A woman with dark hair, wearing a white lab coat with blue trim, is looking through a black and white compound microscope. She is smiling slightly. The background is a warm orange color with a faint network of orange lines and dots. The text is in white on the right side.

Atividades de Pesquisa em Biotecnologia e Nanociências

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Atividades de Pesquisa em Biotecnologia e Nanociências

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Executiva: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Natália Sandrini
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof.ª Dr.ª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof.ª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof.ª Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof.ª Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
A872	Atividades de pesquisa em biotecnologia e nanociências [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-435-1 DOI 10.22533/at.ed.351192506 1. Biotecnologia. 2. Nanotecnologia. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da. CDD 553.7
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Quando utilizamos o termo Biotecnologia estamos mencionando um conceito na verdade muito antigo, porém extremamente atual e futurista. A muito tempo a humanidade se utiliza dos processos biotecnológicos para a obtenção de novos produtos, todavia o avanço da tecnologia em todos os seus aspectos tem oferecido estratégias e ferramentas altamente eficientes para maximizar a obtenção desses produtos essenciais para a subsistência do homem.

A revolução tecnológica contribuiu grandemente com a evolução no campo da pesquisa básica e aplicada e as descobertas propiciadas por tecnologias mais apuradas possibilitaram um entendimento mais profundo dos mecanismos moleculares gerando cada vez mais novas perspectivas.

Tudo isso culminou em investimentos públicos e privados, favorecendo o desenvolvimento principalmente de regiões onde a tecnologia é priorizada. Todavia outras regiões também tem crescido e avançado à medida que investem esforços em patentes, aplicações comerciais e prestação de serviços especializados. Assim, destacamos a importância desta literatura aqui publicada, haja vista a diversidade de capítulos que abordam temas e conceitos atuais das nanociências aplicadas.

São diversas as possibilidades de aplicações biotecnológicas em diversos campos, neste livro tentaremos otimizar os conceitos biotecnológicos e das nanociências abordando potencialidades de aplicação da biotecnologia no campo da saúde, nutrição, farmacologia, toxicologia e biologia molecular que têm atraído o interesse de pesquisadores, da indústria, investidores privados e empreendedores e muitos outros visionários.

Nosso profundo desejo é que esta obra seja o “ponta-pé” inicial para que outros livros nessa mesma perspectiva possam ser elaborados pela comunidade científica do nosso país. Parabenizamos cada autor pela teoria bem fundamentada aliada à resultados promissores, e principalmente à Atena Editora por permitir que o conhecimento seja difundido e disponibilizado para que acadêmicos e docentes tenham em mãos material fundamentado nessa área tão promissora.

Benedito Rodrigues da Silva Neto

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
AVALIAÇÃO SENSORIAL E MICROBIOLÓGICA NA PRODUÇÃO DE GELEIA TIPO EXTRA DE MANGA COM CRAVO-DA-ÍNDIA	
Raul Felipe de Queiroz Freitas	
Dauany de Sousa Oliveira	
João Paulo do Rêgo Bezerra Travassos	
Pedro Victor Crescêncio de Freitas	
Sinthya Kelly Queiroz Moraes	
Jonnathan Silva Nunes	
Maria Eduarda Dantas Cândido	
Maria Mikalele da Silva Fernandes	
Alfredina dos Santos Araújo	
Maíra Felinto Lopes	
DOI 10.22533/at.ed.3511925061	
CAPÍTULO 2	11
AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE SORVETE DE MANGA A BASE DE KEFIR ELABORADO COM DIFERENTES TIPOS DE EDULCORANTES	
João Paulo do Rego Bezerra Travassos	
Wisla Kívia de Araújo Soares	
Larissa da Silva Santos Pinheiro	
Alfredina dos Santos Araújo	
Katiane Araújo do Bomfim	
Pedro Victor Crescêncio de Freitas	
Dauany de Sousa Oliveira	
Francisco Bruno Ferreira de Freitas	
Gloria Louine Vital da Costa	
Gleyson Batista de Oliveira	
Ranyelly Wellen Florentino de Oliveira	
Ayla Dayane Ferreira de Sá	
DOI 10.22533/at.ed.3511925062	
CAPÍTULO 3	20
COMO AS TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR AVANÇAM A PESQUISA SOBRE REGENERAÇÃO EM PLANÁRIAS?	
Reginaldo Ramos de Lima	
Benedito R. Da Silva Neto	
DOI 10.22533/at.ed.3511925063	
CAPÍTULO 4	26
ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA FARINHA DE CASCAS DO LIMÃO TAHITI	
Katia Davi Brito	
Emmanuel da Paixão Neto	
Antonio Jackson Ribeiro Barroso	
Flavia Cristina dos Santos Lima	
Henrique Bruno Lima de Oliveira	
DOI 10.22533/at.ed.3511925064	

CAPÍTULO 5	33
ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO SENSORIAL DE BARRA DE CEREAL ADICIONADA COM SEMENTE DE MORINGA (<i>Moringa oleífera Lam.</i>)	
Thamires Queiroga dos Santos Ana Paula Costa Câmara Maíra Felinto Lopes Hozana Maria de Figueiredo Silva Robson Rogério Pessoa Coelho Fabrício Alves de Moraes	
DOI 10.22533/at.ed.3511925065	
CAPÍTULO 6	40
ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DO USO DE DIFERENTES ADOÇANTES SOBRE AS CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS DE BOLOS TIPO ESPONJA	
Alba Valéria de Oliveira Barbosa	
DOI 10.22533/at.ed.3511925066	
CAPÍTULO 7	49
FARMACOGENÉTICA E CÂNCER DE MAMA: PESQUISA INTEGRATIVA	
Marília Silva Marques Benedito R. Da Silva Neto	
DOI 10.22533/at.ed.3511925067	
CAPÍTULO 8	63
INFLUÊNCIA DE REGULADORES DE CRESCIMENTO NA DIFERENCIAÇÃO CELULAR <i>IN VITRO</i> DE EXPLANTES FOLIARES DE PEQUIZEIRO (<i>Caryocar brasiliense</i>)	
Bruno Henrique Gomes Ana Paula Caetano Procópio Mariane Rabelo Coelho Fernandes Maristela Mota Moraes Carolina de Souza Misawa Paula Guimarães Rabelo Mariana Gonçalves Mendes Ana Paula Oliveira Nogueira	
DOI 10.22533/at.ed.3511925068	
CAPÍTULO 9	73
INFLUÊNCIA DA SONICAÇÃO NO TAMANHO DE GOTÍCULA DE NANOEMULSÕES CONTENDO EXTRATO DE <i>Physalis Peruviana</i>	
Suelen Santos da Silva Maiara Taís Bazana Cristiane de Bona da Silva César Augusto Bizzi Cristiano Ragagnin de Menezes Cristiane Franco Codevilla	
DOI 10.22533/at.ed.3511925069	

CAPÍTULO 10	83
PRODUÇÃO DA ALGA <i>Scenedesmus subspicatus</i> UTILIZANDO EFLUENTE BRUTO DE ABATEDOURO DE AVES COMO MEIO ALTERNATIVO DE CULTIVO	
Elizabeth Venialgo Hotz da Silva Luis Fernando Souza Gomes Raquel Stroher Francieli Fernandes de Assis	
DOI 10.22533/at.ed.35119250610	
CAPÍTULO 11	86
NANOTUBOS DE CARBONO – UMA REVISÃO SOBRE PROPRIEDADES, APLICAÇÕES E ASPECTOS TOXICOLÓGICOS	
Carolina Alvarenga Turini Paula Cristina Batista de Faria	
DOI 10.22533/at.ed.35119250611	
CAPÍTULO 12	99
MEMBRANA DE ULTRAFILTRAÇÃO MODIFICADA COM DIÓXIDO DE TITÂNIO PARA REMOÇÃO DE NITRATO PRESENTE EM SOLUÇÃO AQUOSA	
Eduarda Freitas Diogo Januário Taynara Basso Vidovix Natália de Camargo Lima Beluci Nicole Novelli do Nascimento Angélica Marquetotti Salcedo Vieira Rosângela Bergamasco	
DOI 10.22533/at.ed.35119250612	
SOBRE O ORGANIZADOR	115

AVALIAÇÃO SENSORIAL E MICROBIOLÓGICA NA PRODUÇÃO DE GELEIA TIPO EXTRA DE MANGA COM CRAVO-DA-ÍNDIA

Raul Felipe de Queiroz Freitas

Universidade Federal de Campina Grande, UFCG
Pombal - Paraíba

Dauany de Sousa Oliveira

Universidade Federal de Campina Grande, UFCG
Pombal - Paraíba

João Paulo do Rêgo Bezerra Travassos

Universidade Federal de Campina Grande, UFCG
Pombal - Paraíba

Pedro Victor Crescêncio de Freitas

Universidade Federal de Campina Grande, UFCG
Pombal - Paraíba

Sinthya Kelly Queiroz Morais

Universidade Federal de Campina Grande, UFCG
Pombal - Paraíba

Jonnathan Silva Nunes

Universidade Federal de Campina Grande, UFCG
Pombal - Paraíba

Maria Eduarda Dantas Cândido

Universidade Federal de Campina Grande, UFCG
Pombal - Paraíba

Maria Mikalele da Silva Fernandes

Universidade Federal de Campina Grande, UFCG
Pombal - Paraíba

Alfredina dos Santos Araújo

Universidade Federal de Campina Grande, UFCG
Pombal - Paraíba

Maíra Felinto Lopes

Universidade Federal de Campina Grande, UFCG
Pombal - Paraíba

RESUMO: A geleia de manga é uma excelente opção de acompanhamento nas mais diversas refeições. A adição do cravo-da-índia em sua formulação tem como finalidade aumentar mais ainda suas qualidades sensoriais através de suas características. Este trabalho teve como objetivo, analisar sensorialmente e microbiologicamente geleias produzidas a partir da polpa da manga adicionadas de diferentes concentrações de cravo, divididos em CPO, CME e CMU. Para as análises microbiológicas foram realizadas as análises de coliformes a 35°C e a 45°C, contagem de UFC.g⁻¹ para Bolores e Leveduras, por fim a identificação da presença ou ausência de Salmonella. Para as análises sensoriais foram realizados as análises por escala hedônica com 9 pontos, teste de ordenação das amostras em relação a concentração de cravo, além da intenção dos provadores em relação à compra das geleias. Todas apresentaram resultados muito positivos quanto às análises microbiológicas, ausência de coliformes 35 e 45°C, e baixa contagem de colônias para bolores e leveduras. Das formulações CME foi menos aceita em relação aos atributos sensoriais e em relação à intenção de consumo. A análise dos componentes principais reforçou o resultado obtido pela escala hedônica, correlacionando atributos e a concentração de cravo. A adição do cravo não beneficiou as geleias.

PALAVRAS-CHAVE: doce de manga; novos produtos; *Syzygium aromaticum* L.; Tommy Atkins

SENSORY AND MICROBIOLOGICAL EVALUATION IN THE PRODUCTION OF EXTRA TYPE JELLY OF MANGO WITH CLOVE

ABSTRACT: Mango jam is an excellent option to accompany the most diverse meals. The addition of clove in its formulation aims to further increase their sensory qualities through its characteristics. This work had as objective, to analyze sensorially and microbiologically jellies produced from the pulp of the mango added of different concentrations of clove, divided into CPO, CME and CMU. For the microbiological analyzes, coliforms were analyzed at 35°C and at 45°C, counting of UFC.g⁻¹ for Molds and Yeasts, finally the identification of the presence or absence of Salmonella. For the sensorial analyzes were performed by hedonic scale with 9 points, test of ordering of the samples in relation to the clove concentration besides the intention of the tasters in relation to the purchase of the jellies. All presented very positive results regarding microbiological analyzes, absence of coliforms 35 and 45 ° C, and low counts of colonies for molds and yeasts. Of the formulations, CME was less accepted in relation to the sensorial attributes and in relation to the intention of consumption. The analysis of the main components reinforced the result obtained by the hedonic scale, correlating attributes and the concentration of clove. The addition of the clove did not benefit the jellies.

KEYWORDS: mango candy; new products; *Syzygium aromaticum* L.; Tommy Atkins

INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor de frutas no mundo e a região Nordeste se sobressai, especialmente, na produção de manga, uva, banana, goiaba, coco e acerola. A região do Vale do São Francisco, é tida como uma das predominantes áreas produtoras e exportadoras de manga do país. A produção atingiu 350 mil toneladas em 2005, colaborando para a performance nacional, tal qual a exportação cresceu 12,99% e atingiu US\$ 72 milhões (BASF, 2006). Além do Brasil ser um dos maiores exportadores de manga in natura, o uso da fruta na industrialização de produtos ainda é insignificante (FARAONI, 2009).

A manga (Tommy Atkins) é uma fruta de aroma e cor agradável, pertencente à família Anacardiaceae, que integra o elenco das frutas tropicais de importância econômica (MELO, 2011). É uma fruta tropical de grande aceitação pelos consumidores, devido suas características, composição exótica e nutricional, e apresenta percentual energético superior ao da maçã e da laranja, além de conter importantes fontes de pró-vitamina A (caroteno), vitamina B2 (riboflavina), vitamina B3 (niacina) e vitamina C (MACIEL, 2009). Além disso, sua polpa é muito utilizada para fabricação de doces,

geleias, néctares, sucos puros ou com misturas, sorvetes, entre outros produtos (MARTINS, 2013).

A Resolução CNNPA (Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos) nº12 de 1978 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), definem geleia de fruta como o produto obtido pela cocção, de frutas, inteiras ou em pedaços, polpa ou suco de frutas, com açúcar e água e concentrado até consistência gelatinosa. Poderá ser adicionado de glicose ou açúcar invertido. Não pode ser colorido e nem aromatizado artificialmente. É tolerada a adição de acidulantes e de pectina para compensar qualquer deficiência no conteúdo natural de pectina ou de acidez da fruta. As geleias devem apresentar-se sob o aspecto de bases gelatinosa, de consistência tal, que quando extraídas de seus recipientes, sejam capazes de se manterem no estado semi-sólido (BRASIL, 1978).

A preocupação mundial com a saúde tem causado mudanças nos hábitos alimentares da população, agregando seu interesse pelo valor nutritivo presente nos alimentos processados e exigindo das indústrias produtos de boa qualidade, entretanto espera-se que as propriedades benéficas ao ser humano e as características sensoriais sejam preservados ao máximo (MACIEL, 2009). Diante disso, houve o interesse de formular as geleias adicionadas de uma especiaria, como o cravo-da-índia, verificando a sua aceitação por parte dos consumidores.

O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry) é a gema floral seca sendo utilizado principalmente como condimento na culinária, possui odor fortemente aromático, sabor ardente e característico, conferido por um composto fenólico volátil, o Eugenol (OLIVEIRA,2016). Pesquisas têm apontado as propriedades antibacterianas e antifúngicas das especiarias in natura, seus óleos essenciais e seus extratos. Inúmeras plantas são utilizadas para aromatizar alimentos desta maneira sendo apontadas por indicarem atividade antimicrobiana, por exemplo, o cravo-da-índia (SILVESTRI, 2015).

