta ao processo infeccioso, corroborando a hipótese de que o redirecionamento energético do hospedeiro compromete a integridade da matriz proteica que sustenta o biomineral (Bonfim, 2016).

5.1.3 Caracterização por Difração de Raios X (DRX) e Parâmetros Microestruturais

Os perfis de difração de raios X das conchas de Bulimulus tenuissimus são apresentados na Figura 15, e a relação de seus picos característicos é apresentada na Tabela 4, evidenciando a fase cristalina predominante (Dardo et al., 2024; Parveen et al., 2021). Destaca-se ainda, exclusivamente na amostra correspondente à 3ª semana de infecção, a presença de

uma reflexão secundária de baixa intensidade em aproximadamente 2θ = 26,5°, não atribuída aos principais planos cristalográficos da calcita, a qual foi destacada na Figura 15 por representar uma alteração observada apenas nessa condição experimental.

Figura 15– Difratogramas de raios X (DRX) em perspectiva tridimensional das conchas de *Bulimulus tenuissimus* nos grupos Controle e infectados por *Angiostrongylus cantonensis* ao longo do período experimental. Os índices cristalográficos (hkl) correspondem às principais reflexões da fase calcita. A seta vermelha indica uma reflexão secundária em aproximadamente 2θ = 26,5°, observada exclusivamente na amostra da 3ª semana.



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

Conforme apresentado na Tabela 4, as principais reflexões cristalográficas identificadas nos difratogramas correspondem à fase calcita, sendo indexadas aos respectivos ângulos de difração (2θ) e planos cristalográficos (hkl), confirmando a manutenção da fase mineral predominante em todos os grupos experimentais. Destacado ainda, na amostra correspondente à 3ª semana de infecção, a presença de uma reflexão secundária em aproximadamente 2θ = 26,5°, indicada na Figura 15, a qual não foi atribuída aos principais planos cristalográficos da calcita.

Tabela 4 – Principais reflexões cristalográficas identificadas por difração de raios X (DRX) em conchas de *Bulimulus tenuissimus*.

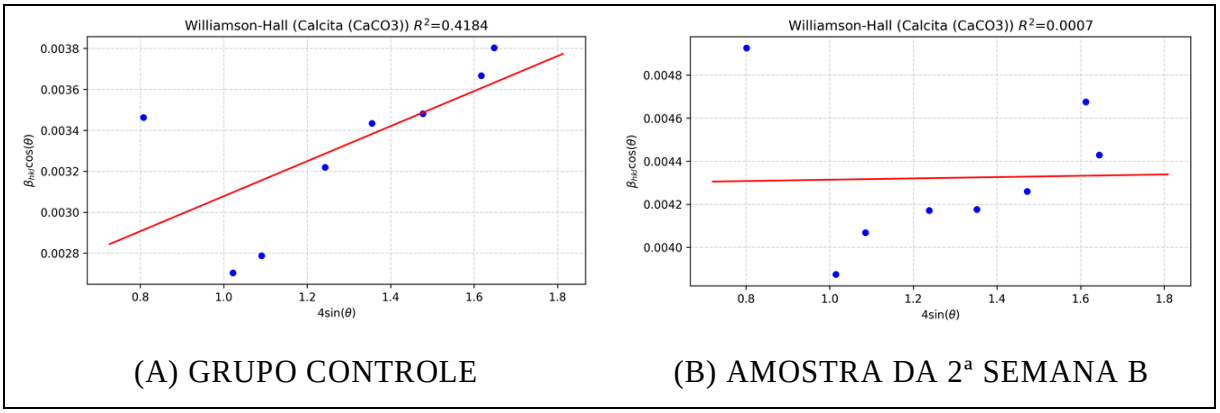
2θ (°)	**Plano (hkl)**	**Intensidade Relativa**
23,1	(012)	Média

2θ (°)	Plano (hkl)	Intensidade Relativa
29,4	(104)	Máxima
36,0	(110)	Forte
39,4	(113)	Média
43,1	(202)	Média
47,5	(018)	Fraca
48,5	(116)	Média

Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

Para quantificar as alterações microestruturais, foi utilizado um código desenvolvido em Python baseado no método de Williamson–Hall. A Figura 16 apresenta os gráficos obtidos para o grupo controle e para a amostra da 2ª semana B, representando as condições de maior contraste microestrutural. (Dardo et al., 2024).

Figura 16 – Gráficos de Williamson–Hall para *Bulimulus tenuissimus*: (A) grupo controle, mostrando comportamento típico da calcita não estressada; (B) amostra da 2ª semana B de infecção com *Angiostrongylus cantonensis*, representativa do estágio de colapso estrutural, evidenciando a acentuada redução da inclinação da reta (microdeformação) e a alteração no tamanho de cristalito.



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

Os parâmetros microestruturais obtidos a partir dos ajustes lineares para todas as condições experimentais são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Parâmetros microestruturais obtidos pela análise de Williamson–Hall dos difratogramas de raios X das conchas de *Bulimulus tenuissimus* sob diferentes condições experimentais ao longo do período de infecção com *Angiostrongylus cantonensis*.

Condição	Tamanho de Cristalito D (nm)	Microdeformação ε (%)	Densidade de Discordâncias ρ (10^{14} m^{-2})	Tensão de Escoamento σ_γ (MPa)	R^2 do ajuste
Controle	61,94	0,0855	0,952	179,0	0,417
1ª semana	40,98	0,037	0,623	154,3	0,083
2ª semana A	41,00	0,030	0,511	144,5	0,036
2ª semana B	32,37	0,0030	0,065	83,8	0,001
3ª semana	124,35	0,1382	0,771	166,0	0,700

Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

A avaliação da Tabela 5 revela um processo de deterioração estrutural que pode ser categorizado em três fases diferentes. É fundamental ressaltar que os baixos valores dos coeficientes de determinação (R^2), especialmente na segunda semana B ($R^2 \approx 0{,}001$), não refletem um erro metodológico, mas sim a considerável heterogeneidade do material biogênico. A desorganização das camadas cristalinas provocada pelo parasito eleva a variação dos dados, evidenciando um estado elevado de desordem estrutural do biomineral quando sob estresse (Cordero et al., 2016; Li et al., 2016).

- Durante a fase inicial (1ª semana), há uma diminuição acentuada no tamanho do cristalito ($D = 40{,}98\,nm$; $cerca\ de\ -34\%$), acompanhada por uma redução na microdeformação ($\epsilon = 0{,}037\%$). Este padrão aponta para uma intervenção antecipada nos mecanismos de nucleação e crescimento cristalino.
- Na fase de máxima deterioração (2ª semana B), o tamanho médio de cristalito atingiu o menor valor registrado (D = 32,37 nm), acompanhado por uma microdeformação praticamente nula (ε = 0,0030%). Esse comportamento indica que o material perdeu a capacidade de acumular tensões internas, resultando em maior fragilidade mecânica ($\sigma_y = 83{,}8MPa$).
- Na terceira semana, ocorre um aumento significativo no tamanho dos cristalitos ($D = 124{,}35nm$; $+101\%$), o que sinaliza um processo de biomineralização desregulado. A

recuperação parcial da microdeformação ($\varepsilon = 0{,}1382\%$) sugere que, na ausência de um controle biológico adequado, o $CaCO_3$ começa a se formar de maneira caótica, produzindo cristais maiores, mas com uma estrutura menos consistente (Parveen et al., 2021; Dardo et al., 2024).

5.1.4 Caracterização por Espectroscopia de Dispersão de Energia (EDS)

A composição química superficial das conchas foi avaliada por EDS, permitindo investigar as variações no teor de cálcio e sua correlação direta com a degradação das propriedades estruturais (Kawano et al., 2015). A Tabela 6 apresenta os valores de composição elementar e as relações estequiométricas obtidas.

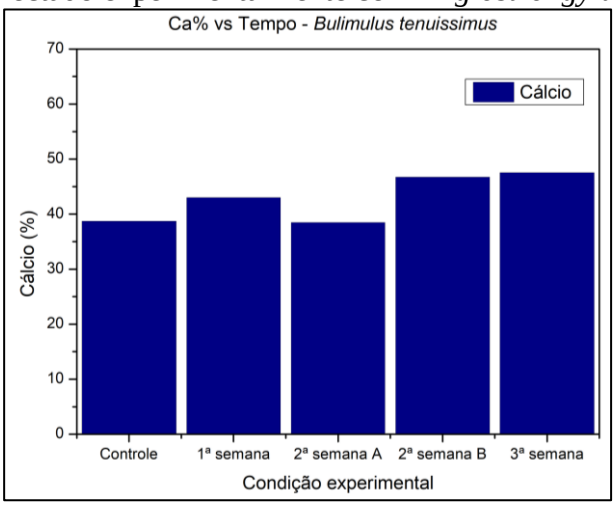
Tabela 6 – Composição química elementar e relações estequiométricas obtidas por EDS em conchas de *Bulimulus tenuissimus* ao longo do tempo de infecção com *Angiostrongylus cantonensis* .

Condição	Oxigênio (O) %	Cálcio (Ca) %	Relação O/Ca	Relação atômica Ca/(Ca+O)
Controle	61,27	38,73	1,58	0,202
1ª semana	56,98	43,02	1,32	0,232
2ª semana A	61,52	38,48	1,60	0,200
2ª semana B	53,24	46,76	1,14	0,260
3ª semana	52,43	47,57	1,10	0,266

Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

A razão atômica $Ca/(Ca + O)$ esperada para o carbonato de cálcio estequiométrico ($CaCO_3$) é de aproximadamente 0,20. Os dados revelam uma tendência de aumento progressivo desta razão, partindo de 0,202 no grupo controle até atingir 0,266 na terceira semana. Este enriquecimento relativo em cálcio na superfície sugere uma perda acentuada da matriz orgânica nas fases avançadas da infecção (Marin et al., 2008; Nudelman, 2015), uma vez que a redução dos componentes carbonados e proteicos da biomatriz eleva a proporção detectável do elemento mineral. A evolução da concentração superficial de cálcio ao longo do período experimental é apresentada na Figura 17.

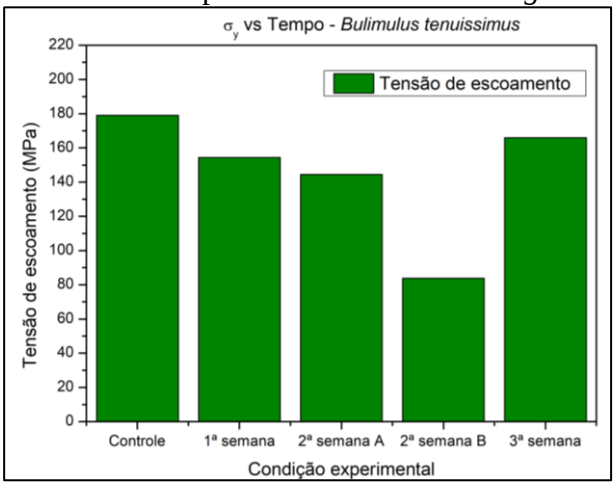
Figura 17 – Composição de cálcio (Ca%) vs. tempo pós-infecção em conchas de *Bulimulus tenuissimus* infectado experimentalmente com *Angiostrongylus cantonensis*.



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

A Figura 17 mostra o aumento progressivo do teor de cálcio na superfície das conchas a partir da segunda semana de infecção, atingindo os maiores valores na 2ª semana B (46,76%) e na 3ª semana (47,57%). Esse aumento em cálcio sugere a desagregação da matriz orgânica nas etapas mais tardias da infecção (Marin et al., 2008; Nudelman, 2015). Em razão dessas alterações microestruturais, a Figura 18 apresenta a evolução da tensão de escoamento estimada (σ_γ), calculada pelo modelo de Hall–Petch, permitindo correlacionar o enriquecimento superficial em cálcio com o comportamento mecânico da concha.

Figura 18 – Tensão de escoamento estimada (σ_γ) vs. tempo pós-infecção em conchas de *Bulimulus tenuissimus* infectado experimentalmente com *Angiostrongylus cantonensis*.

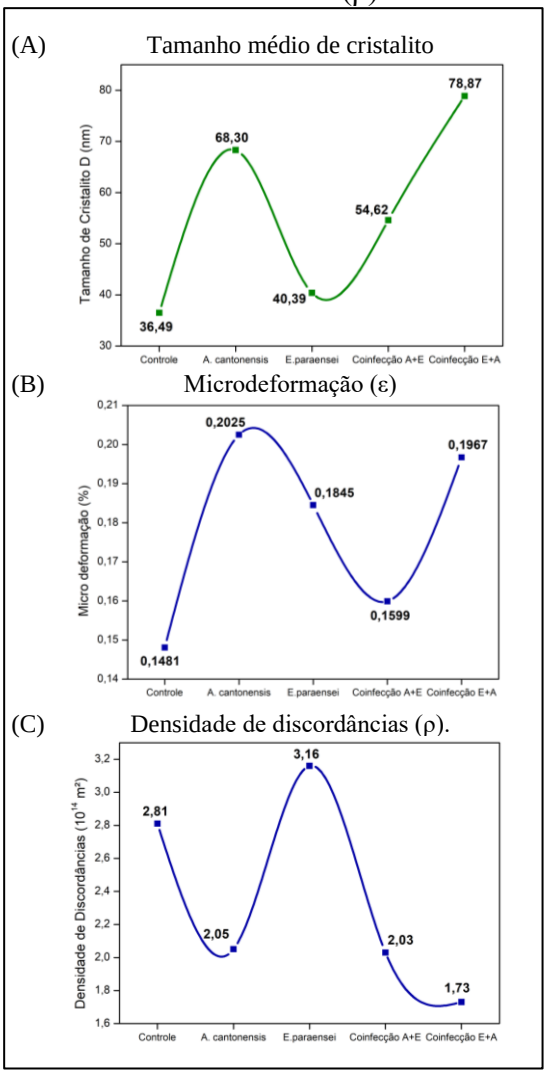


Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

A tensão de escoamento estimada, calculada pelo modelo de Hall–Petch, apresenta redução progressiva até a segunda semana de infecção, atingindo o valor mínimo de 83,8 MPa

na amostra da 2ª semana B, o que representa uma diminuição de aproximadamente 53% em relação ao grupo controle (179,0 MPa). Na terceira semana, ocorre recuperação parcial para 166,0 MPa, valor ainda inferior ao do grupo controle (Cordero et al., 2016; Kato, 2014). A evolução conjunta dos parâmetros microestruturais responsáveis por esse comportamento mecânico é apresentada na Figura 19.

Figura 19 – Evolução dos parâmetros microestruturais obtidos pelo método de Williamson–Hall em conchas de Bulimulus tenuissimus infectadas experimentalmente por Angiostrongylus cantonensis: (A) tamanho médio de cristalito (D); (B) microdeformação (ε); e (C) densidade de discordâncias (ρ).