O presente trabalho teve como objetivo a elaboração de três formulações de geleia de manga condimentada com cravo-da-índia com diferentes concentrações, com a intenção de satisfazer as necessidades e o paladar do consumidor. Além da elaboração, foram realizadas análises sensoriais com base no julgamento dos provadores, assim como, análises microbiológicas para verificar a sua segurança.

MATERIAL E MÉTODOS

• Obtenção das matérias primas

As Mangas (Tommy Atkins.) e o cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry), foram adquiridos no mercado local de da cidade de Pombal-PB, durante a safra de 2018. As mangas foram pré-selecionadas, dispostas em caixas gradeadas de papelão e estavam sob temperatura ambiente. Já o cravo era disposto de forma moída e à granel, comercializado de forma personalizada para o consumidor.

• Processamento do fruto

Os frutos foram transportados para o setor de processamento de alimentos do Centro Vocacional Tecnológico, vinculado junto a Universidade Federal de Campina Grande, campus Pombal, onde foram selecionados para tornar o lote mais uniforme quanto ao estágio de maturação e eliminar aqueles que apresentavam injúrias mecânicas ou podridões. Em seguida, os frutos selecionados foram lavados e sanitizados em solução de hipoclorito de sódio contendo cloro ativo (50 mg.L^{-1}), por 15 minutos. A polpa da manga foi obtida por meio do despulpamento manual com auxílio de facas devidamente esterilizadas, onde foi descartado os caroços e suas cascas, e para obtenção da polpa do fruto utilizou-se liquidificador doméstico.

• Formulação e produção da geleia

A polpa foi submetida à fervura com água na proporção 1:1, durante 20 minutos. Depois, ocorreu a adição de 50% do peso do suco em açúcar e 1,2% de pectina comercial. A concentração do produto foi realizado em tacho aberto, depois de 30 minutos de cocção foi adicionado as diferentes concentrações de cravo para as diferentes caldeiras de manipulação, logo em seguida o pH foi ajustado com adição de solução de ácido cítrico 50%, até obter um pH por entre 3,0 a 3,4 quando a concentração do produto estiver em torno de 60°Brix . Em seguida a concentração continua até atingir 66°Brix . O produto é então envasado a quente em potes de vidro, e seguidos de fechamento hermético (RAMOS; DE SOUSA; BENEVIDES, 2004), as amostras foram codificadas da seguinte forma pouco concentrado (CPO), médio concentrado (CME) e muito concentrado (CMU), como descrito no fluxograma da Figura 1.

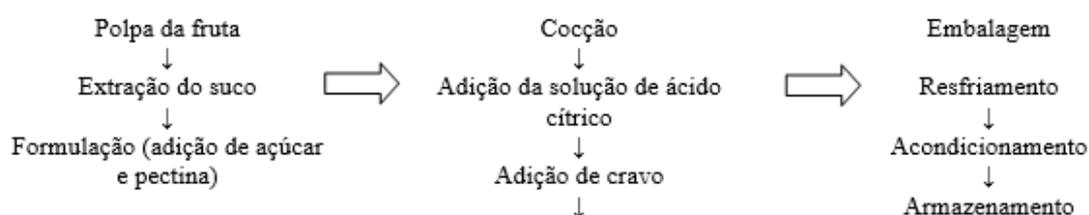


Figura 1. Fluxograma de produção das geleias.

Encontram-se na Tabela 1 as três formulações submetidas as análises.

Geleias	Polpa	Água	Açúcar	Pectina	Ácido Cítrico	Cravo
CPO	32	32	32	1,2	1,3	0,75
CME	32	32	32	1,2	1,3	1,5
CMU	32	32	32	1,2	1,3	2,25

Tabela 1 - Formulação das geleias (valores expressos em porcentagem %)

• Avaliação microbiológica

A caracterização microbiológica foi realizada por recomendação da Resolução - CNNPA nº 12, de 1978. Foi feita determinação do número de unidades formadoras de colônias por grama (UFC g⁻¹) de bolores e leveduras, número mais provável por grama de amostra (NMP g⁻¹) de coliformes a 35°C e a 45°C, e verificação da presença de *Salmonella* spp.

Para a determinação de Coliformes a 35°C utilizou-se o método de tubos múltiplos, onde cada diluição foi semeada em três tubos, empregando-se inicialmente o caldo Lauril Sulfato Triptose para a realização do teste presuntivo. Transferiu-se uma alíquota dos tubos que apresentaram turvação e/ou bolhas para a realização do teste confirmativo com o meio Caldo Verde Bile Brilhante (CVBB). Na quantificação dos coliformes a 45°C, seguiu-se empregando o Caldo *Escherichia coli* (Caldo EC).

Para a identificação de *Salmonella* sp foi utilizada a metodologia por Blodgett (2006), para a avaliação de Bolores e leveduras foi utilizada a metodologia sugerida por Da Silva et al. (2017), em seu livro de manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.

• Análise sensorial

As amostras CPO (adição de 0,75% de cravo), CME (adição de 1,5% de cravo) e CMU (adição de 2,25% de cravo) das geleias foram submetidas à avaliação sensorial no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Federal de Campina Grande, avaliadas por um painel composto de 100 provadores não treinados, na faixa etária de 17 a 41 anos. As amostras foram avaliadas quanto à aceitabilidade da textura, cor, sabor, aroma e impressão global do produto por meio da escala hedônica de 9 pontos, onde a escala vai de 1 ponto que significa “desgostei muitíssimo” a 9 pontos que significa “gostei muitíssimo”. Foi realizado o teste de ordenação entre as três amostras, no intuito do provador ordenar as amostras através dos aspectos sensoriais em relação a sua quantidade de cravo. Foi também avaliada a atitude dos consumidores em relação à compra das geleias, caso a mesma estivesse à venda, por meio de uma escala de ação de 5 pontos (OLIVEIRA et al., 2016).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apresentar os resultados, analisando e discutindo os diversos aspectos de interesse.

Na Tabela 2 estão expressas as médias dos resultados encontrados nas amostras de cada local, para as análises de NMP de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C, teste presuntivo de *Escherichia Coli* sp., *Salmonella* sp. e contagem de bolores e leveduras em UFC/g.

AMOSTRA	Coliformes a 35°C NMP/g	Coliformes a 45°C NMP/g	<i>Escherichia Coli</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.	Bolores e leveduras UFC/g
CPO	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	3,3
CME	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	0
CMU	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	5
Legislação	<102	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	<103

Tabela 2 – Resultados da análise microbiológica das formulações de geleia após o envase.

Todas as análises microbiológicas apresentaram resultado satisfatório em relação ao descrito pela legislação vigente (BRASIL, 1978), mostrando que durante a execução do experimento, foram seguidas as instruções das boas práticas de fabricação, a higiene adequada das mãos, bancadas e equipamentos pode diminuir o risco de contaminação dos alimentos por *Escherichia Coli* e outras bactérias (ABREU, 2011). Tal resultado pode ser explicado pela grande quantidade de energia térmica transferida às geleias durante o processamento, em altas temperaturas a maioria dos microrganismos tem suas proteínas desnaturadas ocasionando na morte celular. Alguns fungos apresentam alta resistência térmica, a alta termo resistência dos ascósporos de *Byssoschlamys*, por exemplo, pode ser explicada pela quantidade de ácidos graxos de cadeia longa, a presença de esporos provavelmente deve ter ocasionado o crescimento de fungos (BANNER et al., (1979); SALOMÃO (2002).

Kato et al. (2013) avaliando a qualidade de doces de frutas agroindustriais do norte do Paraná e Brasil et al. (2016) avaliando a qualidade microbiológica de geleias comercializadas em beira de estrada no estado de Rondônia, observaram que o produto encontrava-se apto ao consumo humano.

Estão presentes na Tabela 3, os valores médios dos atributos sensoriais avaliados para as respectivas formulações, seguido de seus desvios padrões amostrais.

AMOSTRA	Aparência	Cor	Odor	Textura	Sabor	Aceitação global
CPO	6,14 ± 1,90 a	6,2 ± 1,85 a	6,4 ± 1,76 a	6,83 ± 1,48 a	6,18 ± 2,26 a	6,33 ± 1,70 a
CME	6,21 ± 1,73 a	6,1 ± 1,90 a	6,37 ± 1,42 a	6,83 ± 1,48 a	6,6 ± 1,75 a	6,52 ± 1,46 a
CMU	5,8 ± 1,90 a	5,87 ± 1,97 a	6,23 ± 1,70 a	6,3 ± 1,80 a	5,37 ± 2,06 b	5,72 ± 1,75 b

Tabela 3 – Médias para os parâmetros individuais da análise sensorial.

Letras diferentes na mesma linha evidenciam diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Em relação aos atributos observados, não houve diferença significativa ao nível de 5% entre todas as formulações para aparência, cor, odor e textura. Em sabor e aceitação global, CMU diferiu significativamente em relação as outras duas com notas

inferiores. A amostra que obteve a melhor aceitação sensorial foi a formulação com menor concentração de cravo, indicando que a especiaria teve de fato influência sobre os resultados das características sensoriais da geleia. Óleos essenciais embora sejam normalmente uma mistura de vários compostos orgânicos, muitas vezes apresentam um composto majoritário. No extrato bruto de *S. aromaticum*, esse componente é o eugenol ou 4-alil-2-metoxifenol, assim como o β -cariofileno e o acetato de eugenila. Tais compostos tem o poder de conferir sabor amargo característico e aromático, dando ao cravo características sensórias distintas (OLIVEIRA et al., 2009; MAZZAFERA, 2003; AFFONSO et al., 2012).

Dutcosky (2007), relata que para que um produto seja bem aceito em termos sensoriais, deve atingir um índice de aceitabilidade de no mínimo 70%, média igual ou superior a 7,0, O que não foi o caso do presente trabalho, pois todas as médias foram inferiores, o que muito provavelmente pode ser explicado pela presença forte do cravo em todas as formulações, informação está relatada por grande parte dos provadores.

Uma análise preliminar geral dos valores gera a conclusão de que as amostras foram muito próximas tanto nos atributos individuais quanto na interação entre eles, observa-se também um grande valor no desvio padrão de cada um, aproximando-se de 2, sendo superior para CPO e CMU, o que indica que houve uma discrepância em relação de cerca de 1,7 para mais ou para menos nos atributos, mostrando que a presença do cravo tem características únicas e que pode facilmente ser muito agradável como pouquíssimo agradável em relação ao paladar dos provadores em situações extremas.

Na figura 2 está a representação gráfica das médias para os atributos sensoriais em forma de barras, assim como um percentual de provadores que atribuíram nota 7,0 ou superior para determinado atributo. Ressalta-se o baixo índice de aprovação do sabor e aceitação para CMU a qual apresentou média com diferença significativa ao nível de 5% de acordo com o teste de Tukey.

Avaliando a adição de cravo da Índia em embutidos, Scheid (2001) notou que o aumento na concentração de cravo reduzia na aceitabilidade, devido ao sabor amargo conferido, notou também que o parâmetro sabor ácido aumentava em relação ao aumento da concentração. Martins et al. (2013) elaborando geleias com diferentes concentrações de polpa e casca, obtiveram valores superiores aos deste trabalho em relação aos parâmetros sensoriais avaliados, sendo a mais aceita com concentração maior de polpa.

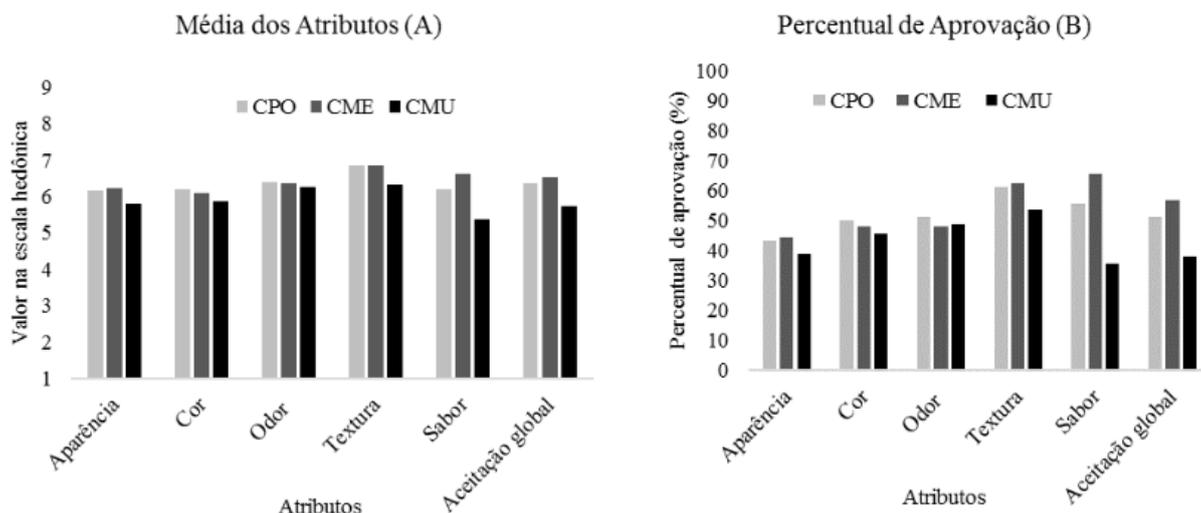


Figura 2. Gráficos da média dos atributos em relação à escala hedônica (A), Percentual de aprovação por parte dos avaliadores (B).

Novamente, CMU mostrou-se com o pior valor, sendo este próximo a 3, classificado como talvez consumisse/talvez não reforçando os resultados para os atributos, além disso diferiu estatisticamente das outras duas ao nível de 5% de acordo com o teste de tukey. A intenção de consumo neste caso não citou preços, dessa forma ficou como critério único a preferência do avaliador em relação à amostra no momento da atribuição da nota.

Metade dos provadores conseguiram distinguir qual das formulações continha menos cravo, os demais inverteram a ordem com as outras duas. Já para as duas concentrações restantes, tanto CME e CMU, menos de 25% dos provadores conseguiu acertar as suas respectivas posições em separado. Isso indica que a partir da concentração intermediária, a identificação da especiaria torna-se difícil e com isso sendo desnecessária a adição de mais cravo às formulações.

CONCLUSÕES

De acordo com os padrões microbiológicos as geleias encontravam-se aptas ao consumo humano.

As formulações de geleia não obtiveram aceitabilidade no que se refere a inserção de cravo, inviabilizando o produto no âmbito comercial, visto que sensorialmente tirou notas médias abaixo de 7,0, tendo em vista que a maioria dos provadores se colocou como indiferente na análise de intenção de consumo.

Os provadores não conseguiam diferenciar com facilidade as formulações mais concentradas, mostrando que não se faz necessária a adição de quantidades maiores que a intermediária para que se consiga atingir o mesmo efeito em uma concentração mais baixa, abrindo uma janela para economia na produção.