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

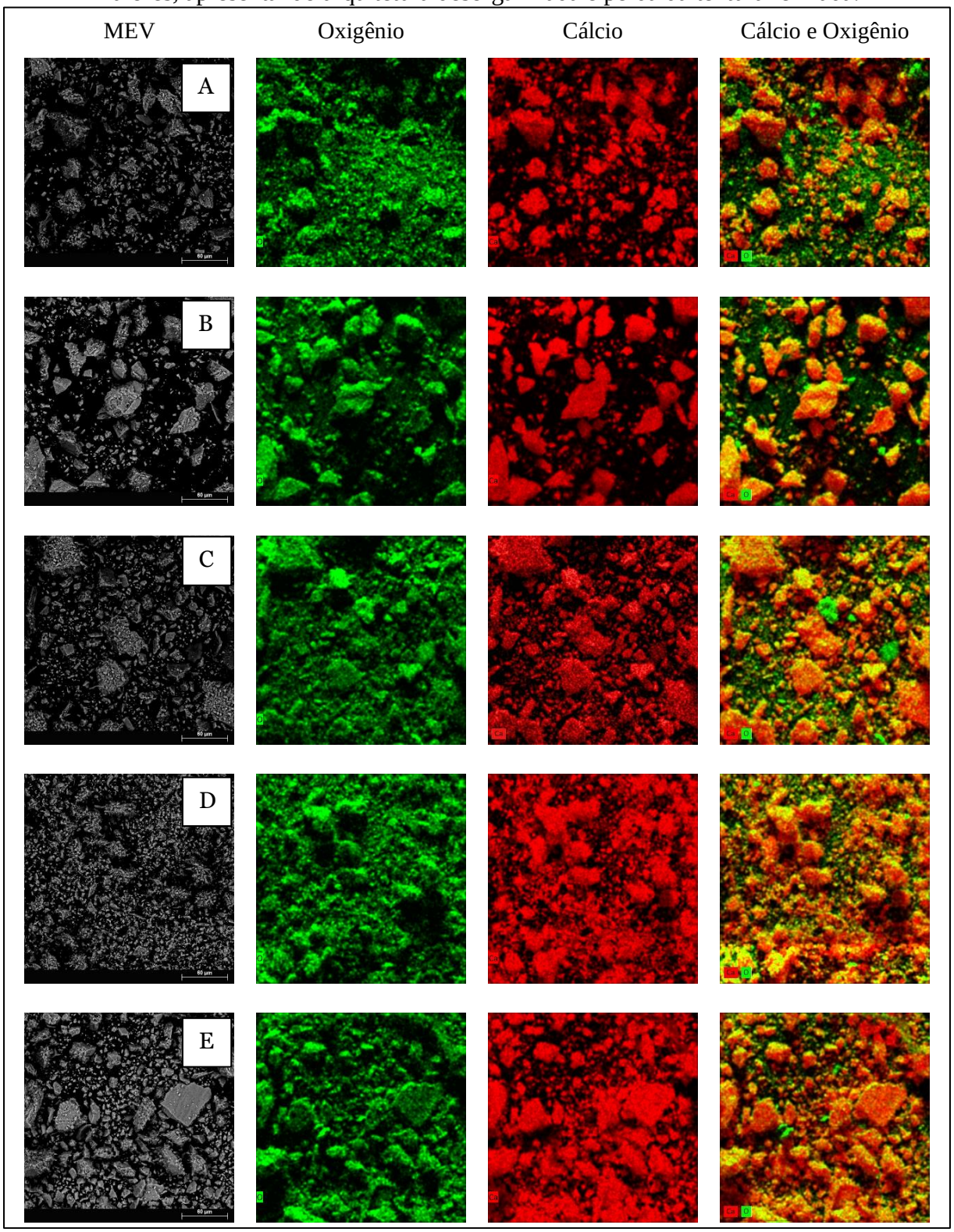
A Figura 19 apresenta a evolução dos principais parâmetros microestruturais obtidos pelo método de Williamson–Hall, incluindo o tamanho médio de cristalito (D), a microdeformação (ε) e a densidade de discordâncias (ρ). O colapso estrutural na 2ª semana B representa o estágio mais crítico da série temporal, caracterizado pelos menores valores simultâneos de tamanho de cristalito (D = 32,37 nm), microdeformação (ε = 0,0030%) e

densidade de discordâncias ($\rho = 0{,}065 \times 10^{14}$ m^{-2}). Na 3ª semana, ocorre a reversão desse comportamento, com crescimento do tamanho médio de cristalito para 124,35 nm (+101% em relação ao grupo controle), evidenciando a falência dos mecanismos biológicos responsáveis pelo controle da biomineralização. Nessa condição, o hospedeiro perde a capacidade de secretar uma matriz orgânica organizada, favorecendo uma precipitação de carbonato de cálcio predominantemente controlada por fatores cinéticos, resultando na formação de cristalitos maiores, porém estruturalmente menos organizados (Dardo et al., 2024; Parveen et al., 2021).

5.1.5 Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises morfológicas por MEV revelaram alterações progressivas na organização estrutural das conchas ao longo do período de infecção, funcionando como uma evidência visual direta dos fenômenos microestruturais quantificados anteriormente (Parveen et al., 2021; Silva et al., 2010). As imagens obtidas por MEV, apresentadas na Figura 20, evidenciam a evolução da degradação biomineral.

Figura 20 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das conchas de *Bulimulus tenuissimus* (A) Controle: superfície regular e organização cristalina bem definida; (B) Infectado experimentalmente com *Angiostrongylus cantonensis*. 1ª semana: início da desorganização superficial e sutil aumento da rugosidade; (C) 2ª semana A: manutenção da desorganização com aumento da porosidade; (D) 2ª semana B: estágio de colapso estrutural, com acentuada perda da orientação preferencial e fragmentação dos domínios; (E) 3ª semana: crescimento de cristais maiores, apresentando arquitetura desorganizada e perda da textura refinada.



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

No grupo controle, é possível observar superfícies regulares e organização cristalina bem definida, com cristalitos de tamanho homogêneo e orientação preferencial característica da calcita (Parveen et al., 2021). Na primeira semana de infecção, é possível notar o início da desorganização superficial e aumento da rugosidade. Na segunda semana, ocorre acentuada desorganização estrutural, com perda da orientação preferencial e aumento da porosidade superficial. Na terceira semana, há uma recuperação parcial com crescimento de cristais maiores, porém com arquitetura desorganizada e perda da textura superficial refinada (Silva et al., 2010).

5.1.6 Efeitos do parasitismo por *Angiostrongylus cantonensis* na microestrutura da concha de *Bulimulus tenuissimus*

A combinação dos resultados indica que a deterioração da concha ocorre em diferentes fases, acompanhando a progressão da infecção parasitária (Bonfim, 2016; Lafferty; Kuris, 2009).

Durante a fase inicial da infecção (1ª e 2ª semanas), inicia o comprometimento da organização microestrutural da concha, com redução do tamanho médio dos cristalitos de 61,94 para 40,98 nm, acompanhada pela diminuição da resistência mecânica de 179,0 para 154,3 MPa. Esses resultados indicam que o parasita interfere precocemente nos processos de nucleação e crescimento cristalino. As análises por FTIR corroboram essa interpretação ao evidenciarem alterações na interação entre a fase mineral e a matriz orgânica (Ogresta et al., 2021; Konwar; Baruah, 2017).

Na 2ª semana B, a concha atinge o estágio de maior deterioração estrutural. O tamanho médio dos cristalitos é reduzido para 32,37 nm, enquanto a tensão de escoamento diminui para 83,8 MPa. As imagens obtidas por MEV confirmam esse comportamento, evidenciando intensa desorganização estrutural, aumento da porosidade e perda da orientação preferencial dos cristalitos (Parveen et al., 2021; Silva et al., 2010).

Na terceira semana, ocorre uma mudança no comportamento microestrutural. O tamanho médio dos cristalitos aumenta para 124,35 nm; entretanto, esse crescimento não representa uma recuperação da arquitetura original da concha. As imagens de MEV indicam que os cristalitos se desenvolvem de forma desordenada, refletindo a perda do controle biológico sobre a biomineralização. Embora a tensão de escoamento aumente para 166,0 MPa, a organização estrutural permanece inferior à observada no grupo controle (Dardo et al., 2024;

Parveen et al., 2021).

O aumento da razão atômica Ca/(Ca+O), de 0,202 para 0,266, reforça a perda progressiva da matriz orgânica. Como consequência, a concha deixa de apresentar uma arquitetura biomineral organizada e passa a apresentar uma organização mineral mais heterogênea, caracterizada pelo crescimento desordenado dos cristalitos e pela redução da integridade mecânica (Marin et al., 2008; Nudelman, 2015).

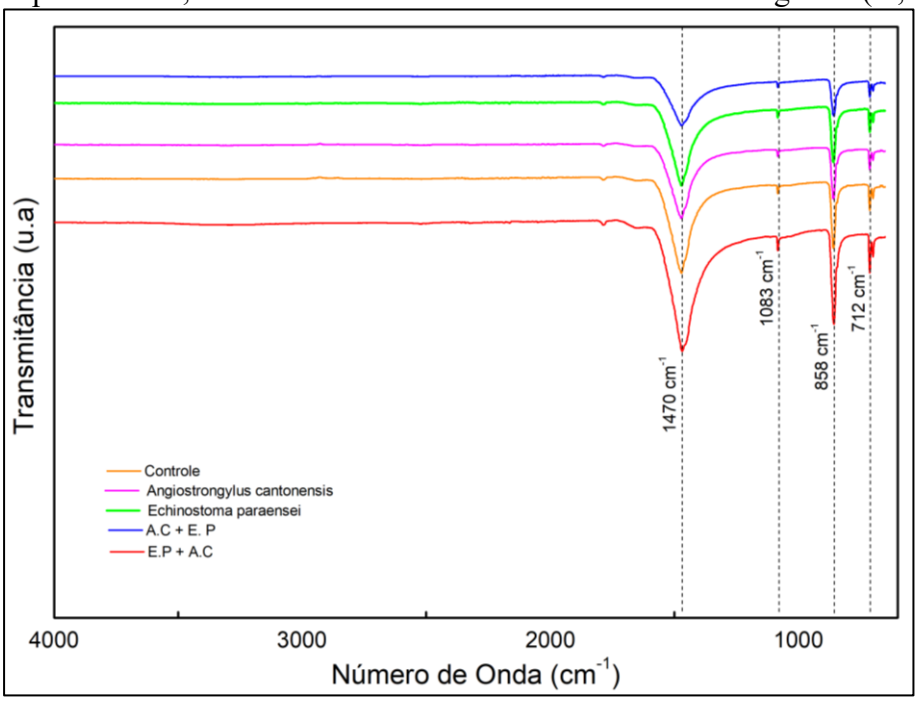
5.2 *Biomphalaria glabrata* (ARAGONITA)

A espécie *Biomphalaria glabrata* apresenta concha formada predominantemente pelo polimorfo aragonita do carbonato de cálcio ($CaCO_3$) (Parveen et al., 2021). Para avaliar os efeitos das infecções simples e das coinfecções sobre a biomineralização da concha, foram estabelecidos cinco grupos experimentais: Controle (não infectado), infectado por *Angiostrongylus cantonensis*, infectado por *Echinostoma paraensei*, coinfecção *Angiostrongylus cantonensis* + *E. paraensei* e coinfecção *E. paraensei* + *Angiostrongylus cantonensis* (Bonfim, 2016; Mendes et al., 2020).

5.2.1 Caracterização por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR obtidos para as conchas de Biomphalaria glabrata são apresentados na Figura 21. As bandas vibracionais características da aragonita foram identificadas, incluindo o desdobramento do modo ν_4 em duas componentes (~700 e ~713 cm^{-1}), característica que permite distinguir esse polimorfo da calcita (Konwar; Baruah, 2017; Ogresta et al., 2021).

Figura 21 – Espectros de FTIR das conchas de *Biomphalaria glabrata* obtidos para os diferentes grupos experimentais, evidenciando as bandas características da aragonita (ν_2, ν_3 e ν_4).



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

Os deslocamentos espectrais observados nos principais modos vibracionais identificados nos espectros de FTIR estão apresentados na Tabela 7, permitindo comparar as variações das bandas ν_2, ν_3 e ν_4 entre os diferentes grupos experimentais.

Tabela 7 – Deslocamentos dos modos vibracionais ν_2, ν_3 e ν_4 do carbonato de cálcio identificados por FTIR nas conchas de *Biomphalaria glabrata* sob diferentes condições de infecção parasitária.

Condição	**ν_2 (cm^{-1})**	**$\Delta\nu_2$**	**ν_3 (cm^{-1})**	**$\Delta\nu_3$**	**ν_4 (cm^{-1})**	**$\Delta\nu_4$**
Controle	857	---	1475	---	700/713	---
Angiostrongylus cantonensis	859	+2	1474	-1	700/713	0
E. paraensei	860	+3	1473	-2	700/713	0
Coinfecção *Angiostrongylus cantonensis* + *E. paraensei*	860	+3	1472	-3	699/712	-1/-1

Condição	ν_2 (cm^{-1})	$\Delta\nu_2$	ν_3 (cm^{-1})	$\Delta\nu_3$	ν_4 (cm^{-1})	$\Delta\nu_4$
Coinfecção *E. paraensei* + *Angiostrongylus cantonensis*	861	+4	1472	-3	699/712	-1/-1

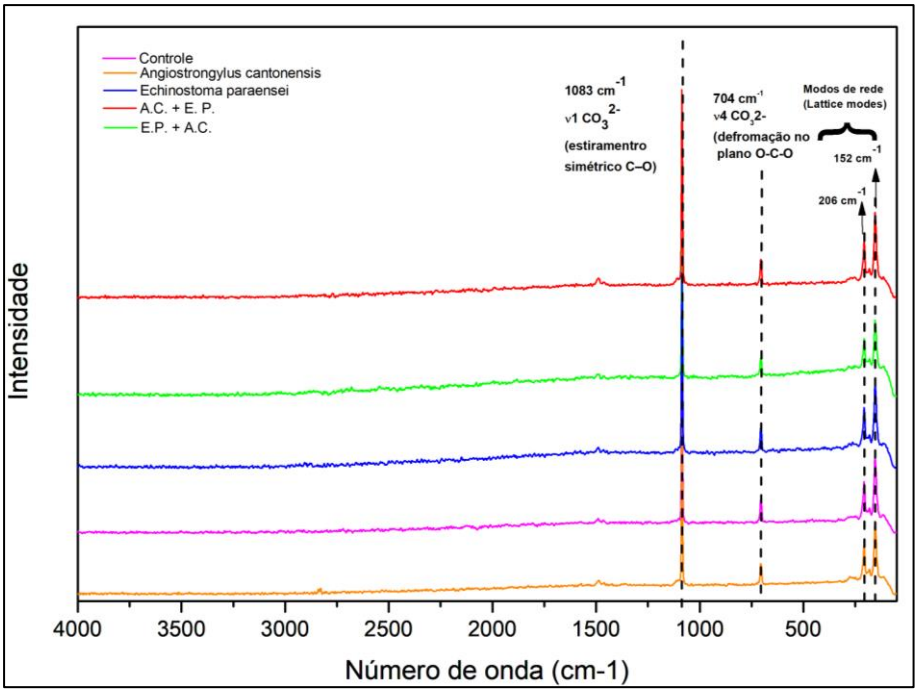
Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

Nos indivíduos afetados pela infecção, há um deslocamento gradual da banda correspondente ao modo de deformação fora do plano ν_2, variando de 857 cm^{-1} no grupo controle até 861 cm^{-1} nas condições de coinfecção ($\Delta\nu \approx +4$ cm^{-1}). Tal deslocamento para maiores números de onda é especialmente relevante, visto que o modo ν_2 é amplamente conhecido por sua sensibilidade ao ambiente local do íon CO_3^{2-} e à presença de defeitos na estrutura cristalina. Ao contrário do identificado na calcita, cujos deslocamentos foram predominantemente negativos, o deslocamento positivo observado na aragonita sugere alterações nas energias de ligação da rede cristalina, indicando que a presença de múltiplos parasitos intensifica as distorções estruturais do biomineral (Ogresta et al., 2021; Konwar; Baruah, 2017). Adicionalmente, o pequeno deslocamento do modo ν_3 (estiramento assimétrico) para menores números de onda reforça a hipótese de que a estabilidade da aragonita é afetada precocemente pelas alterações metabólicas do hospedeiro durante a coinfecção.

5.2.2 Caracterização por espectroscopia Raman

Os espectros Raman obtidos para as conchas de *Biomphalaria glabrata* são apresentados na Figura 22. As variações observadas nos principais modos vibracionais estão sintetizadas na Tabela 8 (Sarabia; Sharma, 2021; Konwar; Baruah, 2017).

Figura 22 – Espectros Raman das conchas de *Biomphalaria glabrata* nos grupos controle, infectado por *Angiostrongylus cantonensis*, infectado por *Echinostoma paraensei* e coinfectados. As bandas características da aragonita estão destacadas, com ênfase no modo de estiramento simétrico ν_1.



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

As variações observadas no modo de estiramento simétrico ν_1 e nos modos de rede obtidos por espectroscopia Raman estão apresentadas na Tabela 8, permitindo comparar os deslocamentos espectrais entre as diferentes condições experimentais.

Tabela 8 – Variação do modo de estiramento simétrico (ν_1) e dos modos de rede obtidos por espectroscopia Raman em conchas de *Biomphalaria glabrata* sob diferentes condições de infecção parasitária

Condição	**ν_1 (cm^{-1})**	**$\Delta\nu_1$**	**Modos de rede (cm^{-1})**	**Observações**
Controle	1083	---	152, 190, 206	Modos de rede característicos
Angiostrongylus cantonensis	1089	+6	152, 190, 205	Deslocamento moderado do ν_1
Echinostoma paraensei	1092	+9	151, 189, 204	Deslocamento pronunciado
Coinfecção A+E	1095	+12	151, 188, 203	Forte deslocamento

Condição	ν_1 (cm^{-1})	$\Delta\nu_1$	Modos de rede (cm^{-1})	Observações
Coinfecção E+A	1096	+13	150, 188, 203	Máximo deslocamento observado

Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

As alterações mais expressivas foram observadas no modo de estiramento simétrico ν_1 do grupo carbonato, localizado em 1083 cm^{-1} no grupo controle. Nos indivíduos infectados, esse modo apresentou deslocamento superior a 13 cm^{-1}, atingindo 1096 cm^{-1} nas condições de coinfecção (Sarabia; Sharma, 2021).

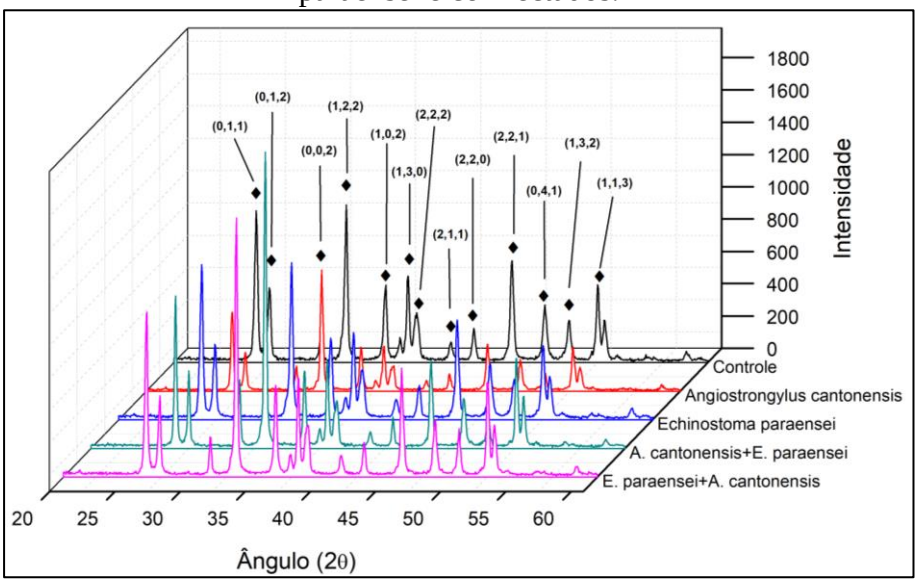
Esse deslocamento acentuado indica elevada sensibilidade estrutural da aragonita ao estresse fisiológico provocado pelo parasitismo. Diferentemente da calcita, a aragonita apresenta menor estabilidade estrutural, tornando mais suscetível à ocorrência de microdeformações na rede cristalina mesmo sob perturbações moderadas. O fato de o maior deslocamento ocorrer nos grupos de coinfecção reforça que o acúmulo de parasitos potencializa a desorganização atômica do biomineral (Parveen et al., 2021; Kawano et al., 2015).

Também foram detectadas variações nos modos de rede de baixa frequência, especialmente na região entre $200\ e\ 210\ cm^{-1}$. Essas mudanças sugerem modificações na organização estrutural de longo alcance da concha, indicando que os efeitos do parasitismo não se restringem ao ambiente local dos grupos carbonato, mas também afetam a organização estrutural de longo alcance da matriz biomineralizada.

5.2.3 Caracterização por Difração de Raios X (DRX) e Parâmetros Microestruturais

Os difratogramas de raios X obtidos para as conchas de *Biomphalaria glabrata* são apresentados na Figura 23 (Dardo et al., 2024; Parveen et al., 2021).

Figura 23 – Difratogramas de raios X (DRX) das conchas de Biomphalaria glabrata obtidos para os grupos controle, infectado por Angiostrongylus cantonensis, infectado por Echinostoma paraensei e coinfectados.



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

Os difratogramas de raios X das conchas de *Biomphalaria glabrata* confirmam a aragonita como fase cristalina predominante. A Tabela 9 apresenta as principais reflexões cristalográficas identificadas, utilizadas como base para o cálculo dos parâmetros microestruturais.

Tabela 9 – Principais reflexões cristalográficas identificadas por difração de raios X (DRX) em conchas de *Biomphalaria glabrata*, com respectivos ângulos de difração (2θ) e planos cristalográficos (hkl)

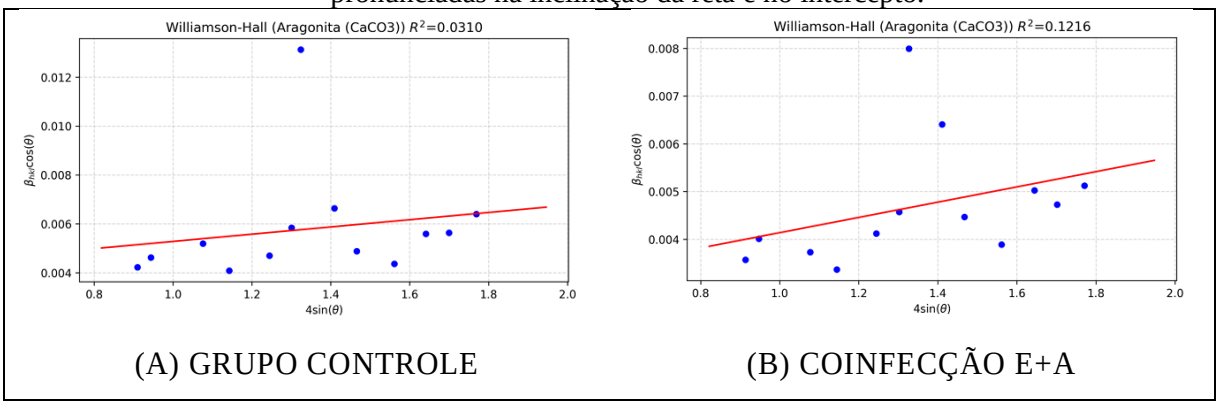
2θ (°)	**Plano (hkl)**	**Intensidade Relativa**
26,2	(111)	Forte
27,1	(021)	Forte
33,2	(012)	Média
36,0	(200)	Média
37,9	(112)	Média
38,6	(130)	Fraca

2θ (°)	Plano (hkl)	Intensidade Relativa
42,9	(221)	Média
45,9	(132)	Fraca

Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

Para quantificar as alterações na estrutura interna do biomineral, foi aplicado o método de Williamson–Hall por meio de um pipeline automatizado. A Figura 24 ilustra os ajustes lineares obtidos para o grupo controle e para o cenário de maior impacto estrutural, correspondente à coinfecção *E+A*, permitindo visualizar as alterações na inclinação das retas, diretamente relacionadas à microdeformação da rede cristalina (Dardo et al., 2024).

Figura 24 – Gráficos de Williamson–Hall para *Biomphalaria glabrata*: (A) grupo controle, mostrando comportamento típico da aragonita não estressada; (B) coinfecção *Angiostrongylus cantonensis* + *Echinostoma paraensei* (*E+A*), representativa do cenário de maior degradação estrutural, com alterações pronunciadas na inclinação da reta e no intercepto.



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

Os parâmetros microestruturais obtidos a partir dos ajustes lineares pelo método de Williamson–Hall para todas as condições experimentais estão apresentados na Tabela 10, permitindo comparar as variações no tamanho médio dos cristalitos (D), na microdeformação (ε), na densidade de discordâncias (ρ) e na tensão de escoamento estimada entre os diferentes grupos experimentais.

Tabela 10 – Parâmetros microestruturais obtidos pela análise de Williamson-Hall dos difratogramas de raios X das conchas de *Biomphalaria glabrata* (aragonita) sob diferentes condições experimentais de infecção.

Condição	Tamanho de Cristalito D (nm)	Microdeformação ε (%)	Densidade de Discordâncias ρ (10^{14} m^{-2})	Tensão de Escoamento σ_γ (MPa)	R^2 do ajuste
Controle	36,49	0,1481	2,81	311,6	0,0310
Angiostrongylus cantonensis	68,30	0,2025	2,05	275,1	0,2392
Echinostoma paraensei	40,39	0,1845	3,16	326,96	0,0473
Coinfecção A+E	54,62	0,1599	2,03	273,69	0,1216
Coinfecção E+A	78,87	0,1967	1,73	257,25	0,1542

Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

A análise dos dados revela respostas distintas da aragonita em função do tipo de parasita e da interação entre eles.

- Infecção por *Angiostrongylus cantonensis*: Houve um aumento expressivo no tamanho médio dos cristalitos, atingindo 68,30 nm, o que representa um incremento de aproximadamente 87% em relação ao grupo controle. Esse crescimento, acompanhado pelo aumento da microdeformação e pela redução de aproximadamente 12% na resistência mecânica, sugere que a infecção interfere diretamente nos mecanismos biológicos responsáveis pelo controle do crescimento cristalino, resultando em uma concha com menor resistência mecânica (Cordero et al., 2016; Dardo et al., 2024).
- Infecção por *Echinostoma paraensei*: O comportamento foi distinto, caracterizado por um discreto aumento no tamanho médio dos cristalitos e pela maior densidade de discordâncias registrada ($3,16 \times 10^{14}$ m^{-2}). Esse acúmulo de defeitos cristalinos promoveu um aumento de aproximadamente 5% na tensão de escoamento, sugerindo um possível mecanismo de endurecimento por deformação, no qual as discordâncias

dificultam o movimento na rede cristalina e contribuem para o aumento da resistência mecânica (Kato, 2014; Li et al., 2016).

- Cenários de coinfecção: As coinfecções promoveram os maiores níveis de perturbação estrutural, evidenciando a influência da ordem de infecção sobre a microestrutura da concha. A sequência *Echinostoma paraensei* + *Angiostrongylus cantonensis* resultou no maior tamanho médio de cristalito (78,87 nm) e na menor resistência mecânica registrada (257,25 MPa). A redução da densidade de discordâncias nesses grupos indica que os cristalitos cresceram com menor restrição, porém formando uma estrutura menos resistente, sugerindo que a ação conjunta dos parasitas intensifica o enfraquecimento estrutural da concha (Bonfim, 2016; Mendes et al., 2020).

5.2.4 Caracterização por Espectroscopia de Dispersão de Energia (EDS)

A composição química superficial das conchas de *Biomphalaria glabrata* foi avaliada por EDS para investigar como as diferentes condições de infecção influenciam o teor de cálcio e sua relação com as propriedades da concha (Kawano et al., 2015). Os valores obtidos para a composição elementar e as relações estequiométricas estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Composição química elementar e relações estequiométricas obtidas por EDS em conchas de *Biomphalaria glabrata* sob diferentes condições de infecção parasitária.

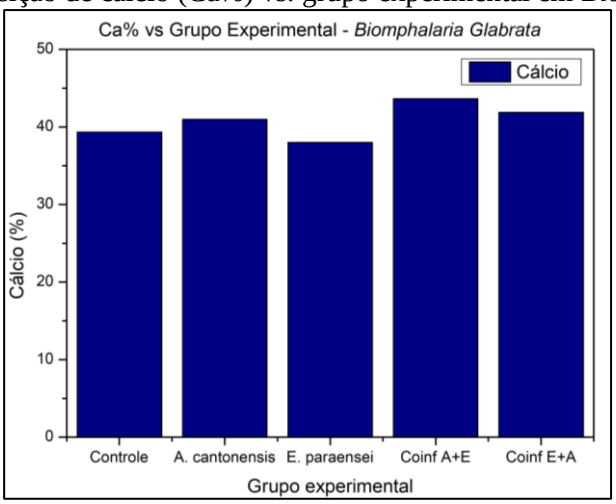
Condição	**Oxigênio (O) %**	**Cálcio (Ca) %**	**Relação O/Ca**	**Relação atômica Ca/(Ca+O)**
Controle	60,66	39,34	1,54	0,206
Angiostrongylus cantonensis	59,02	40,98	1,44	0,216
Echinostoma paraensei	62,00	38,00	1,63	0,196
Coinfecção *A+E*	56,35	43,65	1,29	0,236
Coinfecção *E+A*	58,14	41,86	1,39	0,223

Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

Embora as variações da razão atômica Ca/(Ca+O) sejam mais sutis do que as observadas

em *Bulimulus tenuissimus*, elas revelam comportamentos distintos para cada tipo de parasito. Essa razão variou de 0,196 no grupo infectado por *Echinostoma paraensei* até 0,236 na coinfecção *A+E*, indicando que o tipo de estresse fisiológico influencia diretamente a composição química do biomineral (Kawano et al., 2015). Com o objetivo de facilitar a comparação entre os grupos experimentais, a Figura 25 apresenta a variação do teor de cálcio (Ca%) determinado por EDS nas conchas de *Biomphalaria glabrata*, evidenciando as alterações composicionais associadas às diferentes condições de infecção.