REFERÊNCIAS

- ABREU, E.S.; MEDEIROS, F. S.; SANTOS, D. A. Análise microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos do município de Santo André. **Revista Univap**, São José dos Campos SP, v. 17, n. 30, dez. 2011.
- AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANÇA, T. C. C. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. **Rev. Virtual Quim.**, 2012, 4 (2), 146-161, 2012.
- BANNER, M.J.; MATTICK, L.R. & SPLITTSTOESSER, D.F. Chemical composition of the ascospores of *Byssoschlamys fulva*. **Journal of Food Science**, v.44, n.2, p.545-548, 1979.
- BASF, S.A. **Unidades de Produtos para Fruticultura. Frutas para exportação. Atualidades agrícolas: fruticultura o sucesso do Vale São Francisco**, São Bernardo do Campo, n. 6, p.16-29, jun.2006.
- BRASIL, C. A.; VALIATTI, T. B.; FONTES, R. M. S.; GÓIS, R. V. Avaliação microbiológica de geleias caseiras comercializadas às margens da br 364 no estado de Rondônia. **C&D-Revista Eletrônica da Fainor**, Vitória da Conquista, v.9, n.2, p.194-202, jul./dez. 2016
- BRASIL. **Resolução CNNPA n. 12, de 1978 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Normas Técnicas Especiais**. Diário Oficial da União, República Federativa do Brasil. Brasília, 23 de julho de 1978.
- DA SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R., OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5ª. ed. São Paulo- SP: Blucher, 2017. P.87-88
- DE OLIVEIRA, R. A.; REIS, T. V.; DO SACRAMENTO, C. K.; DUARTE, L. P.; DE OLIVEIRA, F. F. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Rev. Bras. Farmacogn.** 2009, 19, p.771
- DUTCOSKY, S.D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 2. ed. Curitiba: Champagnat, 2007. 239 p.
- FARAONI, A. S.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P.C. Caracterização da manga orgânica cultivar Ubá. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 11, n. 1, p. 9-14, 2009.
- KATO, T.; RIBEIRO, K. P.; BORDONAL, V. C.; SILVA, M. B. R.; OLIVEIRA, A. F.; SEIBEL, N. F. Avaliação da qualidade de doces de frutas agroindustriais do norte do Paraná. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. v.15, n.2, p.173-182, 2013.
- MACIEL, M.I. S.; Melo, E. A.; LIMA, V. L. A. G.; SILVA, W. S.; MARANHÃO, C. M. C.; SOUZA, K. A. Características sensoriais e físico-químicas de geleias mistas de manga e acerola. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de alimentos**, v. 27, n. 2, 2009.
- MARTINS, S. A.; ARRUDA, L. C. S.; OLIVEIRA, G. G.; PINTO, D. M. Elaboração e análise microbiológica, sensorial e físico-química de geleia produzida com diferentes concentrações de polpa e casca de manga. **Ver. Conexão Online**. n. 10 p.140-148, 2013
- MARTINS, S.A.; ARRUDA, L. C. S.; OLIVEIRA, G.G.; PINTO, D. M. Elaboração e análise microbiológica, sensorial e físico-química de geleia produzida com diferentes concentrações de polpa e casca de manga. **Revista Eletrônica do Univag**, n.10, p. 140-148, 2013.
- MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Rev. Bras. Bot.** 2003, 26, 231.
- MELO, E. A.; ARAÚJO, C. R. Mangas das variedades espada, rosa e Tommy atkins: compostos

bioativos e potencial antioxidante. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, 2011.

OLIVEIRA, M. M. T.; BRAGA, T. R.; PINHEIRO, G. K.; SILVA, L. R.; VIEIRA, C. B.; TORRES, L. B. V. Parâmetros físico-químicos, avaliação microbiológica e sensorial de geleias de laranja orgânica com adição de hortelã. **Revista de la Facultad de Agronomía**, La Plata, v. 115, n. 1, p. 29-34, jul. 2016.

OLIVEIRA, M. S.; PEREIRA, D. S.; COSTA, W. A.; BEZERRA, F. W. F.; MENEZES, T. O. A.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, S. H. M.; CARVALHO JR, R. N. Avaliação da atividade antimicrobiana de óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzyium aromaticum*) obtido com CO₂ em fase supercrítica. In Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: **Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 25., 2016, Gramado. Anais... Gramado: SBCTA Regional, 2016.

RAMOS, A.; M.; DE SOUSA, P. H. M.; BENEVIDES, S. D. TECNOLOGIA DA INDUSTRIALIZAÇÃO DA MANGA. **Manga - Produção Integrada, Industrialização e Comercialização**, Viçosa-MG, p. 571-604, ago. 2004.

SALOMÃO, B. C. M. **Isolamento, identificação e estudo da resistência térmica de fungos filamentosos termorresistentes em produtos de frutas**. 99f. Dissertação (Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos) - Universidade Federal De Santa Catarina. 2002.

SCHEID, G. A. **Avaliação sensorial e físico-química de salame tipo italiano com diferentes concentrações de cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllus*)**.94f. Tese (Programa de Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa. 2001.

TORREZAN, R. **Manual para a produção de geleias de frutas em escala industrial**. Rio de Janeiro: EMBRAPA - CTAA, 1998. 27 p.

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE SORVETE DE MANGA A BASE DE KEFIR ELABORADO COM DIFERENTES TIPOS DE EDULCORANTES

João Paulo do Rego Bezerra Travassos

Universidade Federal de Campina Grande (CCTA,
Campus Pombal)
Pombal- Paraíba

Wisla Kívia de Araújo Soares

Universidade Federal de Campina Grande (CCTA,
Campus Pombal)
Pombal- Paraíba

Larissa da Silva Santos Pinheiro

Universidade Federal de Campina Grande (CCTA,
Campus Pombal)
Pombal- Paraíba

Alfredina dos Santos Araújo

Universidade Federal de Campina Grande (CCTA,
Campus Pombal)
Pombal- Paraíba

Katiane Araújo do Bomfim

Universidade Federal de Campina Grande (CCTA,
Campus Pombal)
Pombal- Paraíba

Pedro Victor Crescêncio de Freitas

Universidade Federal de Campina Grande (CCTA,
Campus Pombal)
Pombal- Paraíba

Dauany de Sousa Oliveira

Universidade Federal de Campina Grande (CCTA,
Campus Pombal)
Pombal- Paraíba

Francisco Bruno Ferreira de Freitas

Universidade Federal de Campina Grande (CCTA,
Campus Pombal)

Pombal- Paraíba

Gloria Louine Vital da Costa

Universidade Federal de Campina Grande (CCTA,
Campus Pombal)
Pombal- Paraíba

Gleyson Batista de Oliveira

Universidade Federal de Campina Grande (CCTA,
Campus Pombal)
Pombal- Paraíba

Ranyelly Wellen Florentino de Oliveira

Universidade Federal de Campina Grande (CCTA,
Campus Pombal)
Pombal- Paraíba

Ayla Dayane Ferreira de Sá

Universidade Federal de Campina Grande (CCTA,
Campus Pombal)
Pombal- Paraíba

RESUMO: O sorvete é um alimento muito consumido no mundo, possuindo grande mercado a ser explorado. Os consumidores buscam produtos inovadores, de qualidade com características sensoriais e nutricionais similares ou melhores que os sorvetes tradicionais. Entre a grande variedade de alimentos funcionais, considerável atenção tem sido dada às bactérias probióticas, inclusive a aplicação de concentrados protéicos de soro e produtos lácteos fermentados por Kefir devido a alegação dos benefícios à saúde pela presença

de microrganismos probióticos. Nos sorvetes, os edulcorantes adoçam, controlam o ponto de fusão e congelamento, a viscosidade da mistura melhora a capacidade de batimento do mix. O presente estudo teve como objetivo a elaboração de três sorvetes de manga a base de Kefir adoçado com diferentes tipos de edulcorantes. Os grãos de Kefir foram inoculados no leite e incubados em estufa de circulação de ar sob temperatura controlada de 30 °C por 24 horas. Posteriormente o sorvete foi elaborado e a mistura obtida foi congelada em freezer convencional com temperatura de -10 °C por 24 horas. Os valores para o teor de proteínas e sólidos solúveis estão dentro do preconizado pelo regulamento tornando um produto consideravelmente com valor nutritivo.

PALAVRAS-CHAVE: Inovação, Biotecnologia, Funcionalidade.

PHYSICO-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF KEGIR-BASED MANGO SORVETE BASED WITH DIFFERENT TYPES OF SWEETENERS

ABSTRACT: Ice cream is a very consumed food in the world, possessing great market to be explored. Consumers are looking for innovative, quality products with sensory and nutritional characteristics similar to or better than traditional ice creams. Considerable attention has been paid to probiotic bacteria, including the application of serum protein concentrates and fermented dairy products by Kefir due to claims of health benefits from the presence of probiotic microorganisms. In ice creams, sweeteners sweeten, control the melting and freezing point, the viscosity of the blend improves the mixing ability of the mix. The present study had as objective the elaboration of three sorbets of mangoes based on Kefir sweetened with different types of sweeteners. The Kefir grains were inoculated in the milk and incubated in an air circulating oven under controlled temperature of 30°C for 24 hours. Subsequently, the ice cream was prepared and the obtained mixture was frozen in a freezer with a temperature of -10 °C for 24 hours. The values for the protein content and soluble solids are within the recommended by the regulation making a product with considerable nutritive value.

KEYWORDS: Innovation, Biotechnology, Functionality

1 | INTRODUÇÃO

O sorvete é um alimento muito consumido no mundo todo, possuindo grande mercado a ser explorado. Os consumidores de sorvete buscam produtos inovadores, de qualidade com características sensoriais e nutricionais similares ou melhores que os sorvetes tradicionais. Sendo assim, para as indústrias, o desenvolvimento de produtos que atendam a essa demanda é de suma importância (SOUZA et al, 2010).

De acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Sorvetes (ABIS) o consumo de sorvete de 2003 até 2010 cresceu cerca de 63%, com um consumo de 1117 milhões de litros consumidos só no ano de 2010, mostrando que o mercado de sorvetes no Brasil está em constante crescimento (ABIS, 2011).

Entre a grande variedade de alimentos funcionais, considerável atenção tem sido dada às bactérias probióticas e a produtos que contêm esses microrganismos (MORAES; COLLA, 2006). Inclusive a aplicação de concentrados proteicos de soro e produtos lácteos fermentados por Kefir devido a alegação dos benefícios à saúde pela presença de micro-organismos probióticos (MENRAD, K. 2003).

Os efeitos benéficos dos probióticos ao organismo incluem equilíbrio bacteriano intestinal, controle dos níveis de colesterol, ação em diarreias e redução do risco de desenvolvimento de câncer, produção de vitaminas e aumento da resposta imune, aumento da absorção de minerais, alívio da constipação e redução da intolerância à lactose (SAIER; MANSOUR, 2005; FRUET et al., 2014). A possibilidade de fornecer aos consumidores produtos funcionais passa por condicionar a presença de compostos que podem incrementar a proporção daqueles que exibem efeitos benéficos e, ainda, limitar o conteúdo de causadores de implicações à saúde.

A manga da variedade Tommy Atkins é uma fruta tropical muito consumida in natura, mas pouco explorada industrialmente, seja desidratada, ou como geleia, doce, suco, entre outros. O Brasil por ser um dos maiores produtores desta fruta, torna viável sua industrialização visando maior aproveitamento e diminuindo as perdas de produção (CALISTO; SILVA, 2013). Essa cultivar possui características importantes como cor da casca atraente, alta produtividade e vida pós-colheita longa além de fornecer aos consumidores nutrientes necessários (PEREIRA, 2009).

O adoçante mais comum que se conhece é o açúcar ou, mais corretamente, a sacarose, uma vez que são inúmeros os compostos naturais que recebem essa denominação genérica de “açúcar”. Já foram propostas várias classificações de edulcorantes em sorvetes. Edulcorantes são substâncias com a capacidade de adoçar alimentos. Nos sorvetes, os edulcorantes adoçam, controlam o ponto de fusão e congelamento, a viscosidade da mistura melhora a capacidade de batimento do mix e ajudam a ressaltar os aromas (Edulcorantes em sorvetes, 2018). Cada edulcorante é composto por características específicas de intensidade, persistência do gosto doce e presença ou não de gosto residual. Além disso, tais características podem se modificar em função de suas concentrações (DE MARCHI, MCDANIEL, BOLINI 2009).

Dentre os adoçantes naturais, o mais utilizado atualmente é a stévia, que possui um grande poder adoçante, cerca de 300 vezes maior que a sacarose, não produz cáries e é isento de calorias (ABDEL-RAHMAN, ANYANGWE, CARLACCI, 2011). Já a sucralose, é obtida pela cloração da sacarose, de forma seletiva nas posições 4,1' e 6' da molécula do açúcar. Tem um poder adoçante 600 vezes maior que a sacarose em solução a 5% e é, também, isenta de calorias (SUPLICY, 2011).

O presente estudo teve como objetivo a elaboração de três sorvetes de manga a base de Kefir adoçado com diferentes tipos de edulcorantes, a fim de trazer um produto inovador para o mercado consumidor com muitos benefícios nutricionais unidos a tecnologia de alimentos conferindo qualidade sensorial.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos ingredientes

Os frutos da manga e os edulcorantes foram obtidos no centro comercial da cidade de Pombal - PB, bem como leite UHT usado para a fermentação dos grãos de Kefir. Ambos foram levados para o Centro Vocacional Tecnológico, da Universidade Federal de Campina Grande, campus Pombal – PB para realização do processamento

Formulações e processamento dos sorvetes

Para a elaboração dos sorvetes foram utilizadas as seguintes formulações, descritas na tabela 1:

Ingredientes	Formulações (g)		
	Sacarose	Sucralose	Stévia
Edulcorantes	250	12, 8	2,5
<i>Leite fermentado</i>	600	600	600
Polpa de manga	250	250	250
Emulsificante	20	20	20
Liga neutra	10	10	10

Tabela 1: Ingredientes para as três formulações dos sorvetes de manga.

Fonte: Autor

Os grãos de Kefir foram inoculados no leite e incubados em estufa de circulação de ar sob temperatura controlada de 30 °C por 24 horas antes da elaboração do sorvete. Uma vez atingido o tempo de fermentação, iniciou-se o processamento, realizou-se a sanitização e extração da polpa da manga para realização e pesou-se nas proporções descritas na Tabela 1.

Foi adicionado em um recipiente os ingredientes de cada formulação com uma homogeneização prévia para distribuição uniforme dos ingredientes. Posteriormente, a mistura foi submetida ao processo de batimento e aeração, com auxílio de uma batedeira elétrica provida de movimentos circulares. Com o ar incorporado à mistura, esta foi congelada em freezer convencional com temperatura de -10 °C por 24 horas dando origem aos sorvetes.

Análises físico-químicas

Foram feitas análises físico-químicas de acidez titulável (mg/g), sólidos solúveis totais (°Brix) e proteínas (%), de acordo com a descrição de metodologias da AOAC (2006), e pH, segundo o INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005).

Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a Instrução Normativa N.º 36, de 31 de outubro de 2000 onde estabelece parâmetros para gelados comestíveis e produtos para o preparo de gelados comestíveis preconizando a exigência de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Salmonella sp* e *Escherichia coli* (Silva, 2017).