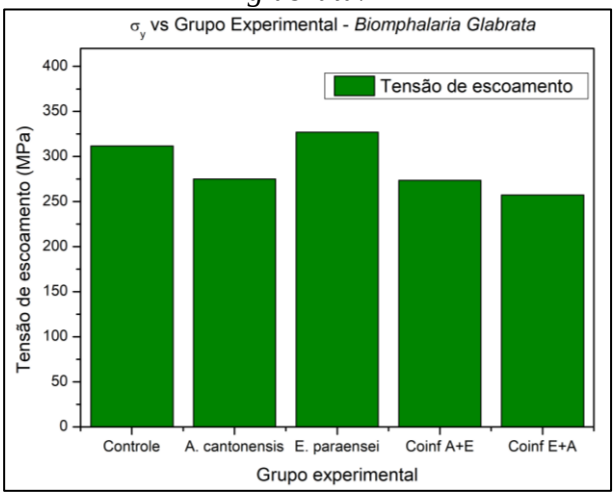
Figura 25 – Composição de cálcio (Ca%) vs. grupo experimental em *Biomphalaria glabrata*.



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

As variações na composição superficial de cálcio entre os grupos experimentais revelam comportamentos distintos conforme o tipo de infecção. A infecção por *Echinostoma paraensei* apresentou o menor teor de cálcio (38,00%), ligeiramente inferior ao observado no grupo controle (39,34%). Em contraste, as coinfecções apresentaram os maiores teores, com destaque para a coinfecção *A+E* (43,65%). Para complementar a análise composicional, a Figura 26 apresenta a tensão de escoamento estimada para cada grupo experimental, permitindo correlacionar as alterações composicionais observadas por EDS com o comportamento mecânico estimado das conchas de *Biomphalaria glabrata*.

Figura 26 – Tensão de escoamento estimada (σ_γ) vs. grupo experimental em *Biomphalaria glabrata.*

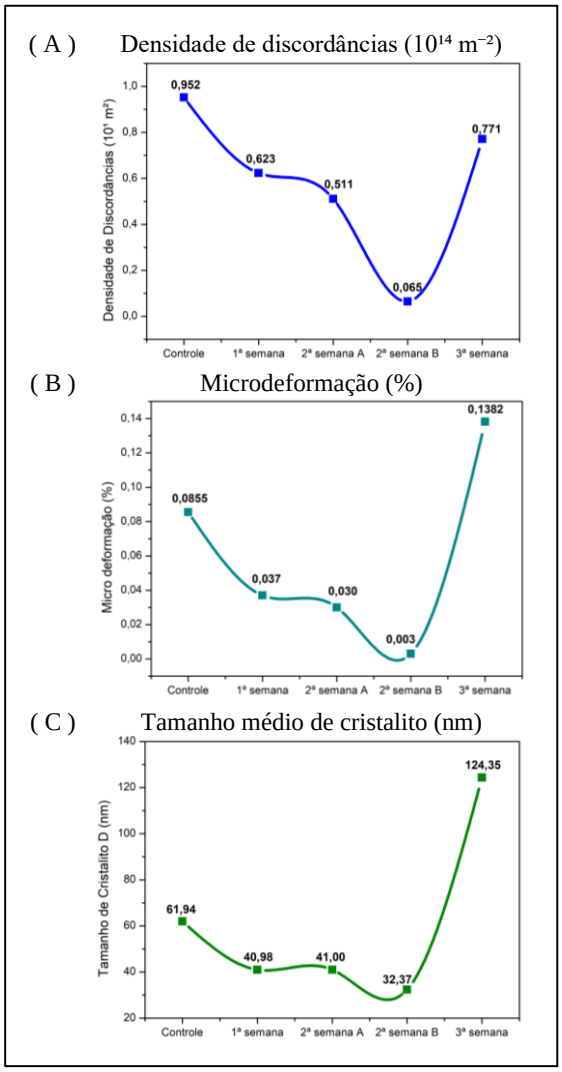


Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

A resistência mecânica da concha respondeu de maneira distinta conforme o tipo de infecção. No grupo infectado por *Echinostoma paraensei*, a tensão de escoamento aumentou para 326,96 MPa, sugerindo um possível mecanismo de endurecimento estrutural. Em contrapartida, as infecções por *Angiostrongylus cantonensis* e as coinfecções promoveram redução progressiva da resistência mecânica, com o menor valor registrado na coinfecção *E+A* (257,25 MPa), correspondente a uma redução de aproximadamente 17% em relação ao grupo controle (Cordero et al., 2016).

A fim de integrar os resultados obtidos por difração de raios X, a Figura 27 reúne os principais parâmetros microestruturais determinados pelo método de Williamson–Hall, permitindo comparar simultaneamente o tamanho médio dos cristalitos (D), a microdeformação (ε) e a densidade de discordâncias (ρ) entre os diferentes grupos experimentais.

Figura 27 – Evolução dos parâmetros microestruturais obtidos pelo método de Williamson–Hall para as conchas de Biomphalaria glabrata: (A) tamanho médio de cristalito (D); (B) microdeformação (ε); e (C) densidade de discordâncias (ρ), em função das diferentes condições experimentais de infecção.



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

A análise conjunta dos parâmetros microestruturais apresentados na Figura 27 permite compreender os diferentes mecanismos de resposta da aragonita frente às condições de infecção (Dardo et al., 2024; Parveen et al., 2021). Nos indivíduos infectados por *Angiostrongylus cantonensis*, verificou aumento do tamanho médio dos cristalitos para 68,30 nm, acompanhado da redução da densidade de discordâncias, indicando crescimento cristalino excessivo e menos controlado, o que contribui para a diminuição da resistência mecânica da concha.

Nos indivíduos infectados por *Echinostoma paraensei*, o comportamento foi distinto, com discreto aumento do tamanho de cristalito e a maior densidade de discordâncias entre todos os grupos ($3{,}16 \times 10^{14}$ m^{-2}). Esse aumento de defeitos cristalinos pode atuar como

mecanismo de endurecimento estrutural, dificultando a propagação das deformações e justificando o aumento da tensão de escoamento observado.

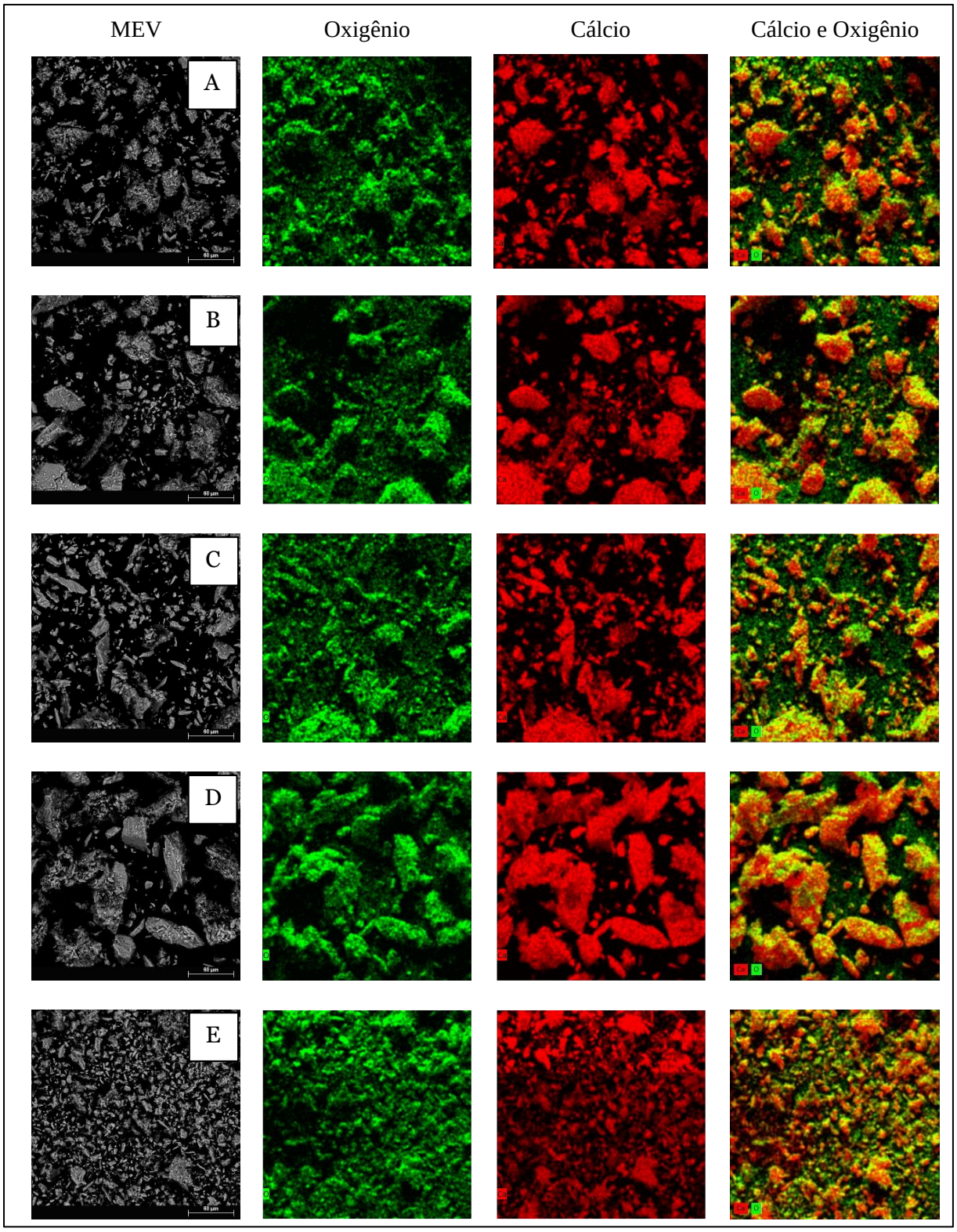
As coinfecções promoveram as alterações microestruturais mais intensas. No grupo *E+A*, o crescimento dos cristalitos atingiu 78,87 nm, acompanhado da menor densidade de discordâncias e da menor resistência mecânica entre todos os grupos experimentais. Esse comportamento indica que a interação entre os dois parasitos compromete o controle biológico da biomineralização, favorecendo o crescimento desordenado dos cristalitos e o enfraquecimento da estrutura da concha (Bonfim, 2016; Mendes et al., 2020).

5.2.5 Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises morfológicas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) revelaram alterações distintas na organização superficial das conchas em função das diferentes condições de infecção, fornecendo evidências morfológicas que complementam os resultados obtidos por difração de raios X, FTIR, Raman e EDS (Parveen et al., 2021; Silva et al., 2010).

A Figura 28 apresenta as micrografias obtidas por MEV para todos os grupos experimentais, permitindo comparar as alterações na organização dos cristalitos de aragonita e na arquitetura superficial das conchas decorrentes das diferentes condições de infecção.

Figura 28 – Micrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das conchas de *Biomphalaria glabrata* sob diferentes condições experimentais: (A) grupo controle; (B) infecção por *Angiostrongylus cantonensis*; (C) infecção por *Echinostoma paraensei*; (D) coinfecção *Angiostrongylus cantonensis* + *Echinostoma paraensei* (A+E); e (E) coinfecção *Echinostoma paraensei* + *Angiostrongylus cantonensis* (E+A). As colunas correspondem às imagens de MEV, ao mapeamento de oxigênio, ao mapeamento de cálcio e ao mapa composicional Ca/O obtido por EDS.



Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

No grupo controle, a superfície da concha apresenta cristalitos de aragonita com

organização acicular bem definida, característica de uma biomineralização preservada. Nos indivíduos infectados por *Angiostrongylus cantonensis*, as micrografias evidenciam crescimento mais desordenado dos cristalitos e perda parcial da organização superficial. Em contraste, a infecção por *Echinostoma paraensei* preserva parte da arquitetura original da concha, embora sejam observados defeitos e irregularidades distribuídos ao longo da superfície.

As alterações mais intensas são observadas nos grupos de coinfecção. Na coinfecção *A+E* ocorre perda significativa da organização hierárquica da aragonita, enquanto a coinfecção *E+A* apresenta o maior grau de desorganização estrutural, caracterizado pelo aumento da porosidade, crescimento irregular dos cristalitos e desaparecimento da arquitetura biomineral típica da concha. Esses resultados corroboram os parâmetros microestruturais obtidos por difração de raios X, confirmando que a ação conjunta dos parasitos potencializa a degradação da estrutura biomineralizada (Parveen et al., 2021; Silva et al., 2010).

As evidências morfológicas observadas por MEV estão em concordância com os resultados obtidos por DRX, FTIR, Raman e EDS, reforçando que as alterações provocadas pelo parasitismo ocorrem de forma integrada, envolvendo alterações estruturais, composicionais e cristalográficas da concha.

5.3 DISCUSSÃO COMPARATIVA: CALCITA VS. ARAGONITA

5.3.1 Efeitos do Parasitismo na Aragonita de *Biomphalaria Glabrata*

A combinação das investigações realizadas para *Biomphalaria glabrata* demonstra um padrão de degradação essencialmente diferente do observado em *Bulimulus tenuissimus*. Enquanto a calcita apresenta um refinamento inicial seguido de colapso estrutural, a aragonita reage com crescimento desordenado dos cristalitos e acúmulo de tensões internas logo no início da infecção, variando conforme o tipo de parasito (Parveen et al., 2021; Dardo et al., 2024).

Na infecção por *Angiostrongylus cantonensis*, ocorreu um aumento no tamanho médio dos cristalitos de 36,49 para 68,30 nm, representando um incremento de aproximadamente 87%. Ao contrário do comportamento observado na calcita, as tensões internas da aragonita aumentaram, acompanhadas por uma redução da resistência mecânica de 311,6 para 275,1 MPa (Cordero et al., 2016). O parasito parece desregular o crescimento mineral, gerando cristalitos maiores, porém menos estáveis. As análises de Raman e FTIR corroboram esse estado de

tensão, enquanto o MEV confirma a desorganização da microestrutura original da concha (Sarabia; Sharma, 2021; Ogresta et al., 2021).