Análises Estatísticas

Os resultados das análises físico-químicas para as formulações do sorvete de manga, foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com significância de 5 % de significância (Segtowitz et al., 2013), com o auxílio do software estatístico Sisvar (Rocha et al., 2012).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Gelados Comestíveis (2000), os valores para o teor de proteínas encontraram-se dentro do preconizado pelo regulamento de no mínimo 2,5%, ainda para o teor de proteínas, as três formulações não diferiram entre si ao nível de 5% de significância. As proteínas são de grande importância para a qualidade do sorvete, pois influencia no batimento, emulsificação e melhorando a textura e estrutura (SILVEIRA et al., 2009). Contribuem também nas propriedades funcionais tais como a interação com outros estabilizantes, estabilização da uma emulsão depois da homogeneização, contribuição para a formação da estrutura do gelado e capacidade de retenção de água, que melhora viscosidade da mistura. Podem contribuir também para o aumento do tempo de derretimento do sorvete e para redução de formação do gelo (SOUZA, 2010).

A seguir, na Tabela 2 demonstram-se os resultados para as análises físico-químicas do sorvete de manga.

Formulações	pH	°Brix	Acidez titulável (%)	Proteínas (%)
Sorvete com adição de <u>sacarose</u>	4,97 a	32,6 a	0,93 a	2,59 a
Sorvete com adição de <u>sucralose</u>	4,76 a	14,4 b	0,92 a	2,67 a
Sorvete com adição de <u>stévia</u>	4,83 a	11,8 b	0,94 a	2,50 a

Tabela 2: Parâmetros físico-químicos para as formulações do sorvete de manga.
 Letras minúsculas iguais não diferiram entre si, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Os sólidos solúveis totais apresentaram uma diferença significativa na formulações com sacarose, quando comparado às outras duas formulações. Sendo o valor de 32,6 °Brix o maior para os sólidos solúveis totais e dentro dos padrões exigidos pela RDC Nº 12 (2001), que permite no mínimo 26 °Brix para sorvetes a base de frutas. As demais formulações apresentaram baixo teor de sólidos solúveis totais.

No pH, não existem valores padrões estabelecidos, mas segundo ROQUE (2000), entre os edulcorantes estudados, a Sucralose é a mais estável. Sua estabilidade dá-se em função da temperatura, do pH e do tempo. O motivo pelo qual o sorvete obteve um pH baixo deve ao leite fermentado utilizado como base, sendo uma característica do kefir.

Nos parâmetros microbiológicos os resultados obtidos do sorvete de manga encontram-se descritos na Tabela 3. Segundo a RDC nº 12 (2001), utilizada como padrão para os parâmetros analisados, verificou que o parâmetro coliforme a 45 °C dos sorvetes elaborados com Sucralose e Stévia, não apresentaram condizentes com o padrão estabelecido, enquanto o sorvete a base de Sacarose apresentou dentro dos padrões. O motivo pelo qual as duas formulações de sorvetes com edulcorantes apresentaram contaminação, pode ter sido ocasionado pelo manuseio inadequado durante o processamento durante a execução da análise.

PARÂMETROS	SACAROSE	SUCRALOSE	STÉVIA	PADRÃO
Coliformes a 35 °C (NMP/g)	3,0	1.100	6,1	-
Coliformes a 45 °C (NMP/g)	<3,0	6,1	6,1	5x10 ¹ (NMP/g)
<i>Salmonella sp. /25g</i>	Presença	Ausência	Ausência	Ausência
<i>Escherichia coli</i>	Presença	Ausência	Ausência	Ausência

Tabela 3: Resultados dos parâmetros microbiológicos para o sorvete de manga a base de Kefir.
 ABREVIATURAS: NMP – Número Mais Provável / UFC - Unidade Formadora de Colônia

O resultado obtido pode ser explicado também pelo valor do pH apresentado na amostra formulada com a adição de sacarose, o qual possivelmente pode ter apontado uma faixa de valor que permite um maior desenvolvimento da microbiota patogênica na amostra. O pH baixo representa um fator intrínseco inibitório para muitos microorganismos, o que seria desejável ao tratar do efeito antimicrobiano do produto frente às bactérias patogênicas (Caetano; Montanhini, 2014). Como as produções dos sorvetes foram feitas de forma isolada e momentos diferentes, a diversidade de microrganismos presentes no ambiente de manipulação pode ter sido alterada.

Na formulação do sorvete com adição de sacarose houve presença de *salmonella*

e *Escherichia coli*, o que pode ser proveniente da não esterilização em autoclave da matéria-prima, a sacarose. Uma vez que o açúcar comercial utilizado não apresentava excelência de qualidade de processamento. Para as demais amostras todos esses parâmetros obtiveram resultados satisfatórios. Assim como os resultados obtidos por WROBEL & TEIXEIRA (2017) ao avaliar microbiologicamente a elaboração sorvete de chocolate com adição de biomassa de banana verde, em Ponta Grossa-Paraná e ARRUDA, OLIVEIRA & OLIVEIRA (2015) avaliando a qualidade microbiológica da elaboração de sorvete tipo iogurte com a adição de microrganismos probióticos.

4 | CONCLUSÃO

O sorvete de manga apresentou ser relativamente nutritivo, levando em conta valores como os de proteínas e o sólidos solúveis para as formulações desenvolvidas. Com relação ao pH estes se mantiveram em valores baixos, tendo em vista a característica do leite fermentado utilizado como base. Corroborando com os dados microbiológicos, o sorvete de manga a base de kefir não está apto para consumo, pois alguns parâmetros não foram condizentes com a legislação, indicando falta de condições higiênicas durante o processamento do produto e execução das análises, sendo de extrema importância serem repetidas em condições ideais.

REFERÊNCIAS

ABDEL-RAHMAN, A. et al. **The safety and regulation of natural products used as foods and food ingredients**. Toxicological Sciences, Orlando, v.123, n.2, p.333-48 2011.

ABIS - Associação Brasileira De Indústrias De Sorvetes. **Sorvete**. 2011. Disponível em: <<http://www.abis.com.br/>>. Acesso em: 17 de maio de 2018.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 18 ed. Washington, 2006.

ARRUDA, Érika Francisquini; OLIVEIRA, Alculúcia; OLIVEIRA, Angelica Dutra. **Avaliação de sorvete tipo iogurte à base de soja com a adição de microrganismos probióticos**. Revista Episteme Transversalis , v. 9, n. 2, p. 1-23, 2015.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001. [acesso 29 de Junho de 2018]. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2009. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 out. 2009.

CAETANO, Danúbia Rodovanski; MONTANHINI, Maike Taís Maziero. **Análise Microbiológica de Leite Fermentado Kefir Produzido com Leite Contaminado por Escherichia Coli**. Rebrapa -Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos, v. 5, n. 1, p. 33-38, nov. 2014.

CALISTO, Sonia M. M.; SILVA, Deise A. **Avaliação Físico-Química e Sensorial da Manga Tommy**

Atkins Submetida à Desidratação. 2012. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2013.

DE MARCHI, R.; MCDANIEL, M.R.; BOLINI, H.M.A. **Formulating a new passion fruit juice beverage with different sweetener systems.** Journal of Sensory Studies, Malden, v.24, n.5, p.698-711, 2009.

EDULCORANTES EM SORVETES. Disponível em http://insumos.com.br/sorvetes_e_casquinhas/materias/100.pdf. Acesso em: 17 de maio de 2018.

FRUET, Ana Paula Burin et al. **Incorporação de fibra alimentar em produtos cárneos.** Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas, Santa Maria, v. 18, p. 11-17, 2014.

IAL, INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4. Ed. São Paulo, v.1, p. 1008, 2005.

MENRAD, K. **Market and marketing of functional food in Europe.** J. Food Engineering, v.56, p. 181-188, 2003.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. **Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde.** Revista Eletrônica de Farmácia, v. 3, n. 2, p. 99-112, 2006.

PEREIRA, Ana Carolina da Silva. **Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante total de frutas tropicais e cítricas produzidas no Ceará.** 2009. Dissertação. (Curso de Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, 2009.

ROCHA, Larissa de Oliveira Ferreira; PIMENTA, Carlos José; REZENDE, Danúbia Aparecida de Carvalho Selvati; OLIVEIRA, Roseane Maria Evangelista. **Avaliação físico-química e sensorial de doce de leite elaborado com extrato hidrossolúvel de soja e soro de leite sabor café.** Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v. 14, n. 3, p. 251-259, jan. 2012.

ROQUE, V.S. **Utilização de Adoçantes e Edulcorantes na Elaboração de Flans para Diabéticos e Obesos.** Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação da Universidade Federal de Viçosa, agosto, 2000.

SAIER JÚNIOR, Milton H.; MANSOUR, Nahla M. **Probiotics and prebiotics in human health.** J Mol Microbiol Biotechnol, v. 10, p. 22-25, 2005.

SILVA, NEUSELY DA et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** 5ª. ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 2017. 560 p.

SILVEIRA, H. G.; QUEIROZ, N. A. S.; NETA, R. S. P.; RODRIGUES, M. C. P.;

COSTA, J. M. C. **Avaliação da Qualidade físico-química e microbiológica de sorvetes do tipo tapioca.** Revista Ciência Agronômica, Fortaleza, v. 40, n 01, p. 60-65. 2009.

SOUZA, J. C. B.; COSTA, M. R.; DE RENSIS, C. M. V. B.; SIVIERI, K. **Sorvete: Composição, Processamento e Viabilidade da Adição de Probiótico.** Alimentos e Nutrição, Araraquara, v. 21, n. 1, p. 153-163, 2010.

SUPLICY, H. **Adoçantes Artificiais.** Revista da ABESO, São Paulo, v.11, n.49, p.13, 2011.

SEGTOEWICK, Edilene Cléa Dos Santos; BRUNELLI, Luciana Trevisan. **Avaliação físico-química e sensorial de fermentado de acerola.** Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, v. 16, n. 2, p. 147-154, jun. 2013.

WROBEL, Aline Martins; TEIXEIRA, Emanuelle Cristina Oliveira. **Elaboração e avaliação sensorial de um sorvete de chocolate com adição de biomassa de banana verde (*Musa spp*)**. 2017. 59 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso Superior de Tecnologia em Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2017.

COMO AS TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR AVANÇAM A PESQUISA SOBRE REGENERAÇÃO EM PLANÁRIAS?

Reginaldo Ramos de Lima

Especialista em Medicina Genômica pelo Instituto Educacional Santa Catarina - IESC, Faculdade Jangada (2019)

Especialista em Biotecnologia e Inovações em Saúde pelo Instituto Educacional Santa Catarina – IESC, Faculdade Jangada (2019)

Graduação em Biomedicina (2015) e em Psicologia Clínica (2009) pelo UniCEUB

Mestrado em Biologia Animal pela UnB (2002)

Graduação em Ciências Sociais, habilitação em Antropologia, pela UnB (1995)

reginaldo.ramosdelima@hotmail.com

Benedito R. Da Silva Neto

Pós-Doutorando em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática. Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pela Universidade Federal de Goiás. Mestrado em Biologia Celular e Molecular. Tem experiência na área de Microbiologia Genômica, Engenharia Genética e Quimioinformática.

Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – IPTSP/UFG
dr.neto@ufg.br

(janeiro de 2009 até dezembro de 2018) com os descritores ‘*planaria*’, ‘*regeneration*’ e ‘*molecular biology*’. São 154 artigos produzidos, incluindo 33 revisões. Ao compararem-se os cinco últimos anos com os cinco primeiros anos, nota-se um crescimento de quase 100%, numa razão de 100:54. Esses números ficam mais expressivos se se considerar apenas os descritores acima, sem a marcação de anos. Obtêm-se 203 artigos, incluindo 42 revisões. Em dez anos, produziram-se aproximadamente três vezes mais do que o período anterior, que se inicia em 1971 e se encerra em 2008, com apenas 49 publicações.

Essas publicações representam um reflexo de uma grande diversidade de temas e técnicas inovadoras, utilizando-se, sobretudo, as espécies de planárias *Schmidtea mediterranea* e a *Dugesia japonica*, modelos de ampla aceitação nas pesquisas sobre os processos biológicos regenerativos, muito bem ilustrados na Figura 1 abaixo.

Os estudos de regeneração tiveram um grande incremento nos últimos cinco anos com o desenvolvimento das técnicas em biologia molecular. Ao examinar-se o número de artigos indexados no PubMed nos últimos dez anos

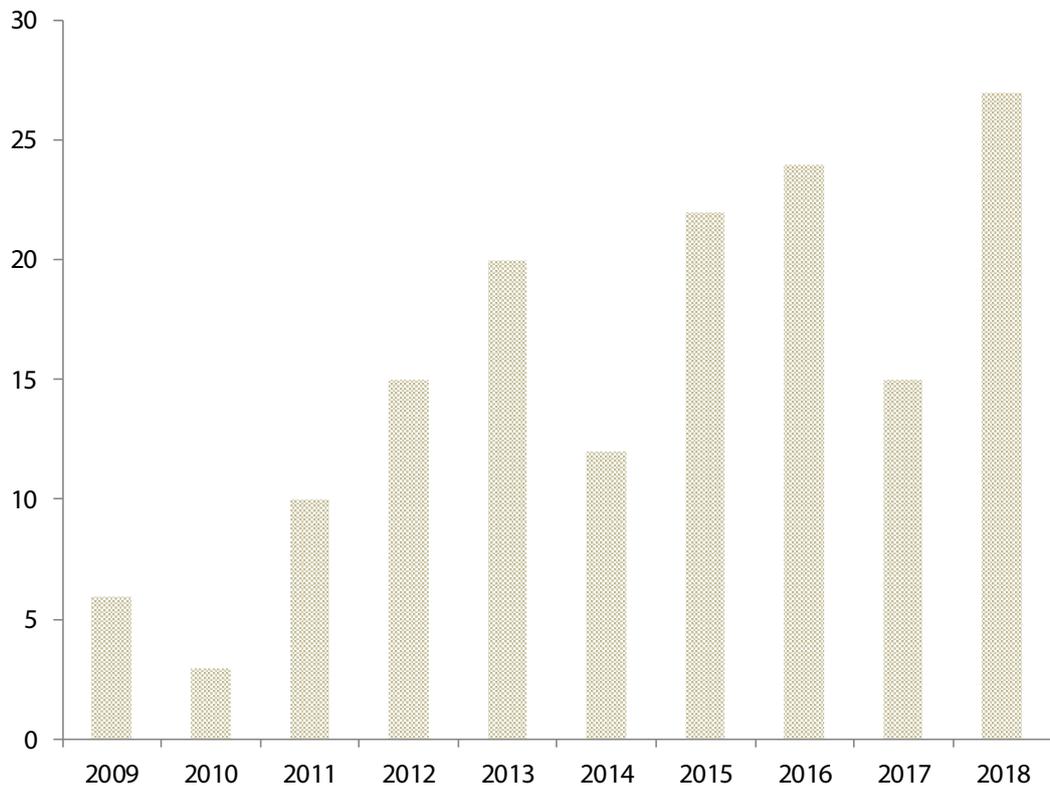


Figura 1. Número de artigos originais, inclusive as revisões (N) por ano, publicadas no período de janeiro de 2009 até dezembro de 2018, veiculados no NCBI, *National Center for Biotechnology Information* (www.ncbi.nlm.nih.gov), quando se usam os descritores 'planaria', 'regeneration' e 'molecular biology'.

O QUE SÃO AS PLANÁRIAS? POR QUE ELAS SÃO MUITO IMPORTANTES COMO MODELOS NO ESTUDO DE REGENERAÇÃO?

As planárias são vermes achatados pertencentes ao Filo Platyhelminthes, Classe Turbellaria, com vida livre e não parasitária¹. A anatomia delas é complexa, dotados dos seguintes sistemas: digestivo, ainda incompleto e primitivo – com as duas modalidades de digestão: intracelular e extracelular, excretor, nervoso e sensorial, este formado pelos ocelos, com capacidade de captação de diferentes estímulos (luminosos, mecânicos e químicos)¹. Os sistemas circulatório e respiratório são ausentes¹. Cabe destacar que o sistema nervoso é composto por um sistema nervoso central e um sistema nervoso periférico, integrados aos demais órgãos e tecidos². Uma nota especial se faz aos dois ocelos (*eyespots*), simétricos bilateralmente, compostos por uma camada de células fotorpigmentadas, absorvedoras da entrada de luz, com geração de potenciais de ação, que são captados pelos neurônios bipolares fotorreceptores, situados opostamente, passam pelo quiasma óptico, dirigindo-se, contralateral e ipsilateralmente, à área visual do cérebro, gânglio cefálico, localizado em cada lado da cabeça da planária^{3,4,5}.

Dotadas de uma elevada capacidade de regeneração, com ampla distribuição de neoblastos em todo o corpo, permitindo que elas regenerem qualquer órgão, ou parte do corpo^{6,7}. Tais condições mencionadas faz da *Schmidtea mediterranea* juntamente

com a *Dugesia japonica* importantes modelos para os estudos de regeneração dos tecidos e órgãos, inclusive com possibilidades do desenvolvimento de aplicações na medicina humana, voltada para a regeneração de tecidos e órgãos⁸. Torna-se imperativo, portanto, entender por que na planária o processo regenerativo é tão amplo, enquanto no homem é limitado, apontando semelhanças e diferenças.

COMO AS TÉCNICAS EM BIOLOGIA MOLECULAR ESTÃO CONTRIBUINDO PARA O AVANÇO DOS ESTUDOS EM REGENERAÇÃO DE PLANÁRIAS?

Uma das questões interessantes nesses estudos de regeneração em planárias é como um órgão readquire sua homeostase morfológica e funcional⁹. Para tanto, as seguintes temáticas de pesquisa são muito relevantes: a expressão gênica e sua regulação¹⁰, a mobilização dos neoblastos e a expressão de genes nos tecidos circundantes às áreas lesionadas^{11,12,13}, o entendimento da polaridade do eixo anteroposterior¹⁴, o papel das principais vias sinalizadoras em todos esses processos regenerativos, exemplificada pela via Wnt¹⁵.

As respostas dessas questões começaram a ser mais bem esclarecidas com o avanço das técnicas de biologia molecular, auxiliadas pelas diversas ferramentas e *softwares* de bioinformática, que deram uma grande contribuição ao sequenciamento genômico da *Schmidtea mediterranea*¹⁶ e imunohistoquímicas¹⁷, têm permitido uma melhor compreensão dos genes atuantes em cada fase do processo regenerativo. Destacam-se dentre várias linhas de pesquisa: as metodologias de inibição do RNA mensageiro (RNAi)¹⁸, a identificação de populações de neoblastos nos tecidos por sequenciamento de RNA (RNA-seq)¹⁹, a análise de células (imunofenotipagem)²⁰ ou por um conjunto de diferentes métodos²¹. Nesses trabalhos, muitas vezes, essas técnicas moleculares são combinadas com métodos histoquímicos, imunohistoquímicos de marcação de células (imunofenotipagem) e tecidos, estatísticos, análises de imagens morfológicas e de bioinformática, auxiliados por análises estatísticas.

Num recente trabalho de revisão, “A ação dos genes e neoblastos na regeneração dos ocelos da planária *Schmidtea mediterranea*”, ainda não publicado pelos autores deste capítulo, fez-se um levantamento dos principais métodos empregados na análise dos genes envolvidos no processo regenerativo dos ocelos da planária *Schmidtea mediterranea*. Cujas referências dos artigos foram publicadas no período de junho de 2008 até junho de 2018, veiculadas no NCBI, *National Center for Biotechnology Information* (www.ncbi.nlm.nih.gov).

A metodologia do nocaute gênico por meio do RNA de interferência (RNAi) teve uma importância na elucidação da função dos 21 genes pesquisados – *ovo*, *six-1*, *six-2*, *eya*, *otxA*, *sp6-9*, *dlx*, *soxB*, *meis*, *klf*, *foxQ2*, *arrestina*, *opsina*, triptófano hidroxilase (*tph*) e tirosina hidroxilase (*th*) e os cinco genes (*a*, *b*, *c*, *d* e *e*) da família *miR-124*^{3,5,9,22,23}. Em razão de se inibir o RNA mensageiro (RNAm) com moléculas complementares de

RNAi, promove-se a inibição da expressão gênica. A análise das alterações inibitórias ocasionadas permite-se compreender o papel do gene em questão. Os estudos de regeneração tiveram um grande avanço com esse método¹⁹. Pode-se citar a descoberta do gene *ovo*, que produz o fator de transcrição ovo+, importante controlador e regulador de todo o processo regenerativo dos ocelos da planária *Schmidtea mediterranea*, desde os estágios iniciais até a diferenciação celular tardia, abrangendo todos os tipos de células: globo ocular e neurônios bipolares fotorreceptores⁵.

Seguiu-se em número, com exceção da pesquisa dos genes da família *miR-124*⁹, o emprego da tradicional técnica do cDNA (DNA complementar). Purificou-se o RNA dos tecidos dos ocelos, gerando-se uma biblioteca de cDNA, com desenho e o emprego de *primers*, antes de prosseguir-se com outras técnicas (RNAi, por exemplo)^{3,5,22}. No trabalho de Lappan; Reddien³, os primers específicos foram desenhados, a partir do banco de dados de sequências expressas (ESTs) e de genes preditos³.

Em menor frequência foram utilizadas as técnicas de análise de PCR em tempo real e qPCR (PCR quantitativo), utilizadas na pesquisa dos genes da família *miR-124*⁹. A análise de transcriptoma foi empregada por quase todos esses estudos, com exceção da publicação de Hubert *et al.*²², na qual a pesquisa do gene da dopa descarboxilase (*ddc*) foi abordada. Neste estudo, empregou-se a técnica de microarrays ou microarranjos²², comparando-se, por meio do software NimbleScan para a análise de microarrays, a expressão gênica tanto no tecido em regeneração como as do lado oposto, sem atividade regenerativa. O sequenciamento de RNA (RNA-seq) somente não foi empregado na análise dos cinco genes da família *miR-124*⁹.

À GUIA DA CONCLUSÃO: PERSPECTIVAS

Na perspectiva discutida acima, pode-se compreender o papel da atual medicina genômica, inovadora em suas ferramentas biotecnológicas, em investigar os genes, quer numa abordagem estrutural, foco do presente capítulo, quer numa abordagem funcional, estas com técnicas proteômicas bastante complexas, elucidando-se as inúmeras redes de interação de proteínas e ação destas em diferentes tecidos, órgãos e sistema do corpo em regeneração. Tais metodologias e tecnologias trazem grandes implicações no aumento do conhecimento sobre os processos regenerativos em planária, desde a regeneração de células, tecidos até a restauração morfológica e fisiológica na organogênese, motivo principal de muitas pesquisas nessa área.

Não deixam de constituírem-se num grande passo para os avanços na medicina regenerativa em humanos, pois muitos genes pesquisados em regeneração de *Schmidtea mediterranea* e *Dugesia japonica* são conservados na espécie humana. Por sua vez, pela facilidade de manipulação desses dois modelos, que ainda carecem de um sequenciamento genômico comparativo, tem-se um ganho em se entender as semelhanças e limitações nos processos de regeneração em outros filos. Além do mais, permitem também um aprimoramento das análises de bioinformática, nas

diversas comparações de similaridades e diferenças de genes em espécies de filos diversos, necessários comumente em estudos de mineração de dados biológicos (genes, proteínas, moléculas complexas) e em análises filogenéticas.

Portanto, em futuro próximo, uma maior compreensão dos processos de envelhecimento de tecidos e órgãos, assim como algumas das patologias acometidas no sistema nervoso e no sistema locomotor, só para citar como exemplos dois sistemas, poderão ser abordadas com novas terapêuticas inovadoras, baseadas na revolução que a biologia molecular está proporcionando ao aumento do conhecimento dos processos de regeneração em planárias.

Quiçá, a degeneração de tecidos acarretada com o passar dos anos, envolvendo diversas patologias limitantes e esteticamente comprometedoras, as doenças neurodegenerativas, como a demência de Alzheimer, as demências vasculares e a demência frontotemporal, as paralisias motoras severas, como a esclerose lateral amiotrófica, a esclerose múltipla e a paralisia cerebral, os vários acometimentos lesionais desde o globo ocular até as áreas do sistema visual no cérebro serão apenas um capítulo de fisiopatologia nos livros de história da medicina.

REFERÊNCIAS

1. Mundo Educação. Platelminotos. Disponível em <https://mundoeducacao.bol.uol.com.br/biologia/filo-platyhelminthes.htm> Acessado em 20/12/2018.
2. Roberts-Galbraith RH, *et al.* A functional genomics screen in planarians reveals regulators of whole-brain regeneration. *eLife* 2016; 5: e17002.
3. Lapan SW, Reddien PW. Dlx and sp6-9 control optic cup regeneration in a prototypic eye. *PLoS Genet* 2011; 7(8): e100226.
4. Deochand ME, Berkholz TR, Beane WS. Temporal regulation of planarian eye regeneration. *Regeneration* 2016; 3(4): 209-221.
5. Lapan SW, Reddien PW. Transcriptome analysis of the planarian eye identifies ovo as a specific regulator of eye regeneration. *Cell Rep* 2012; 2(2): 294-307.
6. Oderberg IM, *et al.* Landmarks in existing tissue at wounds are utilized to generate pattern in regenerating tissue. *Curr Biol* 2017; 27(5): 733-742.
7. Scimone ML, *et al.* Neoblast specialization in regeneration of the planarian *Schmidtea mediterranea*. *Stem Cell Reports* 2014; 3: 339-352.
8. Abril JF, *et al.* Smed454 dataset: unravelling the transcriptome of *Schmidtea mediterranea*. *BMC Genomics* 2010; 11: 731.
9. Sasidharan V, *et al.* The miR-124 family of microRNAs is crucial for regeneration of the brain and visual system in the planarian *Schmidtea mediterranea*. *Development* 2017; 144: 3211-3223.
10. King RS, Newmark PA. In situ hybridization protocol for enhanced detection of gene expression in the planarian *Schmidtea mediterranea*. *BMC Developmental Biology* 2013; 13: 8.

11. Abnave P, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition transcription factors control pluripotent adult stem cell migration in vivo in planarians. *Development* 2017; 144: 3440-3453.
12. Witchley JN, *et al.* Muscle cells provide instructions for planarian regeneration. *Cell Rep* 2013; 4(4): 633-641.
13. Molinaro AM, Pearson BJ. In silico lineage tracing through single cell transcriptome identifies a neural stem cell population in planarians. *Genome Biology* 2016; 17: 87.
14. Beane WS, *et al.* Inhibition of planar cell polarity extends neural growth during regeneration, homeostasis, and development. *Stem Cells and Development* 2012; 21(12): 2085-2094.
15. Gurley KA, *et al.* Expression of secreted Wnt pathway components reveals unexpected complexity of the planarian amputation response. *Dev Biol* 2010; 347(1): 24-39.
16. Robb SNC, *et al.* SmedGD 2.0! The *Schmidtea mediterranea* genome database. *Genesis* 2015; 53(8): 533-546.
17. Evans DJ, *et al.* Combining classical and molecular approaches elaborates on the complexity of mechanisms underpinning anterior regeneration. *PLOS One* 2011; 6(11): e27927.
18. Rouhana L, *et al.* RNA interference by feeding in vitro synthesizes double-stranded RNA to planarians: methodology and dynamics. *Dev Dyn* 2013; 242(6): 718-730.
19. Rodriguez-Esteban G, *et al.* Digital gene expression. Approach over multiple RNA-seq data sets to detect neoblast transcriptional changes in *Schmidtea mediterranea*, *BMC Genomics* 2015; 16: 361.
20. Wolfswinkal JC, Wayner DE, Reddien PW. Single-cell analysis reveals functionally distinct classes within the planarian stem cell compartment. *Cell Stem Cell* 15(3): 326-339.
21. Solina J, *et al.* Defining the molecular profile of planarian pluripotent stem cells using a combinatorial RNA-seq, RNA interference and irradiation approach. *Genome Biology* 2012; 13: R19.
22. Hubert A, *et al.* A functional genomics screen identifies an importin- α homolog as a regulator of stem cell function and time patterning during planarian regeneration. *BMC Genomics* 2015; 16: 769.
23. Lambrus BG, *et al.* Tryptophan hydroxylase is required for eye melanogenesis in the planarian *Schmidtea mediterranea*. *PLoS One* 2015; 10(5): e0127074.

ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA FARINHA DE CASCAS DO LIMÃO TAHITI

Katia Davi Brito

Ensino, Instituto Federal da Paraíba, Campina Grande-PB

katiadout@hotmail.com

Emmanuel da Paixão Neto

Ensino, Instituto Federal da Paraíba, Campina Grande-PB

Antonio Jackson Ribeiro Barroso

Agroindústria, Instituto Federal de Pernambuco, Belo Jardim - PE

Flavia Cristina dos Santos Lima

Agroindústria, Instituto Federal de Pernambuco, Belo Jardim - PE

Henrique Bruno Lima de Oliveira

Engenharia de Minas, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande-PB

RESUMO: As cascas do limão Tahiti como flavedo, albedo e membrana podem ser utilizadas como fontes alternativas de nutrientes para a alimentação humana. O aproveitamento destas para a produção de farinha é uma alternativa viabilizadora e propulsora do ponto de vista ambiental, comercial e nutricional. O objetivo deste trabalho foi elaborar e avaliar os parâmetros físico-químicos da farinha obtida utilizando-se as cascas de limão Tahiti. As cascas do limão foram separadas manualmente da polpa, cortadas em pequenos pedaços de aproximadamente 1 cm e levadas para o secador

com circulação forçada de ar a temperatura de $70 \pm 1^\circ\text{C}$ por 12 horas. Após secagem foram trituradas em liquidificador, peneiradas em uma peneira com malhas de 1mm/16 mesh e armazenadas em temperatura ambiente em embalagens de polietileno herméticas. A farinha de limão foi avaliada quanto aos teores de umidade, pH, açúcares solúveis totais, açúcares redutores, lipídios, proteínas, cinzas, atividade de água, compostos fenólicos, flavonóides, e antocianinas. A farinha de limão apresentou concentrações consideráveis de compostos com características funcionais, que pode ser considerados como fonte alternativa de nutrientes para a produção e valorização de novos produtos ou para a substituição de ingredientes em produtos alimentícios.