Na infecção por *Echinostoma paraensei*, o crescimento dos cristalitos foi discreto, cerca de 11%, porém ocorreu o maior acúmulo de defeitos na rede cristalina. Curiosamente, a resistência mecânica foi superior à do grupo controle, atingindo 326,96 MPa (Kato, 2014; Li et al., 2016). Esse comportamento sugere um mecanismo de endurecimento estrutural, no qual a elevada quantidade de defeitos dificulta a ocorrência de deformações na rede cristalina, tornando a concha momentaneamente mais resistente. O MEV reforça essa interpretação ao mostrar que a organização original foi parcialmente mantida, apesar das irregularidades observadas (Parveen et al., 2021).

As coinfecções geraram as perturbações estruturais mais intensas, demonstrando que a ordem de infecção dos parasitos no hospedeiro influencia diretamente a gravidade dos danos (Bonfim, 2016; Mendes et al., 2020). A infecção inicial por *Echinostoma paraensei* parece fragilizar o metabolismo do molusco, potencializando o colapso estrutural provocado posteriormente por *Angiostrongylus cantonensis*. O MEV revela o estágio mais avançado dessa degradação, caracterizado pela perda da organização da concha, crescimento desordenado dos cristalitos e formação de poros que comprometem sua integridade estrutural.

5.3.2 Síntese dos Mecanismos de Degradação

A análise integrada das duas espécies revela que a calcita e a aragonita respondem de formas fundamentalmente diferentes ao estresse parasitário, conforme sintetizado na Tabela 12 (Lafferty; Kuris, 2009; Brian et al., 2021)

Tabela 12 – Síntese comparativa dos mecanismos de degradação estrutural induzidos pelo parasitismo em Bulimulus tenuissimus (calcita) e Biomphalaria glabrata (aragonita).

Aspecto	***Bulimulus tenuissimus* (Calcita)**	***Biomphalaria glabrata* (Aragonita)**
Resposta primária	Refinamento cristalino (D) nas fases iniciais	Crescimento cristalino (D)
Microdeformação (ε)	Redução progressiva, com mínimo na 2ª semana	Aumento ou manutenção, dependendo da infecção

Aspecto	*Bulimulus tenuissimus* (Calcita)	*Biomphalaria glabrata* (Aragonita)
Papel da matriz orgânica	Crítico para tenacificação; perda compromete dureza	Regulatório do crescimento; perda leva a cristais maiores
Correlação Ca vs. Dureza	Negativa	Positiva
Estágios de degradação	Três estágios bem definidos (refinamento, colapso, crescimento anômalo)	Dependentes do tipo de infecção, sem refinamento inicial
Pior cenário	2ª semana (colapso estrutural)	Coinfecções (efeito sinérgico, especialmente E+A)
Sensibilidade espectroscópica	FTIR mais sensível (ν_3 e ν_2)	Raman mais sensível (ν_1)

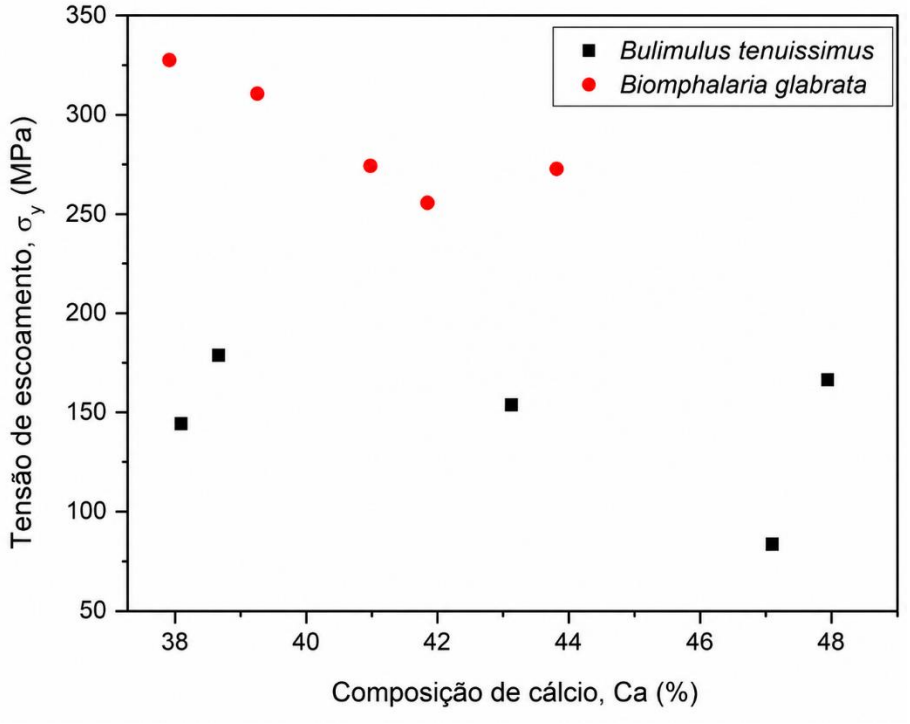
Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

Enquanto *Bulimulus tenuissimus* apresenta estágios bem definidos de refinamento cristalino seguidos por colapso estrutural, *Biomphalaria glabrata* apresenta uma resposta mais variável, dependente do tipo de parasito. Essa diferença de comportamento reforça que a estabilidade do polimorfo e a estratégia de biomineralização de cada espécie determinam a magnitude das alterações estruturais induzidas pelo parasitismo.

5.3.3 Correlação Integrada: Composição vs. Propriedades Mecânicas

A análise da correlação entre a composição de cálcio superficial e a tensão de escoamento estimada revela comportamentos distintos entre as duas espécies e seus respectivos polimorfos (Kawano et al., 2015; Cordero et al., 2016). A Figura 29 apresenta essa relação, permitindo comparar o comportamento mecânico da calcita e da aragonita em função das alterações composicionais induzidas pelo parasitismo.

Figura 29 – Correlação entre composição de cálcio (Ca%) e tensão de escoamento (σ_γ) .



Fonte**:** Elaborado pelo autor a partir dos dados experimentais (2026).

A análise da correlação entre a composição de cálcio superficial e a tensão de escoamento estimada revela comportamentos distintos entre as duas espécies e seus respectivos polimorfos (Kawano et al., 2015; Cordero et al., 2016).

Para *Bulimulus tenuissimus* (calcita), há uma tendência de correlação negativa: quanto maior o teor de cálcio superficial, menor a resistência mecânica. Esse comportamento é particularmente evidente na amostra da 2ª semana B (Ca = 46,76%; σ_γ = 83,8 MPa) e na 3ª semana (Ca = 47,57%; σ_γ = 166,0 MPa), sugerindo que o enriquecimento em cálcio, possivelmente associado à perda da matriz orgânica, compromete a integridade mecânica da concha (Marin et al., 2008; Nudelman, 2015).

Para *Biomphalaria glabrata* (aragonita), a relação é menos linear. Em contrapartida a infecção por *Echinostoma paraensei*, que apresentou o menor teor de cálcio (38,00%) e o maior valor de tensão de escoamento (326,96 MPa), reforça a hipótese de que a preservação da matriz orgânica está associada à maior integridade estrutural da concha. Já as coinfecções apresentaram os maiores teores de cálcio e as menores tensões de escoamento, corroborando a interpretação de que o aumento da fração mineral, quando acompanhado pela perda da organização biológica da matriz orgânica, resulta em fragilização estrutural (Silva et al., 2010; Parveen et al., 2021).

A correlação observada entre a composição química superficial e as propriedades

mecânicas reforça a importância da matriz orgânica como componente tenacificante do biomineral. Sua perda ou alteração durante o estresse parasitário favorece mudanças na organização cristalina e compromete a integridade mecânica das conchas, embora esse comportamento ocorra por mecanismos distintos na calcita e na aragonita.

5.3.4 Implicações Ecológicas

O comprometimento da integridade estrutural das conchas possui importantes implicações ecológicas, uma vez que pode afetar diretamente a sobrevivência dos hospedeiros e a dinâmica de transmissão dos parasitos (Lafferty; Kuris, 2009; Brian et al., 2021; García-Huidobro et al., 2020). A redução da resistência mecânica das conchas pode aumentar a suscetibilidade à predação, favorecer danos provocados por fatores ambientais e comprometer o desempenho fisiológico dos organismos, refletindo negativamente sobre o sucesso reprodutivo. Além disso, alterações na condição física dos moluscos podem influenciar a persistência dos hospedeiros intermediários no ambiente e, consequentemente, interferir na manutenção e disseminação dos ciclos de transmissão parasitária.

Esses achados demonstram que a abordagem multitécnica empregada foi eficiente para identificar e quantificar as alterações na biomineralização induzidas pelo estresse parasitário, permitindo integrar, de forma consistente, as mudanças químicas, estruturais, morfológicas e mecânicas observadas nas conchas (Parveen et al., 2021; Dardo et al., 2024; Sarabia; Sharma, 2021). Dessa forma, os resultados obtidos reforçam o potencial das conchas de moluscos como biomarcadores estruturais do estresse fisiológico induzido pelo parasitismo, contribuindo para estudos em Ciência dos Materiais, Parasitologia e Ecologia.

6 CONCLUSÃO

A presente dissertação evidenciou que o estresse provocado por *Angiostrongylus cantonensis* e *Echinostoma paraensei* desencadeia respostas microestruturais e metabólicas significativamente distintas em *Bulimulus tenuissimus* e *Biomphalaria glabrata*, determinadas pelo polimorfismo predominante do carbonato de cálcio presente em suas conchas. Os resultados demonstram que a concha atua como um registro da condição fisiológica do hospedeiro, refletindo de forma específica como cada espécie responde ao estresse imposto pelo parasitismo.

Em *Bulimulus tenuissimus*, a resposta ao parasitismo manifesta-se pela perda progressiva do controle biológico da biomineralização. Os resultados obtidos por difração de raios X indicam que o processo de degradação estrutural atinge seu ponto crítico na segunda semana de infecção, com redução do tamanho médio de cristalito para 32,37 nm e da tensão de escoamento para 83,8 MPa. Na terceira semana, ocorre crescimento acentuado dos cristalitos, atingindo 124,35 nm, caracterizando um processo desregulado de formação mineral. Esse fenômeno, associado ao aumento da disponibilidade de cálcio superficial, resulta na formação de uma concha maior, porém mecanicamente mais frágil. Sob a perspectiva ecológica, essa alteração pode aumentar a vulnerabilidade do molusco à predação, favorecendo a captura do hospedeiro e, consequentemente, a manutenção do ciclo de vida do parasito.

Em *Biomphalaria glabrata*, a resposta ao parasitismo envolve um mecanismo inicial de reforço estrutural. A infecção por *Echinostoma paraensei* promove aumento da densidade de discordâncias para $3{,}16 \times 10^{14}$ m^{-2} e elevação da tensão de escoamento para 326,96 MPa, caracterizando um possível mecanismo de resistência baseado na introdução de defeitos cristalinos. Entretanto, essa estratégia mostra-se limitada, pois a coinfecção com *Angiostrongylus cantonensis* intensifica o estresse metabólico e reduz a resistência mecânica para 257,25 MPa, indicando que o acúmulo de danos compromete a estabilidade estrutural da concha. Diferentemente do comportamento observado em *Bulimulus tenuissimus*, o dano concentra-se principalmente na degradação da organização lamelar e da matriz orgânica, tornando a concha mais suscetível à fratura sob esforços mecânicos.

Os resultados obtidos indicam que a análise das alterações microestruturais das conchas de *Bulimulus tenuissimus* e *Biomphalaria glabrata* apresenta potencial para aplicação como ferramenta auxiliar na vigilância em saúde pública, uma vez que esses moluscos atuam como hospedeiros intermediários de parasitos de importância médico-veterinária, como *Angiostrongylus cantonensis* e *Echinostoma paraensei*. A identificação dessas alterações

estruturais pode contribuir para o reconhecimento de áreas com circulação ativa desses parasitos de forma não invasiva. Nesse contexto, a Ciência dos Materiais demonstra potencial para contribuir com a Saúde Única (*One Health*), ao transformar a caracterização cristalográfica e microestrutural das conchas em uma ferramenta complementar para estudos ecológicos, epidemiológicos e de monitoramento ambiental.

7 SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

A partir dos resultados obtidos nesta pesquisa, que evidenciaram alterações na estrutura, na composição e nas propriedades do carbonato de cálcio biogênico das conchas submetidas à infecção parasitária, possibilitando diversas áreais continuidade desta linha de investigação. Além da compreensão dos mecanismos de biomineralização e degradação estrutural induzidos pelo parasitismo, o material estudado apresenta potencial para aplicações em diferentes áreas da Ciência dos Materiais, Engenharia e Biotecnologia.

Destacam-se como perspectivas para estudos futuros:

- Incorporação do carbonato de cálcio biogênico em matrizes geopoliméricas;
- Desenvolvimento de argamassas sustentáveis contendo biomateriais de origem biogênica;
- Síntese de hidroxiapatita para aplicações biomédicas;
- Utilização como corretivo de acidez do solo;
- Emprego como material adsorvente para tratamento de efluentes;
- Desenvolvimento de biomarcadores estruturais aplicados ao monitoramento da saúde ambiental e da interação parasito-hospedeiro.

REFERÊNCIAS

ADDADI, L.; JOESTER, D.; NUDELMAN, F.; WEINER, S. Mollusk shell formation: a source of new concepts for understanding biomineralization processes. Chemistry – A European Journal, v. 12, n. 4, p. 980-987, 2006. DOI: 10.1002/chem.200500980. Disponível em: https://doi.org/10.1002/chem.200500980. Acesso em: 6 jul. 2026.

AQUAPORTAIL. *Biomphalaria glabrata*. [S. l.: s. n.], 2025. Disponível em: https://www.aquaportail.com/especies/ficha/invertebrado/2564/biomphalaria-glabrata. Acesso em: 6 jul. 2026.

BIOFACES. Caracol terrestre (*Bulimulus tenuissimus*). [S. l.: s. n.], [s.d.]. Disponível em: https://www.biofaces.com/specie/7438/bulimulus-tenuissimus. Acesso em: 6 jul. 2026.

BONFIM, T. C. S. Avaliação do perfil glicídico e da biologia reprodutiva de *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) experimentalmente co-infectada por *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda) e *Echinostoma paraensei* (Trematoda). 2016. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2016.

BRIAN, J. I.; DUNNE, S. E.; ELLIS, C. L.; ALDRIDGE, D. C. Population-level effects of parasitism on a freshwater ecosystem engineer, the unionid mussel *Anodonta anatina*. Freshwater Biology, v. 66, n. 12, p. 2231-2245, 2021. DOI: 10.1111/fwb.13828. Disponível em: https://doi.org/10.1111/fwb.13828. Acesso em: 6 jul. 2026.

CALLISTER JR., W. D.; RETHWISCH, D. G. Materials science and engineering: an introduction. 10. ed. Nova York: Wiley, 2020.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. DPDx – Echinostomiasis. Atlanta: CDC, 2019. Disponível em: https://www.cdc.gov/dpdx/echinostomiasis/index.html. Acesso em: 6 jul. 2026.

CHEN, L.; WANG, B.; ZHANG, W.; ZHENG, S.; CHEN, Z.; ZHANG, M.; DONG, C.; PAN, F.; LI, S. Crystal structure assignment for unknown compounds from X-ray diffraction patterns with deep learning. Journal of the American Chemical Society, v. 146, n. 10, p. 6789-6800, 2024. DOI: 10.1021/jacs.3c11852. Disponível em: https://doi.org/10.1021/jacs.3c11852. Acesso em: 6 jul. 2026.

CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO. Portaria nº 2.664, de 2026. Dispõe sobre a Política de Integridade na Atividade Científica. Brasília: CNPq, 2026.

CORDERO, Z. C.; KNIGHT, B. E.; SCHUH, C. A. Six decades of the Hall–Petch effect – a survey of grain-size strengthening studies on pure metals. International Materials Reviews, v. 61, n. 8, p. 495-512, 2016. DOI: 10.1080/09506608.2016.1191808. Disponível em: https://doi.org/10.1080/09506608.2016.1191808. Acesso em: 6 jul. 2026.

DANGWAL, S.; EDALATI, K.; VALIEV, R. Z.; LANGDON, T. G. Breaks in the Hall–Petch relationship after severe plastic deformation of magnesium, aluminum, copper, and iron. Crystals, v. 13, n. 3, p. 413, 2023. DOI: 10.3390/cryst13030413. Disponível em: https://doi.org/10.3390/cryst13030413. Acesso em: 6 jul. 2026.

DARDO, R. B. C.; JAGUS, R. J.; IMURA, M.; BANAL, R. G. X-ray diffraction analysis of natural calcite minerals found in General Santos City and Sarangani Province, Southern Philippines by Williamson–Hall method. Journal of Energy, Environmental & Chemical Engineering, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2024. DOI: 10.34002/jeear.v3i1.82. Disponível em: https://doi.org/10.34002/jeear.v3i1.82. Acesso em: 6 jul. 2026.

GARCÍA-HUIDOBRO, M. R.; ALDANA, M.; VARAS, O.; PULGAR, J.; GARCÍA-HERRERA, C.; ABARCA-ORTEGA, A.; GRENIER, C.; RODRÍGUEZ-NAVARRO, A. B.; LAGOS, N. A. Geographical variability and parasitism on body size, reproduction and shell characteristics of the keyhole limpet *Fissurella crassa* (Mollusca: Vetigastropoda). Marine Environmental Research, v. 160, p. 105060, 2020. DOI: 10.1016/j.marenvres.2020.105060. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.105060. Acesso em: 6 jul. 2026.

GORYNSKI, C.; FREI, M.; KRUIS, F. E.; WINTERER, M. Machine learning based quantitative characterization of microstructures. Acta Materialia, v. 253, p. 119106, 2023. DOI: 10.1016/j.actamat.2023.119106. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.actamat.2023.119106. Acesso em: 6 jul. 2026.

GRÁNÁSY, L.; RÁTKAI, L.; TÓTH, G. I.; GILBERT, P. U. P. A.; ZLOTNIKOV, I.; PUSZTAI, T. Phase-field modeling of biomineralization in mollusks and corals: microstructure vs formation mechanism. JACS Au, v. 1, n. 7, p. 1014-1033, 2021. DOI: 10.1021/jacsau.1c00026. Disponível em: https://doi.org/10.1021/jacsau.1c00026. Acesso em: 6 jul. 2026.

HALL, S. R.; BECKER, C.; CÚTERES, M. Parasitic castration: a perspective from a model of dynamic energy budgets. Integrative and Comparative Biology, v. 47, n. 2, p. 295-309, 2007.

HOLM, E. A.; COHN, R.; GAO, N.; KITAHARA, A. R.; MATSON, T. P.; LEI, B.; YARASI, S. R. Overview: computer vision and machine learning for microstructural characterization and analysis. Metallurgical and Materials Transactions A, v. 51, n. 12, p. 5985-5999, 2020. DOI: 10.1007/s11661-020-06008-4. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s11661-020-06008-4. Acesso em: 6 jul. 2026.

KATO, M. Hall-Petch relationship and dislocation model for deformation of ultrafine-grained and nanocrystalline metals. Materials Transactions, v. 55, n. 1, p. 19-24, 2014. DOI: 10.2320/matertrans.MA201310. Disponível em: https://doi.org/10.2320/matertrans.MA201310. Acesso em: 6 jul. 2026.

KAWANO, J.; SAKUMA, H.; NAGAI, T. Incorporation of Mg^{2+} in surface Ca^{2+} sites of aragonite: an ab initio study. Progress in Earth and Planetary Science, v. 2, n. 1, p. 1-9, 2015. DOI: 10.1186/s40645-015-0039-4. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s40645-015-0039-4. Acesso em: 6 jul. 2026.

KONWAR, R.; BARUAH, G. D. Raman, FT-Raman and FTIR spectra of molluscan shells. International Journal of Advanced Research, v. 5, n. 3, p. 1230-1237, 2017. DOI: 10.21474/IJAR01/4551. Disponível em: https://doi.org/10.21474/IJAR01/4551. Acesso em: 6 jul. 2026.

LAFFERTY, K. D.; KURIS, A. M. Parasitic castration: the evolution and ecology of body snatchers. Trends in Parasitology, v. 25, n. 12, p. 564-572, 2009. DOI: 10.1016/j.pt.2009.09.003. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.pt.2009.09.003. Acesso em: 6 jul. 2026.

LI, Y.; BUSHBY, A. J.; DUNSTAN, D. J. The Hall–Petch effect as a manifestation of the general size effect. Proceedings of the Royal Society A, v. 472, n. 2186, p. 20150890, 2016. DOI: 10.1098/rspa.2015.0890. Disponível em: https://doi.org/10.1098/rspa.2015.0890. Acesso em: 6 jul. 2026.

MARIN, F.; LUQUET, G.; MARIE, B.; MEDAKOVIC, D. Molluscan shell proteins: primary structure, origin, and evolution. Current Topics in Developmental Biology, v. 80, p. 209-276, 2008. DOI: 10.1016/S0070-2153(07)80006-8. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S0070-2153(07)80006-8. Acesso em: 6 jul. 2026.

MARTINS, F. G.; GARCIA, J. S.; TORRES, E. J. L.; SANTOS, M. A. J.; MASSARD, C. L.; PINHEIRO, J. First record of *Bulimulus tenuissimus* (Mollusca) as potential experimental intermediate host of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda). Brazilian Journal of Biology, v. 79, n. 4, p. 1-5, 2019. DOI: 10.1590/1519-6984.188914. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1519-6984.188914. Acesso em: 6 jul. 2026.

MENDES, T. M. F.; CARRILLO, E.; GALINARO, C. A.; CABRAL, F. J.; ALLEGRETTI, S. M. *Biomphalaria glabrata* infected with *Angiostrongylus cantonensis*: proteomic changes in the snail host. Acta Tropica, v. 212, p. 105684, 2020. DOI: 10.1016/j.actatropica.2020.105684. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105684. Acesso em: 6 jul. 2026.

NUDELMAN, F. Nacre biomineralisation: a review on the mechanisms of crystal nucleation. Seminars in Cell & Developmental Biology, v. 46, p. 2-10, 2015. DOI: 10.1016/j.semcdb.2015.07.004. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.07.004. Acesso em: 6 jul. 2026.

OGRESTA, L.; NEKVAPIL, F.; TĂMAŞ, T.; BARBU-TUDORAN, L.; SUCIU, M.; HIRIAN, R.; ALUAŞ, M.; LAZAR, G.; LEVEI, E.; GLAMUZINA, B.; PINZARU, S. C. Rapid and application-tailored assessment tool for biogenic powders from crustacean shell waste: Fourier transform-infrared spectroscopy complemented with X-ray diffraction, scanning electron microscopy, and nuclear magnetic resonance spectroscopy. ACS Omega, v. 6, n. 43, p. 28681-28693, 2021. DOI: 10.1021/acsomega.1c03279. Disponível em: https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03279. Acesso em: 6 jul. 2026.

PARVEEN, S.; CHAKRABORTY, A.; CHANDA, D. K.; PRAMANIK, S.; BARIK, A.; ADITYA, G. Microstructure analysis and chemical and mechanical characterization of the shells of three freshwater snails. ACS Omega, v. 6, n. 1, p. 257-272, 2021. DOI: 10.1021/acsomega.0c03064. Disponível em: https://doi.org/10.1021/acsomega.0c03064. Acesso em: 6 jul. 2026.

PRABHU, Y. T.; RAO, K. V.; KUMAR, V. S. S.; SIVA KUMAR, B. X-ray diffraction by Williamson-Hall, Scherrer and size-strain plot methods of ZnO nanoparticles. International Journal of Engineering and Advanced Technology, v. 3, n. 5, p. 78-84, 2014.

RABIEJ, M.; RABIEJ, S. Application of the artificial neural network for identification of polymers based on their X-ray diffraction curves. Computational Materials Science, v. 188, p. 110042, 2021. DOI: 10.1016/j.commatsci.2020.110042. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.commatsci.2020.110042. Acesso em: 6 jul. 2026.

SARABIA, G. M.; SHARMA, B. Non-destructive Raman spectroscopic determination of freshwater mollusk composition, growth, and damage repair. Analyst, v. 146, n. 24, p. 7465-

7476, 2021. DOI: 10.1039/D1AN01088C. Disponível em: https://doi.org/10.1039/D1AN01088C. Acesso em: 6 jul. 2026.

SILVA, D.; DEBACHER, N. A.; CASTILHOS JUNIOR, A. B.; ROHERS, F. Caracterização físico-química e microestrutural de conchas de moluscos bivalves provenientes de cultivos da região litorânea da ilha de Santa Catarina. Química Nova, v. 33, n. 5, p. 1053-1058, 2010. DOI: 10.1590/S0100-40422010000500009. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000500009. Acesso em: 6 jul. 2026.

SUN, J.; BHUSHAN, B. Hierarchical structure and mechanical properties of nacre: a review. RSC Advances, v. 2, n. 20, p. 7617-7632, 2012. DOI: 10.1039/c2ra20218b. Disponível em: https://doi.org/10.1039/c2ra20218b. Acesso em: 6 jul. 2026.

SURDU, V.-A.; GYORGY, R. X-ray diffraction data analysis by machine learning methods – a review. Applied Sciences, v. 13, n. 17, p. 9992, 2023. DOI: 10.3390/app13179992. Disponível em: https://doi.org/10.3390/app13179992. Acesso em: 6 jul. 2026.

SZYMANSKI, N. J.; BARTEL, C. J.; ZENG, Y.; DIALLO, M.; KIM, H.; CEDER, G. Adaptively driven X-ray diffraction guided by machine learning for autonomous phase identification. npj Computational Materials, v. 9, n. 1, p. 84, 2023. DOI: 10.1038/s41524-023-00984-y. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41524-023-00984-y. Acesso em: 6 jul. 2026.

WANG, Q. P.; LAI, D. H.; ZHU, X. Q.; CHEN, X. G.; LUN, Z. R. Human angiostrongyliasis. The Lancet Infectious Diseases, v. 8, n. 10, p. 621-630, 2008. DOI: 10.1016/S1473-3099(08)70229-9. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70229-9. Acesso em: 6 jul. 2026.

ZHAO, X.; LUO, Y.; LIU, J.; LIU, W.; ROSSO, K. M.; GUO, X.; GENG, T.; LI, A.; ZHANG, X. Machine learning automated analysis of enormous synchrotron X-ray diffraction datasets. The Journal of Physical Chemistry C, v. 127, n. 42, p. 20845-20855, 2023. DOI: 10.1021/acs.jpcc.3c03572. Disponível em: https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.3c03572. Acesso em: 6 jul. 2026.

APÊNDICE

APÊNDICE A – RELATÓRIO DRX: BIOMPHALARIA GLABRATA – CONTROLE

Relatorio de Analise DRX e Propriedades Mecanicas

1. Identificacao Automatica de Fase (Ranking)

Fase Candidata	Matches (Picos)	Erro Medio 2theta (deg)
Aragonita (CaCO3) <PRINCIPAL>	13	0.088

2. Tabela de Picos Identificados (Exp vs Ref)

#	2theta_exp	Int_exp	Int_ref	Fase Prov	2theta_ref	hkl	d_A	FWHM_deg	D_Scherr_nm
1	26.300	939.3	89	Aragonita (CaCO3)	26.200	0 1 1	3.386	0.248	32.85
2	27.300	462.7	100	Aragonita (CaCO3)	27.200	0 1 2	3.264	0.273	29.97
3	31.200	139.3	5	Aragonita (CaCO3)	31.120	0 0 2	2.864	0.309	26.70
4	33.200	976.0	66	Aragonita (CaCO3)	33.120	1 2 2	2.696	0.244	33.96
5	36.250	478.0	69	Aragonita (CaCO3)	36.120	1 0 2	2.476	0.283	29.53
6	37.950	536.0	59	Aragonita (CaCO3)	37.880	1 1 2	2.369	0.354	23.73
7	38.650	306.7	17	Aragonita (CaCO3)	38.600	2 2 2	2.328	0.797	10.56
8	41.250	126.0	13	Aragonita (CaCO3)	41.180	2 1 1	2.187	0.406	20.91
9	43.000	211.3	23	Aragonita (CaCO3)	42.900	2 2 0	2.102	0.301	28.38
10	45.950	629.3	94	Aragonita (CaCO3)	45.840	2 2 1	1.973	0.271	31.78
11	48.450	356.7	42	Aragonita (CaCO3)	48.320	0 4 1	1.877	0.351	24.81
12	50.300	261.3	31	Aragonita (CaCO3)	50.220	1 3 2	1.813	0.356	24.62
13	52.500	480.0	41	Aragonita (CaCO3)	52.460	1 1 3	1.742	0.409	21.67

3. Parametros Estruturais (Williamson-Hall)

Tamanho de Cristalito (D_WH)	36.49 nm
Microdeformação (epsilon)	0.1481 %
Intercepto W-H	0.0038
Qualidade do ajuste (R^2)	0.0310
Picos usados (hkl): 0 1 1, 0 1 2, 0 0 2, 1 2 2, 1 0 2, 1 1 2, 2 2 2, 2 1 1, 2 2 0, 2 2 1, 0 4 1, 1 3 2, 1 1 3	