PALAVRAS-CHAVE: limão Tahiti, cascas, farinha, parâmetros físico-químicos

PREPARATION AND EVALUATION PHYSICOCHEMICAL OF LEMON BARK FLOUR TAHITI

ABSTRACT: Tahiti lime shells such as flavedo, albedo and membrane can be used as alternative sources of nutrients for human food. The use of these for the production of flour is a viable and propellant alternative from the environmental, commercial and nutritional point of view. The

objective of this work was to elaborate and evaluate the physicochemical parameters of the flour obtained using Tahiti lime shells. The lemon Shells were manually separated from the pulp, cut into small pieces of approximately 1cm and taken into the dryer with forced circulation of air at a temperature of 70 ± 1 °c for 12 hours. After drying, they were crushed in a blender, sifted into a sieve with 1mm/16 mesh meshes and stored at room temperature in airtight polyethylene packaging. Lime flour was evaluated for moisture content, pH, total soluble sugars, reducing sugars, lipids, proteins, ashes, water activity, phenolic compounds, flavonoids, and anthocyanins. Lemon flour showed considerable concentrations of compounds with functional characteristics, which can be considered as an alternative source of nutrients for the production and enhancement of new products or for the substitution of ingredients in Food products.

KEYWORDS: Tahiti lime, bark, flour, physicochemical parameters

1 | INTRODUÇÃO

Vários estudos estão surgindo para a inclusão de ingredientes como as cascas de frutas e vegetais, em diversas preparações culinárias, obtendo boa aceitação sensorial (REIS et al., 2013; SILVA; SILVA, 2012). As cascas são constituídas basicamente por carboidratos, proteínas e pectinas, o que possibilita seu aproveitamento tornando-a uma alternativa viável para resolver o problema da eliminação dos resíduos, além de aumentar seu valor comercial (MIGUEL et al, 2008)

As cascas do limão Tahiti como flavedo, albedo e membrana são ricas em alguns componentes como pectina, ácido ascórbico, citrina, óleos essenciais e fibras, tornando-as como fontes alternativas de nutrientes para a indústria alimentícia, farmacêutica e de rações (DAKHMOUCHE et al., 2006; TRUCOM, 2005).

Uma aplicação potencial para as cascas do limão Tahiti, seria utilizá-las na fabricação de farinhas que pode ser considerada uma alternativa viabilizadora e propulsora do ponto de vista ambiental, comercial e nutricional, devido à praticidade de uso, redução da perecibilidade, além de múltiplas atividades biológicas. Segundo López-Vargas et al. (2013), a elaboração e a caracterização de farinhas, a partir de coprodutos de frutas, têm sido objeto de inúmeros estudos, que apontam boas características nutricionais e potencial para sua aplicação como ingredientes em alimentos.

A farinha de limão constitui-se uma matéria prima de baixo custo com características tecnológicas diferenciadas, podendo ser considerada um ingrediente alternativo na produção de produtos de panificação, como bolos, pães, biscoitos e massas alimentícias, ampliando assim a oferta de novos produtos com alto teor de fibra, tanto para os consumidores sadios, quanto para aqueles que apresentam algumas patologias, tais como a constipação intestinal, alto nível de colesterol, obesidade, entre outras (PEREZ e GERMANI, 2007).

O volume médio de 45% do peso fresco do fruto descartados após processo

do limão Tahiti é bastante considerável, o que evidencia claramente a importância e a necessidade da ampliação e busca de novos conhecimentos relativos ao aproveitamento destes, onde a consequente minimização das perdas, pelo emprego de técnicas adequadas, trará benefícios de grande valia a todos os segmentos da cadeia produtiva.

Considerando o aspecto positivo da obtenção de um produto de interesse comercial, bem como, a disponibilidade de matéria-prima e a redução do impacto negativo ao ambiente, causado pelos resíduos agroindustriais, o aproveitamento das cascas do limão Tahiti para a elaboração da farinha, é uma alternativa considerável, pois agrega valor econômico e possibilita a oferta de novos produtos com alto teor de fibra e com ingredientes de baixo custo para a preparação de produtos com alto valor nutricional. Além de ser uma proposta plausível e concreta, visto que esses resíduos representam extraordinária fonte de materiais considerados estratégicos para algumas indústrias brasileiras.

Logo, o presente trabalho teve por objetivo determinar os parâmetros físico-químicos da farinha obtida com cascas de limão Tahiti como forma de avaliar a qualidade e potencialidade da aplicação, posteriormente, dessas farinhas em derivados alimentícios.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados limões Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka) da produção de pequenos produtores da cidade de Campina Grande, PB. Estes foram levados para o Laboratório de Química do IFPB – Campus Campina Grande onde foram lavados em água corrente e imersos em solução clorada a 10 ppm por 10 minutos. Os mesmos foram enxaguados para a retirada do excesso de cloro. Em seguida, as cascas flavedo, albedo e membrana foram separadas manualmente da polpa, cortadas em pequenos pedaços de aproximadamente 1cm e levadas para o secador com circulação forçada de ar a temperatura de $70 \pm 1^\circ\text{C}$ por 12 horas. Após a secagem, as cascas foram trituradas em liquidificador e em seguida foi feito o peneiramento em malhas com abertura de 1mm/16 mesh para obtenção da granulometria adequada no processo de obtenção da farinha.

Ao final do processo obteve-se uma farinha fina de coloração esverdeada e odor característico que foi acondicionada em embalagens de polietileno com capacidade de 250g, vedadas para evitar a entrada de oxigênio e alteração da umidade, etiquetadas e armazenadas à temperatura ambiente até o momento da realização das análises físico químicas quanto aos teores de umidade, pH, açúcares solúveis totais e redutores, lipídios, proteínas, cinzas e atividade de água, compostos fenólicos, flavonóides e antocianinas.

As análises foram realizadas em triplicata, sendo os parâmetros relacionadas

à umidade, pH, lipídios, proteínas, cinzas e atividade de água conduzidos de acordo com os métodos da AOAC (2012). Os açúcares solúveis totais e açúcares redutores foram obtidos utilizando-se o método de Miller (1959). Os compostos fenólicos foram determinados conforme metodologia descrita por Waterhouse (2002), com leitura em espectrofotômetro digital (Rayleigh, UV-1800), a 750 nm. Os flavonóides e antocianinas foram obtidos de acordo com Francis (1982).

As médias e os respectivos desvio padrão e coeficiente de variação dos parâmetros físico-químicos foram obtidos com o auxílio do software Microsoft Office Excel (2015).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados médios, desvio padrão e coeficiente de variação dos parâmetros físico-químicos da farinha das cascas de limão Tahiti, estão apresentados na Tabela 1.

Parâmetros	Média ± DP	CV (%)
Atividade de água	0,341±0,010	0,03
Umidade	9,324±0,20	0,08
pH	4,63± 0,01	0,01
Açúcares solúveis totais (%)	8,94±0,07	0,01
Açúcares redutores (%)	8,54±0,006	0,001
Cinzas	3,17±0,214	0,07
Lipídios	1,51±0,043	0,03
Proteína	11,87±0,197	0,02
Compostos fenólicos (mg EGA/100g)	1837,81±4,801	0,001
Flavonoides (mg/100g)	174,76±1,92	0,011
Antocianinas (mg/100g)	7,84±0,012	0,001

Tabela 1 – Valores médios, desvio-padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) dos parâmetros físico-químicos da farinha das cascas de limão.

Os valores obtidos para o pH de 4,63 e atividade de água de 0,341, podem ser considerados satisfatórios na preservação da qualidade do produto, uma vez que os mesmos são fatores intrínsecos ao produto e seus baixos níveis dificultam o desenvolvimento de microrganismos e atividades enzimáticas (VASCONCELOS; MELO FILHO, 2010). Quanto ao teor de umidade de 9,324% obtido, pode-se ressaltar que o mesmo, está de acordo com o preconizado pela ANVISA (1978), que estabelece o teor de umidade de farinhas máximo de 15 %. Resultados próximos ao obtido na presente pesquisa foram por descritos Martínez et al. (2012), que obtiveram o percentual de 9,30% para a farinha de casca de maracujá. A umidade também é um parâmetro que deve ser mantido em baixo percentual, para evitar o aparecimento de

microrganismos.

O valor médio obtido para fração glicídica da farinha de limão em termos de açúcares totais de 8,94% está abaixo do valor citado por Castilho et al.(2014) de 9,35% para a farinha das cascas de banana prata verde. Já em relação aos açúcares redutores o percentual de 8,54% obtido estava acima do citado na literatura, que foi de 7,90%.

Em termos dos percentuais de cinzas, lipídios e proteínas, verificou-se que a farinha do limão apresentou baixo teor de lipídeos 1,51 e considerável valor de proteínas 11,87 e cinzas 3,17. Valores próximos aos obtidos nesta pesquisa foram reportados por Souza et al. (2008), para a farinha da casaca do maracujá que obtiveram teores de 1,64 para lipídeos e 11,76 para proteínas, diferindo apenas para as cinzas que foi 8,13. Já Santos et al. (2017), com a farinha das cascas de abacaxi obtiveram 2,14 de lipídeos, 5,54 de proteínas e 4,14 de cinzas. Entretanto, Castilho et al.(2014), trabalhando com a farinha das cascas de banana verde do cultivar prata obtiveram teores de 11,67 para lipídios e 7,10 para proteínas, valores bem diferentes aos obtidos no presente trabalho

Os teores de compostos fenólicos são altos nas farinhas, e o valor de 1837,81 mg de ácido gálico . 100 g⁻¹ obtido para a farinha de limão ratifica tal afirmação, uma vez que é na casca que se encontra maior concentração destes componentes, devido à possível migração para a epiderme dos frutos. Comparando os teores de compostos fenólicos obtidos no presente trabalho com os valores reportados por Storck et al. (2015) para as farinhas do resíduo de laranja (1156 mg 100 g⁻¹) e da uva (1718 mg 100 g⁻¹), verificou-se que os mesmos foram superiores. O que se pode ressaltar, sua importância como efeito antioxidante na alimentação humana.

Os teores de flavonóides de 174,76 mg/100g e antocianinas de 7,84 mg/100g encontrados na farinha de limão, mostraram-se como fontes destes fitoquímicos, podendo ser utilizadas para o enriquecimento de alimentos, uma vez que evidenciam propriedades funcionais anticarcinogênicas, antioxidantes e antivirais (TEIXEIRA et al., 2008). Barbosa et al. (2016), relataram os seguintes teores de antocianinas e flavonóides para a farinha das cascas de maracujá e de acerola (85; 33,40 e 152,94; 111,329140 mg 100 g⁻¹, respectivamente).

4 | CONCLUSÕES

A farinha das cascas de limão Tahiti apresentou-se viável no que diz respeito aos parâmetros físico-químicos avaliados. Podendo ser uma alternativa para a incrementação das matérias primas utilizada no desenvolvimento de novos produtos alimentícios com elevado valor nutricional, uma vez que apresentou concentrações consideráveis de compostos com características funcionais, como proteínas e compostos fenólicos. Além de ser uma proposta plausível e concreta, que trará benefícios de grande valia a todos os segmentos da cadeia produtiva, já que esses

resíduos representam extraordinária fonte de materiais considerados estratégicos para algumas indústrias brasileiras.

5 | AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem às suas respectivas instituições, em especial, ao IFPB – Campus Campina Grande, pelo espaço cedido para a realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS

ANVISA. **AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA**. Resolução CNNPA n. 12 de 1978. Diário Oficial da União, Brasília, 24 de Julho de 1978. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 14 de Setembro de 2018.

AOAC (Association of Official Analytical Chemistry). (2012). **Official methods of analysis**. 19th edn. Gaithersburg.

BARBOSA, T. F.; SANTOS, S. L. A.; CORINGA, E. A. O. **Propriedades físico-químicas e atividade antioxidante de farinhas de frutas**. In: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2016, Gramado. Anais... Gramado_, 2016.

CASTILHO, L. G.; ALCANTARA, B. M.; CLEMENTE, E. **Desenvolvimento e análise físico-química da farinha da casca, da casca in natura e da polpa de banana verde das cultivares maçã e prata**. e-xacta, Belo Horizonte, v. 7, n. 2, p. 107-114. (2014). Editora UniBH.

DAKHMOUCHE, S. D.; AOULMI, Z. G.; BENNAMOUN, Z. M. **Application of a statistical design to the optimization of culture medium for α -amylase production by *Aspergillus niger* ATCC 16404 grown on orange waste powder**. Journal of Food Engineering, v. 73, n. 2, p. 190-197, 2006.

FRANCIS, F.J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. London: Academic Press, 1982. p.181-206.

LÓPEZ-VARGAS, J. H.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; VIUDAMARTOS, M. **Chemical, physico-chemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of dietary fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) co-products** Food Research International, v. 51, p. 756–763, 2013.

MARTÍNEZ, R.; TORRES, P.; MENESES, M.A.; FIGUEROA, J.G.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A.; VIUDAMARTOS, M. **Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate**. Food Chemistry, Berlin, v.135, n.3, p.1520-1526, 2012.

MIGUEL, A. C. A.; ALBERTINI, S.; BEGIATO, G. F.; DIAS, J. R. P. S., SPOTO, M. H. F. **Aproveitamento agroindustrial de resíduos sólidos provenientes do melão minimamente processado**. Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, v.28, n.3, p. 733-737, jul.-set. 2008.

MILLER, G. L. **Use of dinitrosalicylic AID reagent for determination of reducing sugars**. Analytical Chemistry, v.31, p. 4266-4268, 1959.

PEREZ, P. M. P; GERMANI, R. **Elaboração de biscoitos tipo salgado, com alto teor de fibra alimentar, utilizando farinha de berinjela (*Solanum melongena*, L.)**. Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.27, n.1, p.186-92. 2007.

REIS, G. H.; BRANDELERO, F.; PEREIRA, L.; AMARAL, A. Q.; TOREGANI, K.; SILVA, A. A.; VIANA, A.; ZELINSKI, M. **Aproveitamento integral de alimentos e suas contribuições para a educação ambiental dentro da comunidade escolar.** In: COLÓQUIO INTERNACIONAL DA REDE DE PESQUISA EM EDUCAÇÃO AMBIENTAL POR BACIA HIDROGRÁFICA, 1.; ENCONTRO PARANAENSE DE EDUCAÇÃO AMBIENTAL, 14., 2013, Cascavel. Anais... Cascavel: Unioeste, 2013.

SANTOS, C. C. S.; GUIMARÃES, P. B.; RAMOS, S. A.; CAPOBIANO, M. **Determinação da composição centesimal de farinha obtida a partir da casca de abacaxi.** Sinapse Múltipla, Minas Gerais, vol.6, n.2, p.341-344, 2017.

SILVA, E. B; SILVA, E. S. **Aproveitamento integral de alimentos: avaliação sensorial de bolos com coprodutos da abóbora (Cucurbita moschata, L.).** Revista Verde, Mossoró, v. 7, n. 5, p. 121-131, 2012.

SOUZA, M. W. S.; FERREIRA, T. B. O.; VIEIRA, I. F. R. **Composição centesimal e propriedades funcionais tecnológicas da farinha da casca do maracujá.** Alim. Nutri. Araraquara. v.19, n.1, p.33-36, 2008.