4. Propriedades Mecanicas Estimadas

Tamanho de Cristalito Médio (D_med)	36.49 nm
Microdeformação (epsilon)	0.1481 %
Densidade de Discordâncias (rho)	2.81e+14 m^-2
Tensão de Escoamento (sigma_y)	311.59 MPa
Dureza (HV)	95.3 HV
Módulo de Cisalhamento (G)	32.69

5. Graficos DRX e Williamson-Hall (Aragonita (CaCO3))

APÊNDICE B – RELATÓRIO DRX: BIOMPHALARIA GLABRATA ANGIOSTRONGYLUS CANTONENSIS

Relatorio de Analise DRX e Propriedades Mecanicas

1. Identificacao Automatica de Fase (Ranking)

Fase Candidata	Matches (Picos)	Erro Medio 2theta (deg)
Aragonita (CaCO3) <PRINCIPAL>	13	0.328

2. Tabela de Picos Identificados (Exp vs Ref)

#	2theta_exp	Int_exp	Int_ref	Fase Prov	2theta_ref	hkl	d_A	FWHM_deg	D_Scherr_nm
1	26.600	486.7	89	Aragonita (CaCO3)	26.200	011	3.348	0.211	38.70
2	27.600	240.7	100	Aragonita (CaCO3)	27.200	012	3.229	0.241	33.93
3	31.500	156.0	5	Aragonita (CaCO3)	31.120	002	2.838	0.197	41.94
4	33.450	750.0	66	Aragonita (CaCO3)	33.120	1 2 2	2.677	0.213	38.93
5	36.450	273.3	69	Aragonita (CaCO3)	36.120	1 0 2	2.463	0.255	32.78
6	38.250	278.0	24	Aragonita (CaCO3)	38.400	1 3 0	2.351	0.319	26.37
7	39.000	157.3	17	Aragonita (CaCO3)	38.600	222	2.308	0.444	18.97
8	41.500	66.0	13	Aragonita (CaCO3)	41.160	2 1 1	2.174	0.386	22.04
9	43.250	106.7	23	Aragonita (CaCO3)	42.900	220	2.090	0.272	31.41
10	46.150	289.3	94	Aragonita (CaCO3)	45.840	2 2 1	1.965	0.270	31.98
11	48.700	198.7	42	Aragonita (CaCO3)	48.320	041	1.868	0.306	26.52
12	50.500	126.0	31	Aragonita (CaCO3)	50.220	1 3 2	1.806	0.347	25.31
13	52.700	276.0	41	Aragonita (CaCO3)	52.460	1 1 3	1.735	0.339	26.13

3. Parametros Estruturais (Williamson-Hall)

Tamanho de Cristalito (D_WH)	68.30 nm
Microdeformação (epsilon)	0.2025 %
Intercepto W-H	0.0020
Qualidade do ajuste (R^2)	0.2392
Picos usados (hkl): 011, 012, 002, 1 2 2, 1 0 2, 1 3 0, 222, 2 1 1, 220, 2 2 1, 041, 1 3 2, 1 1 3	

4. Propriedades Mecanicas Estimadas

Tamanho de Cristalito Médio (D_med)	68.30 nm
Microdeformação (epsilon)	0.2025 %
Densidade de Discordâncias (rho)	2.05e+14 m^-2
Tensão de Escoamento (sigma_y)	275.05 MPa
Dureza (HV)	84.1 HV
Módulo de Cisalhamento (G)	32.69

5. Graficos DRX e Williamson-Hall (Aragonita (CaCO3))

APÊNDICE C – RELATÓRIO DRX: BIOMPHALARIA GLABRATA – ECHINOSTOMA PARAENSEI

Relatorio de Analise DRX e Propriedades Mecanicas

1. Identificacao Automatica de Fase (Ranking)

Fase Candidata	Matches (Picos)	Erro Medio 2theta (deg)
Aragonita (CaCO3) <PRINCIPAL>	13	0.130

2. Tabela de Picos Identificados (Exp vs Ref)

#	2theta_exp	Int_exp	Int_ref	Fase Prov	2theta_ref	hkl	d_A	FWHM_deg	D_Scherr_nm
1	26.350	960.0	89	Aragonita (CaCO3)	26.200	0 1 1	3.380	0.242	33.74
2	27.350	466.7	100	Aragonita (CaCO3)	27.200	0 1 2	3.258	0.272	30.02
3	31.250	152.7	5	Aragonita (CaCO3)	31.120	0 0 2	2.860	0.316	26.07
4	33.250	970.0	66	Aragonita (CaCO3)	33.120	1 2 2	2.692	0.257	32.31
5	36.250	506.0	69	Aragonita (CaCO3)	36.120	1 0 2	2.476	0.273	30.60
6	38.000	539.3	59	Aragonita (CaCO3)	37.880	1 1 2	2.366	0.386	21.77
7	38.700	306.7	17	Aragonita (CaCO3)	38.600	2 2 2	2.325	0.798	10.56
8	41.300	126.7	13	Aragonita (CaCO3)	41.180	2 1 1	2.184	0.413	20.58
9	43.050	212.0	23	Aragonita (CaCO3)	42.900	2 2 0	2.099	0.302	28.27
10	45.950	618.0	94	Aragonita (CaCO3)	45.840	2 2 1	1.973	0.277	31.10
11	48.500	344.0	42	Aragonita (CaCO3)	48.320	041	1.875	0.356	24.46
12	50.350	250.0	31	Aragonita (CaCO3)	50.220	1 3 2	1.811	0.365	24.05
13	52.550	458.0	41	Aragonita (CaCO3)	52.460	1 1 3	1.740	0.449	19.74

3. Parametros Estruturais (Williamson-Hall)

Tamanho de Cristalito (D_WH)	40.39 nm
Microdeformação (epsilon)	0.1845 %
Intercepto W-H	0.0034
Qualidade do ajuste (R^2)	0.0473
Picos usados (hkl): 0 1 1, 0 1 2, 0 0 2, 1 2 2, 1 0 2, 1 1 2, 2 2 2, 2 1 1, 2 2 0, 2 2 1, 041, 1 3 2, 1 1 3	

4. Propriedades Mecanicas Estimadas

Tamanho de Cristalito Médio (D_med)	40.39 nm
Microdeformação (epsilon)	0.1845 %
Densidade de Discordâncias (rho)	3.16e+14 m^-2
Tensão de Escoamento (sigma_y)	326.96 MPa
Dureza (HV)	100.0 HV
Módulo de Cisalhamento (G)	32.69

5. Graficos DRX e Williamson-Hall (Aragonita (CaCO3))

APÊNDICE D – RELATÓRIO DRX: BIOMPHALARIA GLABRATA – COINFECÇÃO A+E

Relatorio de Analise DRX e Propriedades Mecanicas

1. Identificacao Automatica de Fase (Ranking)

Fase Candidata	Matches (Picos)	Erro Medio 2theta (deg)
Aragonita (CaCO3) <PRINCIPAL>	13	0.242

2. Tabela de Picos Identificados (Exp vs Ref)

#	2theta_exp	Int_exp	Int_ref	Fase Prov	2theta_ref	hkl	d_A	FWHM_deg	D_Scherr_nm
1	26.500	942.0	89	Aragonita (CaCO3)	26.200	0 1 1	3.361	0.189	43.16
2	27.500	479.3	100	Aragonita (CaCO3)	27.200	0 1 2	3.241	0.208	39.36
3	31.400	423.3	5	Aragonita (CaCO3)	31.120	002	2.847	0.175	47.18
4	33.350	1834.7	66	Aragonita (CaCO3)	33.120	1 2 2	2.685	0.190	43.63
5	36.350	476.7	69	Aragonita (CaCO3)	36.120	1 0 2	2.470	0.238	35.13
6	38.100	549.3	59	Aragonita (CaCO3)	37.880	1 1 2	2.360	0.254	33.11
7	38.850	294.7	17	Aragonita (CaCO3)	38.600	2 2 2	2.316	0.480	17.56
8	41.400	104.7	13	Aragonita (CaCO3)	41.180	2 1 1	2.179	0.393	21.62
9	43.150	195.3	23	Aragonita (CaCO3)	42.900	220	2.095	0.241	35.51
10	46.100	546.0	94	Aragonita (CaCO3)	45.840	2 2 1	1.967	0.240	35.90
11	48.550	307.3	42	Aragonita (CaCO3)	48.320	041	1.874	0.309	28.24
12	50.450	252.7	31	Aragonita (CaCO3)	50.220	1 3 2	1.807	0.301	29.22
13	52.600	555.3	41	Aragonita (CaCO3)	52.460	1 1 3	1.739	0.298	29.72

3. Parametros Estruturais (Williamson-Hall)

Tamanho de Cristalito (D_WH)	78.87 nm
Microdeformação (epsilon)	0.1967 %
Intercepto W-H	0.0018
Qualidade do ajuste (R^2)	0.1542
Picos usados (hkl): 0 1 1, 0 1 2, 002, 1 2 2, 1 0 2, 1 1 2, 2 2 2, 2 1 1, 220, 2 2 1, 041, 1 3 2, 1 1 3	

4. Propriedades Mecanicas Estimadas

Tamanho de Cristalito Médio (D_med)	78.87 nm
Microdeformação (epsilon)	0.1967 %
Densidade de Discordâncias (rho)	1.73e+14 m^-2
Tensão de Escoamento (sigma_y)	257.25 MPa
Dureza (HV)	78.7 HV
Módulo de Cisalhamento (G)	32.69

5. Graficos DRX e Williamson-Hall (Aragonita (CaCO3))

APÊNDICE E – RELATÓRIO DRX: BIOMPHALARIA GLABRATA – COINFECÇÃO E+A

Relatorio de Analise DRX e Propriedades Mecanicas

1. Identificacao Automatica de Fase (Ranking)

Fase Candidata	Matches (Picos)	Erro Medio 2theta (deg)
Aragonita (CaCO3) <PRINCIPAL>	13	0.145

2. Tabela de Picos Identificados (Exp vs Ref)

#	2theta_exp	Int_exp	Int_ref	Fase Prov	2theta_ref	hkl	d_A	FWHM_deg	D_Scherr_nm
1	26.400	1018.0	89	Aragonita (CaCO3)	26.200	0 1 1	3.373	0.210	38.82
2	27.400	504.0	100	Aragonita (CaCO3)	27.200	0 1 2	3.252	0.236	34.60
3	31.250	246.7	5	Aragonita (CaCO3)	31.120	0 0 2	2.860	0.222	37.19
4	33.250	1602.0	66	Aragonita (CaCO3)	33.120	1 2 2	2.692	0.201	41.21
5	36.250	566.7	69	Aragonita (CaCO3)	36.120	1 0 2	2.476	0.248	33.65
6	38.000	614.7	59	Aragonita (CaCO3)	37.880	1 1 2	2.366	0.277	30.34
7	38.750	320.0	17	Aragonita (CaCO3)	38.600	2 2 2	2.322	0.485	17.35
8	41.300	133.3	13	Aragonita (CaCO3)	41.180	2 1 1	2.184	0.392	21.63
9	43.050	213.3	23	Aragonita (CaCO3)	42.900	2 2 0	2.099	0.275	31.04
10	45.950	673.3	94	Aragonita (CaCO3)	45.840	2 2 1	1.973	0.242	35.64
11	48.550	353.3	42	Aragonita (CaCO3)	48.320	041	1.874	0.316	27.59
12	50.350	296.0	31	Aragonita (CaCO3)	50.220	1 3 2	1.811	0.299	29.34
13	52.550	586.0	41	Aragonita (CaCO3)	52.460	1 1 3	1.740	0.327	27.06

3. Parametros Estruturais (Williamson-Hall)

Tamanho de Cristalito (D_WH)	54.62 nm
Microdeformação (epsilon)	0.1599 %
Intercepto W-H	0.0025
Qualidade do ajuste (R^2)	0.1216
Picos usados (hkl): 0 1 1, 0 1 2, 0 0 2, 1 2 2, 1 0 2, 1 1 2, 2 2 2, 2 1 1, 2 2 0, 2 2 1, 041, 1 3 2, 1 1 3	

4. Propriedades Mecanicas Estimadas

Tamanho de Cristalito Médio (D_med)	54.62 nm
Microdeformação (epsilon)	0.1599 %
Densidade de Discordâncias (rho)	2.03e+14 m^-2
Tensão de Escoamento (sigma_y)	273.69 MPa
Dureza (HV)	83.7 HV
Módulo de Cisalhamento (G)	32.69

5. Graficos DRX e Williamson-Hall (Aragonita (CaCO3))

APÊNDICE F – RELATÓRIO DRX: BULIMULUS TENUISSIMUS – CONTROLE

Relatorio de Analise DRX e Propriedades Mecanicas

1. Identificacao Automatica de Fase (Ranking)

Fase Candidata	Matches (Picos)	Erro Medio 2theta (deg)
Calcita (CaCO3) <PRINCIPAL>	8	0.119

2. Tabela de Picos Identificados (Exp vs Ref)

#	2theta_exp	Int_exp	Int_ref	Fase Prov	2theta_ref	hkl	d_A	FWHM_deg	D_Scherr_nm
1	23.300	233.3	8	Calcita (CaCO3)	23.100	1 1 0	3.815	0.203	40.05
2	29.600	4022.0	100	Calcita (CaCO3)	29.460	2 1 1	3.016	0.160	51.28
3	31.650	927.3	5	Calcita (CaCO3)	31.520	2 2 2	2.825	0.166	49.73
4	36.200	278.0	22	Calcita (CaCO3)	36.040	10-1	2.479	0.194	43.07
5	39.600	435.3	27	Calcita (CaCO3)	39.500	2 1 0	2.274	0.209	40.38
6	43.350	326.0	18	Calcita (CaCO3)	43.240	2 0 0	2.086	0.215	39.84
7	47.700	1374.0	28	Calcita (CaCO3)	47.620	3 3 2	1.905	0.230	37.82
8	48.650	593.3	27	Calcita (CaCO3)	48.620	3 2 1	1.870	0.239	36.47

3. Parametros Estruturais (Williamson-Hall)

Tamanho de Cristalito (D_WH)	62.38 nm
Microdeformação (epsilon)	0.0855 %
Intercepto W-H	0.0022
Qualidade do ajuste (R^2)	0.4184
Picos usados (hkl): 1 1 0, 2 1 1, 2 2 2, 10-1, 2 1 0, 2 0 0, 3 3 2, 3 2 1	

4. Propriedades Mecanicas Estimadas

Tamanho de Cristalito Médio (D_med)	62.38 nm
Microdeformação (epsilon)	0.0855 %
Densidade de Discordâncias (rho)	9.52e+13 m^-2
Tensão de Escoamento (sigma_y)	178.90 MPa
Dureza (HV)	54.7 HV
Módulo de Cisalhamento (G)	28.85