STORCK, C. R.; BASSO, C.; FAVARIN, F. R.; RODRIGUES, A. C. **Qualidade microbiológica e composição de farinhas de resíduos da produção de suco de frutas em diferentes granulometrias.** Braz. J. Food Technol., Campinas v. 18, n. 4, p. 277-284, out./dez. 2015.

TEIXEIRA, L. N., STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. **Comparação de métodos para quantificação de antocianinas.** Revista Ceres, v.55, n.4, p. 297-304, 2008.

TRUCOM, C. **Doce Limão.** São Paulo, 2005. Disponível em: <htm.www.docelimao.com.br/limaorigem-variedades>. Acesso em: 22 de setembro de 2018.

VASCONCELOS, M. A. S.; MELO FILHO, A. B. **Conservação dos Alimentos. Programa Escola Técnica Aberta do Brasil (ETEC – Brasil).** Recife: EDUFRPE, 2010, 130 p.

WATERHOUSE, A. L. **Polyphenolics: Determination of total phenolics.** In R. E. Wrolstad (Ed.), Current protocols in food analytical chemistry. New York: John Wiley & Sons. 2002.

ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO SENSORIAL DE BARRA DE CEREAL ADICIONADA COM SEMENTE DE MORINGA (*Moringa oleífera Lam.*)

Thamires Queiroga dos Santos

Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Ciências e tecnologia Agroalimentar
Pombal- Paraíba

Ana Paula Costa Câmara

Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Coordenação do Curso Técnico em Agroindústria (CCTA)
Macaíba – Rio Grande do Norte

Maíra Felinto Lopes

Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Ciências e tecnologia Agroalimentar
Pombal- Paraíba

Hozana Maria de Figueiredo Silva

Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Ciências e tecnologia Agroalimentar
Pombal- Paraíba

Robson Rogério Pessoa Coelho

Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Coordenação do Curso Técnico em Agroindústria (CCTA)
Macaíba – Rio Grande do Norte

Fabrcio Alves de Morais

Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Ciências e tecnologia Agroalimentar
Pombal- Paraíba

RESUMO: As barras de cereal são produtos que utilizam uma diversidade de ingredientes e atendem a vários segmentos de consumidores preocupados com uma vida saudável. A moringa é uma hortaliça arbórea com grande teor de nutrientes, incluindo proteínas e minerais, vitamina C, betacaroteno, propriedades melíferas e leucinas livres. O presente trabalho teve como objetivo a elaboração e avaliação sensorial de barra de cereal com adição de semente de moringa torrada. Os ingredientes utilizados na produção foram flocos de aveia, coco ralado, uva passa, gergelim, castanha de caju, semente de moringa torrada, açúcar demerara, melado de cana e purê de banana. Para a análise sensorial utilizaram-se os testes de aceitação em escala hedônica de 9 pontos, de preferência, e CATA (*Check All That Apply*). Todas as amostras obtiveram valores acima de 80 % de aceitação para todos os atributos analisados, e apenas 6,66 % dos provadores não comprariam duas das formulações estudadas. Os resultados obtidos neste trabalho indicaram que é viável a elaboração de barra de cereal adicionada de semente de moringa torrada.

PALAVRAS-CHAVE: Aceitação; Formulação; Moringa; Tecnologia

ABSTRACT: Cereal bars are products that use a variety of ingredients and serve various segments of consumers concerned about a

healthy lifestyle. Moringa is a tree nut vegetable with high nutrient content, including protein and minerals, vitamin C, beta carotene, honey properties and free leucines. The present work had as objective the elaboration and sensorial evaluation of cereal bar with addition of roasted moringa seed. The ingredients used in the production were oat flakes, grated coconut, raisins, sesame, cashew nuts, toasted moringa seeds, demerara sugar, cane molasses and banana puree. For the sensorial analysis, the acceptance tests in a hedonic scale of 9 points, preferably, and CATA (Check All That Apply) were used. All samples obtained values above 80% acceptance for all attributes analyzed, and only 6.66% of the testers would not buy two of the formulations studied. The results obtained in this work indicated that it is feasible the elaboration of cereal bar added with roasted moringa seed.

KEYWORDS: Acceptance; Formulation; Moringa; Technology.

1 | INTRODUÇÃO

As barras de cereal são produtos que utilizam uma diversidade de ingredientes e atendem a vários segmentos de consumidores preocupados com uma vida saudável (PALAZZOLO, 2003). Os atributos sensoriais somados à procura por benefícios à saúde têm possibilitado o desenvolvimento de barras de cereal com novos ingredientes alimentícios, nutritivos e funcionais (ONWULATA et al., 2000). Apresentam formato retangular e tamanho pequeno, que com o passar dos anos tem se modificado, passando de um produto “duro” e crocante para um produto “macio” e mastigável. Atualmente também é oferecido coberto com chocolate. Os consumidores associam as barras a produtos saudáveis e tem no sabor a principal razão de compra. Os atributos sensoriais de aroma, gosto, textura e aparência também foram citados como importantes para influenciar a intenção de compra dos consumidores (MATSUURA, 2005).

A moringa (*Moringa oleífera* Lam.) é uma hortaliça de crescimento rápido, bastante nutritiva e com capacidade de adaptação a lugares áridos e semiáridos. Suas folhas, frutos verdes e sementes podem ser aproveitados de diversas formas, inclusive na alimentação, devido ao seu alto teor de nutrientes (GASQUI et al., 2014).

Segundo Souza et al. (2015), essa hortaliça arbórea seria o vegetal com maior teor de nutrientes encontrado pelo homem. Por esse motivo, estudos vêm avançando para a inserção da moringa na alimentação humana, visando o aproveitamento de nutrientes encontrados em suas folhas e sementes, nutrientes como a vitamina C, proteínas e minerais, além de propriedades melíferas (alto teor de pólen), betacaroteno e leucinas livres.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo elaborar barras de cereal adicionadas com semente de moringa torradas, avaliar as características sensoriais por meio de testes afetivos (de aceitação e preferência) e um teste descritivo rápido (*Check All That Apply* - CATA). Contribuindo para o desenvolvimento de novos produtos

alimentícios de fácil preparo, aproveitando um fruto regional ainda pouco explorado na alimentação humana e torná-lo uma alternativa promissora na área Agroindustrial.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Elaboração das barras de cereal

Os ingredientes para elaboração das barras foram adquiridos no comércio local do município de Macaíba-RN. As sementes de moringa são originadas das Várzeas de Sousa, do município de Sousa-PB. As sementes antes de ser adicionadas às barras de cereal foram torradas em tachos de inox durante 10 minutos, a temperatura máxima alcançada foi de 70 °C. As formulações foram elaboradas no laboratório de Frutas e Hortaliças do setor da Agroindústria da Escola Agrícola de Jundiáí, utilizou-se a máquina de barra de cereal – nutritive cereal maker da marca Malory. Após resfriamento a temperatura ambiente as barras foram imersas em cobertura de chocolate meio amargo e resfriadas à temperatura ambiente. O acondicionamento ocorreu em recipientes de vidro. A Tabela 1 contém as formulações das barras de cereal produzidas com a semente de moringa torrada e triturada.

INGREDIENTES (g)	BARRA (F1)	BARRA (F2)	BARRA (F3)	BARRA (F4)
Secos				
Flocos de aveia	174	174	174	174
Coco ralado	22	-	22	-
Uva passa	36	36	-	-
Gergelim	30	30	30	30
Castanha de caju	32	32	32	32
Moringa	-	25	25	50
Aglutinadores				
Açúcar demerara	97	97	97	97
Melado de cana	74	74	74	74
Purê de banana	158	158	158	158

Tabela 1 – Formulações das barras de cereal elaboradas.

2.2 Avaliação sensorial

Após atestada a segurança microbiológica com os padrões da RDC nº 12, que determina os padrões microbiológicos para alimentos (cereais compactados, em barra ou outras formas, com ou sem adições), sendo os seguintes micro-organismos investigados: *Bacillus cereus*/g, Coliformes a 45°C e *Salmonella* sp./25 g. (BRASIL 2001).

A análise sensorial ocorreu no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Federal de Campina Grande, *campus* Pombal- PB, com 60 provadores não treinados,

em cabines individuais. As amostras de um terço de barra de cereal (quadrado com 3 cm de lado) pesando 11 g cada, foram apresentadas aos consumidores à temperatura ambiente, com os códigos F1, F2, F3 e F4, servidas em pratos plásticos branco, distribuiu-se uma bolacha e um copo com água para que os provadores limpassem o palato entre uma amostra e outra. Aplicaram-se testes afetivos (de aceitação e preferência) e um teste descritivo rápido (*Check All That Apply* - CATA).

No teste de aceitação utilizou-se escala hedônica estruturada com 9 escores (1 – desgostei muitíssimo a 9- gostei muitíssimo), para os atributos aparência, cor, odor, sabor, textura e aceitação global. No teste de preferência os provadores opinaram em ordem decrescente de preferência. O teste CATA, possuía dezoito atributos dentre os quais os julgadores marcaram todas as palavras ou frases que, em sua opinião, se aplicavam a amostra estudada. Junto com a ficha, os julgadores receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido com todas as informações necessárias acerca do produto.

2.3 Análise estatística dos dados

Para realização da Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey, com os resultados obtidos no teste de aceitação em escala hedônica, utilizou-se o software *Sisvar* 5.6 (FERREIRA, 2014), aplicando o Delineamento em Blocos Completos Casualizados (DBC), para o teste de aceitação, calculou-se o Índice de Aceitabilidade (IA), $IA(\%) = A \times 100/B$, sendo A = nota média obtida e B = nota máxima obtida. Para interpretação dos dados da intenção de consumo, foram realizados cálculos de percentual. Em relação ao teste de preferência, calculou-se o percentual de preferência (amostra mais preferida, intermediária e menos preferida) para cada amostra.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados referentes ao Teste de Aceitação, realizado por meio de escala hedônica de 9 pontos estão apresentados na Tabela 2.

CARACTERÍSTICAS AVALIADAS	FORMULAÇÕES					
	F1	F2	F3	F4	MÉDIA	CV (%)
Aparência	8,05 a	7,67 a	7,97 a	7,92 a	7,90	11,60
Cor	8,03 a	7,80 a	8,13 a	7,93 a	7,98	8,83
Aroma	8,00 a	7,38 b	7,58 ab	7,82 ab	7,70	13,17
Sabor	7,88 a	7,32 b	7,67 ab	7,62 ab	7,62	14,38
Consistência	7,85 a	7,42 a	7,65 a	7,72 a	7,66	12,12
Aceitação Global	8,10 a	7,38 b	7,80 ab	7,77 ab	7,76	12,41

Tabela 2 – Análise Sensorial de barra de cereal com semente de moringa torrada em teste de

aceitabilidade (valores médios).

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente, de acordo com o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Ao observar as médias, os resultados são considerados elevados, consequência da realização do teste com provadores não treinados, minimizando a sensibilidade do mesmo. Todos os aspectos sensoriais avaliados obtiveram médias entre 7 e 8, que corresponde a “Gostei moderadamente” e “Gostei muito” respectivamente na ficha para o teste de aceitação. Os parâmetros aparência, cor e consistência não diferiram estatisticamente, para os atributos aroma, sabor e aceitação global houve diferença significativa. A formulação F4 (50 g de semente de moringa torrada), a todos os atributos avaliados obteve médias próximas à formulação controle (F1 – sem semente de moringa torrada), evidenciando a aceitabilidade dos provadores. Rosmery e Pilar (2017) ao pesquisarem a aceitabilidade de barra de cereal com farinha de moringa, a barra que obteve a melhor aceitação foi à elaborada com 2,5 % de farinha de moringa.

De acordo com a Figura 1, as amostras de barra de cereal com semente de moringa obtiveram resultados satisfatórios em todos os aspectos sensoriais avaliados, com índices de aceitabilidade superiores a 80 %. Segundo Teixeira, Meinert e Barbeta (1987) para que um produto seja considerado como aceito, em termos de suas propriedades sensoriais, é necessário que obtenham um índice de aceitabilidade superior a 70 %.

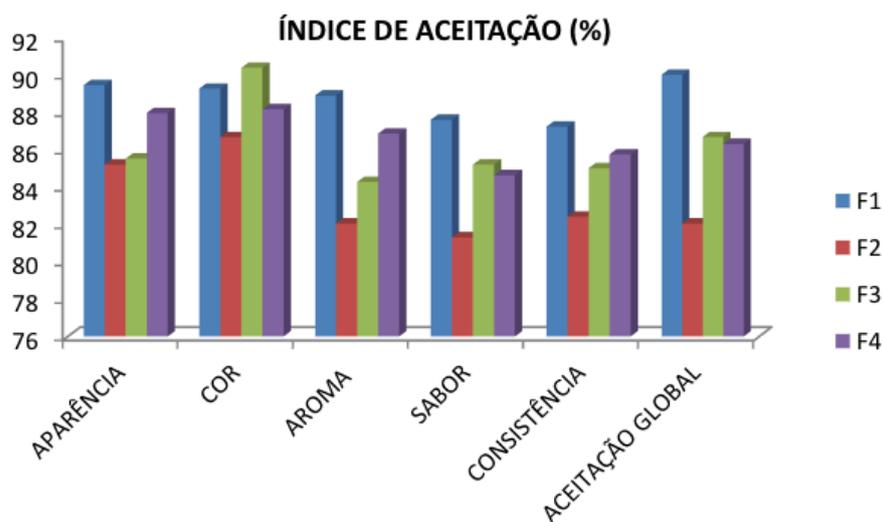


Figura 1 – Índice de Aceitabilidade das diferentes formulações de barra de cereal adicionado da semente de moringa.

A formulação F4 (maior teor de semente de moringa torrada - 50g) foi à barra de cereal preferida por mais de 50 % dos julgadores, resultado apresentado na Figura 2.

Teste de Ordenação de Preferência (%)

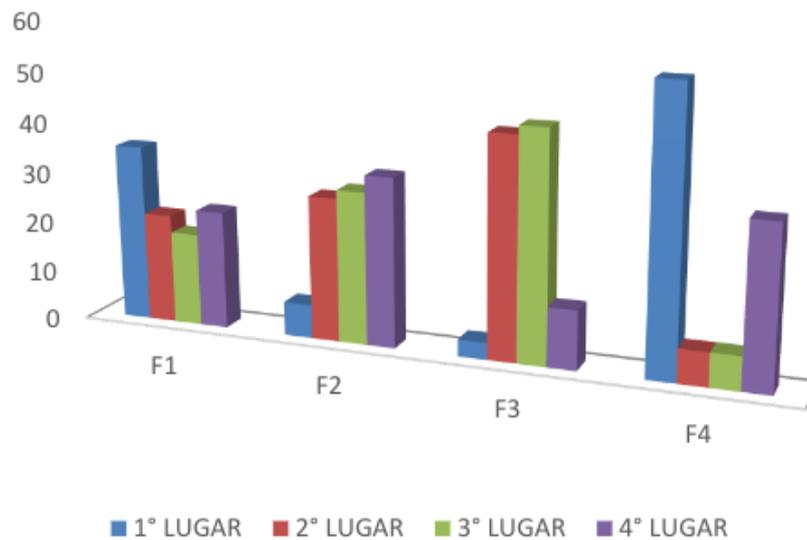


Figura 2 – Teste de preferência para barra de cereal adicionado de semente de moringa torrada.