5. Graficos DRX e Williamson-Hall (Calcita (CaCO3))

APÊNDICE G – RELATÓRIO DRX: BULIMULUS TENUISSIMUS – 1ª SEMANA

Relatorio de Analise DRX e Propriedades Mecanicas

1. Identificacao Automatica de Fase (Ranking)

Fase Candidata	Matches (Picos)	Erro Medio 2theta (deg)
Calcita (CaCO3) <PRINCIPAL>	8	0.024

2. Tabela de Picos Identificados (Exp vs Ref)

#	2theta_exp	Int_exp	Int_ref	Fase Prov	2theta_ref	hkl	d_A	FWHM_deg	D_Scherr_nm
1	23.150	225.3	8	Calcita (CaCO3)	23.100	1 1 0	3.839	0.253	32.07
2	29.450	3224.7	100	Calcita (CaCO3)	29.460	2 1 1	3.031	0.197	41.74
3	31.500	602.7	5	Calcita (CaCO3)	31.520	2 2 2	2.838	0.197	41.98
4	36.050	263.3	22	Calcita (CaCO3)	36.040	1 0 -1	2.489	0.232	36.07
5	39.500	366.7	27	Calcita (CaCO3)	39.500	2 1 0	2.280	0.235	35.86
6	43.250	306.0	18	Calcita (CaCO3)	43.240	2 0 0	2.090	0.239	35.75
7	47.600	1169.3	28	Calcita (CaCO3)	47.620	3 3 2	1.909	0.268	32.36
8	48.550	567.3	27	Calcita (CaCO3)	48.620	3 2 1	1.874	0.252	34.59

3. Parametros Estruturais (Williamson-Hall)

Tamanho de Cristalito (D_WH)	40.98 nm
Microdeformação (epsilon)	0.0368 %
Intercepto W-H	0.0034
Qualidade do ajuste (R^2)	0.0829
Picos usados (hkl): 1 1 0, 2 1 1, 2 2 2, 1 0 -1, 2 1 0, 2 0 0, 3 3 2, 3 2 1	

4. Propriedades Mecanicas Estimadas

Tamanho de Cristalito Médio (D_med)	40.98 nm
Microdeformação (epsilon)	0.0368 %
Densidade de Discordâncias (rho)	6.23e+13 m^-2
Tensão de Escoamento (sigma_y)	154.27 MPa
Dureza (HV)	47.2 HV
Módulo de Cisalhamento (G)	28.85

5. Graficos DRX e Williamson-Hall (Calcita (CaCO3))

APÊNDICE H – RELATÓRIO DRX: BULIMULUS TENUISSIMUS – 2ª SEMANA A

Relatorio de Analise DRX e Propriedades Mecanicas

1. Identificacao Automatica de Fase (Ranking)

Fase Candidata	Matches (Picos)	Erro Medio 2theta (deg)
Calcita (CaCO3) <PRINCIPAL>	7	0.206

2. Tabela de Picos Identificados (Exp vs Ref)

#	2theta_exp	Int_exp	Int_ref	Fase Prov	2theta_ref	hkl	d_A	FWHM_deg	D_Scherr_nm
1	23.400	182.7	8	Calcita (CaCO3)	23.100	1 1 0	3.799	0.262	31.02
2	29.650	3130.7	100	Calcita (CaCO3)	29.460	2 1 1	3.011	0.183	44.93
3	31.750	888.0	5	Calcita (CaCO3)	31.520	2 2 2	2.816	0.187	44.25
4	39.700	340.0	27	Calcita (CaCO3)	39.500	2 1 0	2.269	0.229	36.89
5	43.450	250.7	18	Calcita (CaCO3)	43.240	2 0 0	2.081	0.237	36.16
6	47.800	1100.0	28	Calcita (CaCO3)	47.620	3 3 2	1.901	0.246	35.27
7	48.750	469.3	27	Calcita (CaCO3)	48.620	3 2 1	1.866	0.263	33.12

3. Parametros Estruturais (Williamson-Hall)

Tamanho de Cristalito (D_WH)	41.00 nm
Microdeformação (epsilon)	0.0302 %
Intercepto W-H	0.0034
Qualidade do ajuste (R^2)	0.0360
Picos usados (hkl): 1 1 0, 2 1 1, 2 2 2, 2 1 0, 2 0 0, 3 3 2, 3 2 1	

4. Propriedades Mecanicas Estimadas

Tamanho de Cristalito Médio (D_med)	41.00 nm
Microdeformação (epsilon)	0.0302 %
Densidade de Discordâncias (rho)	5.11e+13 m^-2
Tensão de Escoamento (sigma_y)	144.48 MPa
Dureza (HV)	44.2 HV
Módulo de Cisalhamento (G)	28.85

5. Graficos DRX e Williamson-Hall (Calcita (CaCO3))

APÊNDICE I – RELATÓRIO DRX: BULIMULUS TENUISSIMUS – 2ª SEMANA B

Relatorio de Analise DRX e Propriedades Mecanicas

1. Identificacao Automatica de Fase (Ranking)

Fase Candidata	Matches (Picos)	Erro Medio 2theta (deg)
Calcita (CaCO3) <PRINCIPAL>	8	0.034

2. Tabela de Picos Identificados (Exp vs Ref)

#	2theta_exp	Int_exp	Int_ref	Fase Prov	2theta_ref	hkl	d_A	FWHM_deg	D_Scherr_nm
1	23.100	206.7	8	Calcita (CaCO3)	23.100	1 1 0	3.847	0.288	28.15
2	29.400	3074.7	100	Calcita (CaCO3)	29.460	2 1 1	3.036	0.229	35.79
3	31.500	412.7	5	Calcita (CaCO3)	31.520	2 2 2	2.838	0.242	34.08
4	36.050	272.7	22	Calcita (CaCO3)	36.040	1 0 -1	2.489	0.251	33.24
5	39.500	426.7	27	Calcita (CaCO3)	39.500	2 1 0	2.280	0.254	33.21
6	43.200	341.3	18	Calcita (CaCO3)	43.240	2 0 0	2.092	0.262	32.55
7	47.550	1050.7	28	Calcita (CaCO3)	47.620	3 3 2	1.911	0.293	29.66
8	48.550	565.3	27	Calcita (CaCO3)	48.620	3 2 1	1.874	0.278	31.31

3. Parametros Estruturais (Williamson-Hall)

Tamanho de Cristalito (D_WH)	32.37 nm
Microdeformação (epsilon)	0.0030 %
Intercepto W-H	0.0043
Qualidade do ajuste (R^2)	0.0007
Picos usados (hkl): 1 1 0, 2 1 1, 2 2 2, 1 0 -1, 2 1 0, 2 0 0, 3 3 2, 3 2 1	

4. Propriedades Mecanicas Estimadas

Tamanho de Cristalito Médio (D_med)	32.37 nm
Microdeformação (epsilon)	0.0030 %
Densidade de Discordâncias (rho)	6.53e+12 m^-2
Tensão de Escoamento (sigma_y)	83.78 MPa
Dureza (HV)	25.6 HV
Módulo de Cisalhamento (G)	28.85

5. Graficos DRX e Williamson-Hall (Calcita (CaCO3))

APÊNDICE J – RELATÓRIO DRX: BULIMULUS TENUISSIMUS – 3ª SEMANA

Relatorio de Analise DRX e Propriedades Mecanicas

1. Identificacao Automatica de Fase (Ranking)

Fase Candidata	Matches (Picos)	Erro Medio 2theta (deg)
Calcita (CaCO3) <PRINCIPAL>	8	0.092

2. Tabela de Picos Identificados (Exp vs Ref)

#	2theta_exp	Int_exp	Int_ref	Fase Prov	2theta_ref	hkl	d_A	FWHM_deg	D_Scherr_nm
1	23.055	141.6	8	Calcita (CaCO3)	23.100	1 1 0	3.855	0.149	54.48
2	29.393	2002.4	100	Calcita (CaCO3)	29.460	2 1 1	3.036	0.122	67.33
3	31.424	304.2	5	Calcita (CaCO3)	31.520	2 2 2	2.844	0.144	57.45
4	35.954	150.4	22	Calcita (CaCO3)	36.040	1 0 -1	2.496	0.191	43.75
5	39.408	227.8	27	Calcita (CaCO3)	39.500	2 1 0	2.285	0.183	46.19
6	43.146	202.7	18	Calcita (CaCO3)	43.240	2 0 0	2.095	0.184	46.39
7	47.493	558.3	28	Calcita (CaCO3)	47.620	3 3 2	1.913	0.211	41.04
8	48.488	282.5	27	Calcita (CaCO3)	48.620	3 2 1	1.876	0.218	40.05

3. Parametros Estruturais (Williamson-Hall)

Tamanho de Cristalito (D_WH)	124.35 nm
Microdeformação (epsilon)	0.1382 %
Intercepto W-H	0.0011
Qualidade do ajuste (R^2)	0.7003
Picos usados (hkl): 1 1 0, 2 1 1, 2 2 2, 1 0 -1, 2 1 0, 2 0 0, 3 3 2, 3 2 1	

4. Propriedades Mecanicas Estimadas

Tamanho de Cristalito Médio (D_med)	124.35 nm
Microdeformação (epsilon)	0.1382 %
Densidade de Discordâncias (rho)	7.71e+13 m^-2
Tensão de Escoamento (sigma_y)	166.05 MPa
Dureza (HV)	50.8 HV
Módulo de Cisalhamento (G)	28.85

5. Graficos DRX e Williamson-Hall (Calcita (CaCO3))

APÊNDICE K – PIPELINE COMPUTACIONAL EM PYTHON

K.1 DESCRIÇÃO GERAL

O pipeline foi desenvolvido em Python para análise semi-automática de difratogramas de raios X, implementando os métodos de Scherrer e Williamson-Hall para extração de parâmetros microestruturais (tamanho de cristalito D, microdeformação ε) e estimativa de propriedades mecânicas via relação de Hall-Petch.

K.2 CONSTANTES E PARÂMETROS UTILIZADOS

Parâmetro	Valor	Descrição
λ (Cu Kα)	1,5406 Å	Comprimento de onda da radiação
K (Scherrer)	0,9	Fator de forma
Tolerância 2θ	0,35°	Para matching de picos
C (discordâncias)	16,0	Constante para cálculo de densidade
Prominência mínima	0,5%	Detecção de picos
Separação mínima	0,12°	Entre picos

K.3 PRINCIPAIS FUNÇÕES IMPLEMENTADAS

```python
import numpy as np
import pandas as pd
from scipy.signal import find_peaks
from scipy.optimize import curve_fit

# Constantes
WAVELENGTH = 1.5406 # Cu Kα (Angstrom)
SCHERRER_K = 0.9
DISLOC_C = 16.0

def lorentzian(x, I, mu, sigma):
    """Função Lorentziana para ajuste de picos de difração."""
    return I / (1 + ((x - mu) / sigma) ** 2)

def calcular_fwhm(x_data, y_data):
    """Calcula a Largura à Meia Altura (FWHM) por ajuste Lorentziano."""
    x = np.array(x_data)
    y = np.array(y_data)

    if len(x) < 5 or np.nanmax(y) <= 0:
        return None

    try:
        I_est = np.max(y) - np.min(y)
        mu_est = x[np.argmax(y)]
```

```
        sigma_est = max((x[-1] - x[0]) / 4.0, 0.05)

        popt, _ = curve_fit(lorentzian, x, y, p0=[I_est, mu_est,
sigma_est], maxfev=8000)
        fwhm_deg = 2 * abs(popt[2])

        return float(fwhm_deg)
    except Exception:
        return None

def metodo_scherrer(fwhm_rad, theta_rad):
    """Calcula tamanho de cristalito pelo método de Scherrer.

    D = (K * λ) / (β * cos θ)
    """
    D = (SCHERRER_K * WAVELENGTH) / (fwhm_rad * np.cos(theta_rad))
    return D

def metodo_williamson_hall(fwhm_values, theta_values):
    """Aplica o método de Williamson-Hall.

    β cosθ = (Kλ/D) + (4ε senθ)

    Retorna:
        D: tamanho médio do cristalito (Å)
        ε: microdeformação
        R²: qualidade do ajuste linear
    """
    beta_cos_theta = fwhm_values * np.cos(theta_values)
    four_sin_theta = 4 * np.sin(theta_values)

    # Regressão linear
    slope, intercept = np.polyfit(four_sin_theta, beta_cos_theta, 1)

    epsilon = slope
    D = (SCHERRER_K * WAVELENGTH) / intercept if intercept != 0 else
np.nan

    # Cálculo do R²
    y_pred = intercept + slope * four_sin_theta
    ss_total = np.sum((beta_cos_theta - np.mean(beta_cos_theta)) ** 2)
    ss_res = np.sum((beta_cos_theta - y_pred) ** 2)
    r_squared = 1 - (ss_res / ss_total) if ss_total > 0 else 0

    return D, epsilon, r_squared

def hall_petch(D_nm, sigma_0=50, k=0.5):
    """Estima tensão de escoamento pela relação de Hall-Petch.

    σy = σ0 + k * D^(-1/2)
    """
    D_m = D_nm * 1e-9
    sigma_y = sigma_0 + k * (D_m ** (-0.5))
    return sigma_y

def densidade_discordancias(epsilon, D_nm, b_nm=0.35):
    """Calcula densidade de discordâncias.

    ρ = (2√3 * ε) / (b * D)
    """
    b_m = b_nm * 1e-9
```

```
    D_m = D_nm * 1e-9

    if D_m > 0 and not np.isnan(epsilon):
        rho = (2 * np.sqrt(3) * epsilon) / (b_m * D_m)
        return rho
    else:
        return np.nan

def detectar_picos(intensidade, two_theta, step,
min_prominence_frac=0.005,
                   min_peak_sep_deg=0.12, max_peaks=20):
    """Detecta picos de difração automaticamente."""
    max_int = np.nanmax(intensidade)
    prominence = max_int * min_prominence_frac
    min_distance = max(1, int(round(min_peak_sep_deg / step)))

    indices, _ = find_peaks(intensidade, prominence=prominence,
distance=min_distance)

    if len(indices) > max_peaks:
        # Ordenar por intensidade e manter os mais intensos
        intensidades_picos = intensidade[indices]
        indices_ordenados = indices[np.argsort(intensidades_picos)[::-1]]
        indices = np.sort(indices_ordenados[:max_peaks])

    return indices
```

K.4 BIBLIOTECAS UTILIZADAS

Biblioteca	Versão	Finalidade
NumPy	≥1.21.0	Cálculos numéricos e operações matriciais
Pandas	≥1.3.0	Manipulação e análise de dados
SciPy	≥1.7.0	Detecção de picos e ajuste de curvas
Matplotlib	≥3.4.0	Geração de gráficos (difratogramas, Williamson-Hall)
FPDF	≥1.7.2	Geração de relatórios em PDF