Na Figura 3 observa-se a avaliação de intenção de compra onde apenas 6,66% dos entrevistados não comprariam as formulações F3 e F4. Mas de 80% dos julgadores comprariam todos os produtos e não houve resultados negativos para as formulações F1 e F2 (25 g de semente de moringa torrada).

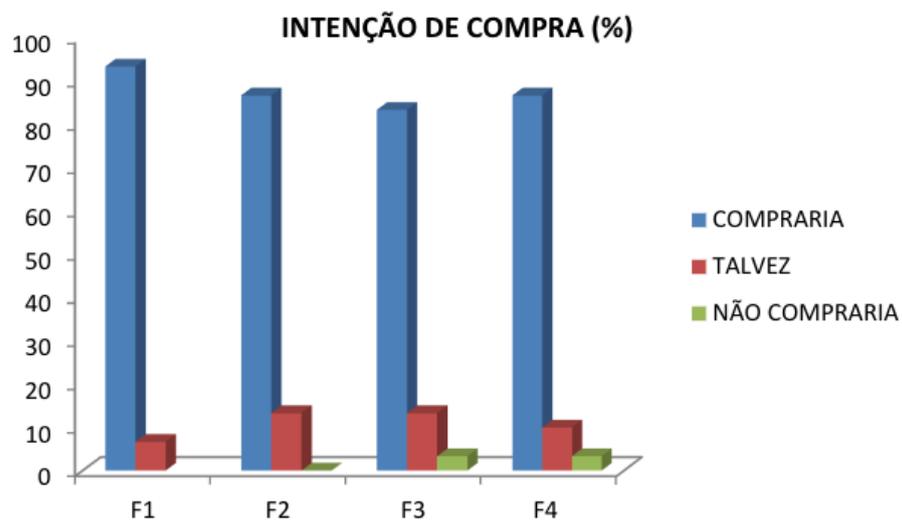


Figura 3 – Intenção de compra para os produtos elaborados com adição de semente de moringa torrada.

A variação do teor de moringa teve influência negativa apenas nas formulações F3 e F4, devido ao acréscimo de semente adicionada às barras de cereal elaboradas.

4 | CONCLUSÕES

As características sensoriais avaliadas das barras de cereal elaboradas com semente de moringa torrada assemelharam –se a da barra de cereal controle (F1). Todas as amostras obtiveram valores acima de 80 % de aceitação para todos os atributos analisados. Todos os produtos elaborados alcançaram excelentes resultados na intenção de compra visto que mais de 80% dos entrevistados comprariam as barras de cereal produzidas.

Os resultados obtidos neste trabalho indicaram que é viável a elaboração de barra de cereal adicionada de semente de moringa torrada, comprovando seu potencial como uma alternativa para difundir um produto agroindustrial ainda não é explorado comercialmente.

REFERÊNCIAS

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (2001). *Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões microbiológicos para alimentos*. Diário Oficial da união, Brasília –DF.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciênc. agrotec.* [online]. 2014, vol.38, n.2 [citado 2015-10-17], pp. 109-112. Disponible en: ISSN 1413-7054. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>

GASQUI, D. L. et al. **Caracterização química e nutricional da farinha de moringa (*Moringa oleifera* Lam.)**. *Revista Científica Eletrônica De Agronomia*, v. 26, n. 25, 2014.

MATSUURA, F. C. A. U. **Estudo do albedo de maracujá e de seu aproveitamento em barra de cereais**. 2005. Tese de doutorado, UNICAMP, Campinas.

ONWULATA, C. I. ; Konstance, R. P. ; Strange, E. D. ; Smith, P. W. ; Holsinger, V. H.. **High-fi ber snacks extruded from triticale and wheat formulations**. *Cereal Foods World*, v. 45, n. 10, p. 470-473, 2000.

PALAZZOLO, G. **Cereal bars: they're not just for breakfast anymore**. *Cereal Foods World*, v. 48, n. 2, p. 70-72, 2003.

ROSMERY, A.C.M; PILAR,V.L.R. **Aceitabilidade y valor nutricional de una barra nutritiva a base de harina de moringa (*moringa oleifera*), kiwicha expandida(*amaranthus caudatus*) y harina de trigo (*triticum aestivum*)**. PFC (Licenciatura em nutrição humana), UNSAA, San Agustín de Arequipa, Arequipa , 2017.

SANTOS, C.C. et al. **Aceitabilidade sensorial de barras de cereais formuladas a partir de resíduos agroindustriais**. *REAS, Revista Eletrônica Acervo Saúde*, Ouro Fino ,vol. 10, n.4, p.1864-1870, 2018.

SOUZA, F. M. et al. **Uso de Moringa como base para a Fabricação de Farinha para o Consumo Humano**. In: Workshop Internacional Sobre Água no Semiárido Brasileiro, 2., 2015, Campina Grande. II Workshop Internacional Sobre Água no Semiárido.

ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DO USO DE DIFERENTES ADOÇANTES SOBRE AS CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS DE BOLOS TIPO ESPONJA

Alba Valéria de Oliveira Barbosa

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Sertão Pernambucano
Ouricuri-PE

RESUMO: Bolos são produtos de panificação muito apreciados pelos consumidores, no entanto, por ser muito calórico, seu consumo juntamente com outros alimentos de sabor doce tem sido associado ao aumento da incidência de doenças crônicas ligadas ao consumo do açúcar. Estudos relacionados a redução calórica de bolos, demonstraram que a substituição é possível desde que seja associado ao adoçante um agente de volume, já que o açúcar atua diretamente na qualidade estrutural desse produto como agente de volume responsável pelo aumento da viscosidade e assim manutenção da estrutura adequada dos bolos. Esse trabalho teve como objetivo comparar os efeitos do uso de diferentes adoçantes como substituto do açúcar nas características reológicas de bolos tipo esponja. Os resultados demonstraram que apesar de proporcionar um aumento na viscosidade as soluções de adoçante e goma não foram capazes de reter as bolhas de ar formadas prejudicando assim a expansão do produto e consequentemente afetando negativamente as características reológicas ao passo que se elevava o nível de

substituição.

PALAVRAS-CHAVE: Bolos; Redução calórica; características reológicas

COMPARATIVE STUDY OF THE EFFECTS THE USE OF DIFFERENT SWEETENERS ON THE REOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SPONGE CAKE

ABSTRACT: Cakes are baking products widely appreciated by consumers, however, because they are very caloric, their consumption along with other sweet-tasting foods has been associated with an increase in the incidence of chronic diseases linked to sugar consumption. Studies related to the caloric reduction of cakes have shown that substitution is possible provided that a volume agent is associated with the sweetener, since the sugar acts directly on the structural quality of that product as volume agent responsible for the increase of the viscosity and thus maintenance of the structure of the cakes. This work aimed to compare the effects of the use of different sweeteners as a substitute for sugar in the rheological characteristics of sponge type cakes. The results demonstrated that despite providing an increase in viscosity the sweetener and gum solutions were not able to retain the formed air bubbles thereby impairing the product expansion and consequently adversely

affecting rheological characteristics while raising the replacement level.

KEYWORDS: Cakes; Caloric reduction; rheological characteristics

INTRODUÇÃO

O bolo vem adquirindo crescente importância no que se refere ao consumo e comercialização no Brasil, por apresentarem alta versatilidade e sabor agradável ao paladar brasileiro. No entanto em razão de conter altos níveis de açúcar e gordura, o mesmo é considerado um alimento muito calórico, onde estudos revelaram que a ingestão de alimentos ricos em calorias, estão ligados ao aumento do número de ocorrências de doenças crônicas como o diabetes (LEE; LIN, 2005; BORGES et al, 2006).

O Ministério da Saúde (2017) em pesquisa recente revelou dados alarmantes sobre o aumento do índice de diabetes em brasileiros, os índices elevaram-se a 61,8% em 10. Entre 2006 e 2016, o número de pessoas que dizem saber do diagnóstico de diabetes passou de 5,5% para 8,9%. O crescimento do diabetes é uma tendência mundial, devido ao envelhecimento da população, mudanças dos hábitos alimentares e prática de atividade física.

Estudos sobre a redução do açúcar datam desde a década de 80, onde se tem demonstrado que a redução substancial do açúcar pode ser feita em formulações tradicionais usando uma combinação de um adoçante de alta intensidade e um espessante de baixa caloria (BENNION; BAMFORD, 1997).

O uso de adoçantes artificiais como substituto do açúcar em formulações de bolos vem sendo exaustivamente estudado, entretanto essa substituição resulta em defeitos prontamente detectáveis em suas estruturas. O uso conjunto de um adoçante e um agente espessante, vem sendo testado com o intuito de solucionar ou minimizar os problemas relacionados da redução do açúcar nos bolos (BATTOCHIO, 2007).

Sob esta perspectiva, a indústria de panificação tem o desafio de produzir bolos menos calóricos, sem alterar sua qualidade, visto que, o papel do açúcar é importante, pois o mesmo age restringindo a formação do glúten, retardando as temperaturas de desnaturação proteica e a gelatinização do amido, e por consequência, contribuindo para o aumento do volume e formação da textura (FRYE; SETSER, 1991; MANISHA; SOUMYA; INDRANI, 2012; RONDA et al, 2005).

As massas de bolo são uma emulsão complexa óleo em água com uma fase aquosa contínua contendo ingredientes secos dissolvidos ou suspensos.

O açúcar atua como agente de volume, mantendo estável a emulsão pois aumenta a viscosidade da massa possibilitando maior retenção das células de ar incorporadas durante a mistura dos ingredientes contribuindo para a estabilidade e um maior volume desejado nos bolos (Schimer et al., 2012). Quando essa viscosidade é muito baixa, a massa não consegue reter as células de ar incorporadas, resultando em bolos de

baixo volume (RONDA et al., 2011).

Portanto, compreender o efeito da substituição do açúcar por combinações de adoçantes artificiais e agentes espessantes sobre as características reológicas das massas de bolo é essencial para o desenvolvimento de formulações com reduzido teor de açúcar sem acarretar prejuízos a sua estrutura, já que essas exercem efeitos durante o processamento e sobre as características finais do bolo (RONDA et al., 2011).

Objetivou-se, com esse trabalho, preparar bolos com substituições crescentes do açúcar por uma combinação de adoçantes (sucralose e acessulfame K) e espessante e comparar os efeitos dessa substituição ao açúcar sobre as características reológicas dos bolos.

MATERIAL E MÉTODOS

Material: No preparo dos bolos com reduzido teor calórico, além dos ingredientes convencionais utilizou-se também os adoçantes: Sucralose, cedido gentilmente pela TATE & LYLE (São Paulo-SP) e o acessulfame K, cedido generosamente pela M. Cassab (São Paulo-SP) utilizados como agentes de doçura, selecionados pela sua resistência a altas temperaturas, e a goma xantana usada como agente de volume foi fornecida pela Gastronomy lab (Brasília-DF).

Preparo dos bolos: Para o preparo dos bolos com teor calórico reduzido, utilizou-se uma formulação controle otimizada por Cavalcante (2012), Foram elaboradas 7 (sete), mantendo fixas as proporções dos ingredientes, farinha de trigo, leite em pó, fermento químico, margarina, variando apenas a quantidade de açúcar no qual foi substituído em reduções crescentes pela solução dos adoçantes a 1% e goma xantana a 1,5%, totalizando 7 formulações para cada adoçante, com os mesmos níveis de substituição, para facilitar a comparação entre ambos, cuja codificação baseou-se no nível de substituição do açúcar pela solução dos adoçantes e goma xantana de acordo com o exposto na tabela 01, sendo F0, a formulação controle contendo apenas o açúcar na formulação.

Codificação das formulações	Nível de substituição do açúcar pela solução adoçante e goma (%)	Proporção de açúcar (g)	Proporção de solução de adoçante e goma (g)
Controle (F0)	0,00	155,88	0,00
F10	10,00	140,28	31,17
F19	19,00	126,27	59,23
F27	27,10	113,64	84,49
F34	34,39	102,28	107,21
F40	40,95	92,05	127,66
F46	46,86	82,83	146,09
F52	52,17	74,56	162,64

Definida as formulações, procedeu-se o preparo dos bolos, onde utilizou-se o método rápido de preparo no qual consiste em adicionar e bater os ingredientes em uma só etapa sem acarretar prejuízos a formação estrutural do bolo, depois de misturados os ingredientes foram batidos em batedeira comum por 1 (um) minuto na velocidade 1, para permitir a incorporação de ar necessária para o desenvolvimento dos bolos, depois de batidos os ingredientes, a massa obtida foi vertida em forma tipo W e levada para assar em forno elétrico previamente aquecido por 30 minutos a 180°C. Antes de serem levadas para o assamento, amostras das massas foram coletadas, inclusive da controle para análise reológica e densidade específica. Depois de assados, efetuou-se a medição do volume específico da fatia dos bolos, segundo metodologia descrita abaixo:

Medidas das propriedades reológicas das massas dos bolos: Para tanto, seguiu-se a metodologia aplicada por Psimouli e Oreopoulou (2012). As análises foram feitas em um reômetro (modelo AR 550, TA instruments), onde aproximadamente 18 g de massa foram submetidas a uma taxa de cisalhamento de 0,2 a 1 s⁻¹, com controle de temperatura (25°C) por placa peltier. A viscosidade aparente foi medida em função da taxa de cisalhamento e os dados foram ajustados ao Modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da potência), $\mu = K \times \gamma^n$, onde μ é a viscosidade aparente (Pa s), K é o coeficiente de consistência (Pa sⁿ) e γ é a taxa de cisalhamento (s⁻¹) e n é o índice de fluxo. Para o ajuste dos dados utilizou-se o software TA Advantage Data Analysis, versão 5.0.38, do próprio equipamento. Análise feita em triplicata.

Densidade específica das massas dos bolos: Foi medida gravimetricamente, pela razão entre um recipiente padrão contendo 100 mL da massa e o peso do mesmo recipiente padrão contendo 100 mL de água segundo metodologia adotada por Lin e Lee (2005). Análise em triplicata.

Volume específico do bolo: Depois de assado os bolos, efetuou-se o quarteamento para melhor representatividade da amostra, efetuando em seguida a medição do volume específico da fatia dos bolos segundo metodologia descrita pela AACC (2000), por deslocamento da semente de painço. Análise feita em triplicata.

Tratamento estatístico: Os resultados obtidos com as análises da massa antes e depois do assamento foram submetidas à análise estatística, para tanto, usou-se o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), onde foram feitas análises de variância (ANOVA) e cálculo do desvio das médias com posterior comparação das diferenças entre as médias pelo teste de Tukey a um nível de significância de 95 % (p<0,05), utilizando o software Statistica versão 8.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 01 traz os reogramas com as curvas da viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento das formulações de massa dos bolos com substituição do açúcar pela solução de sucralose e goma xantana (A) e a solução de acessulfame K (B), para fins comparativos com a formulação controle (F0).

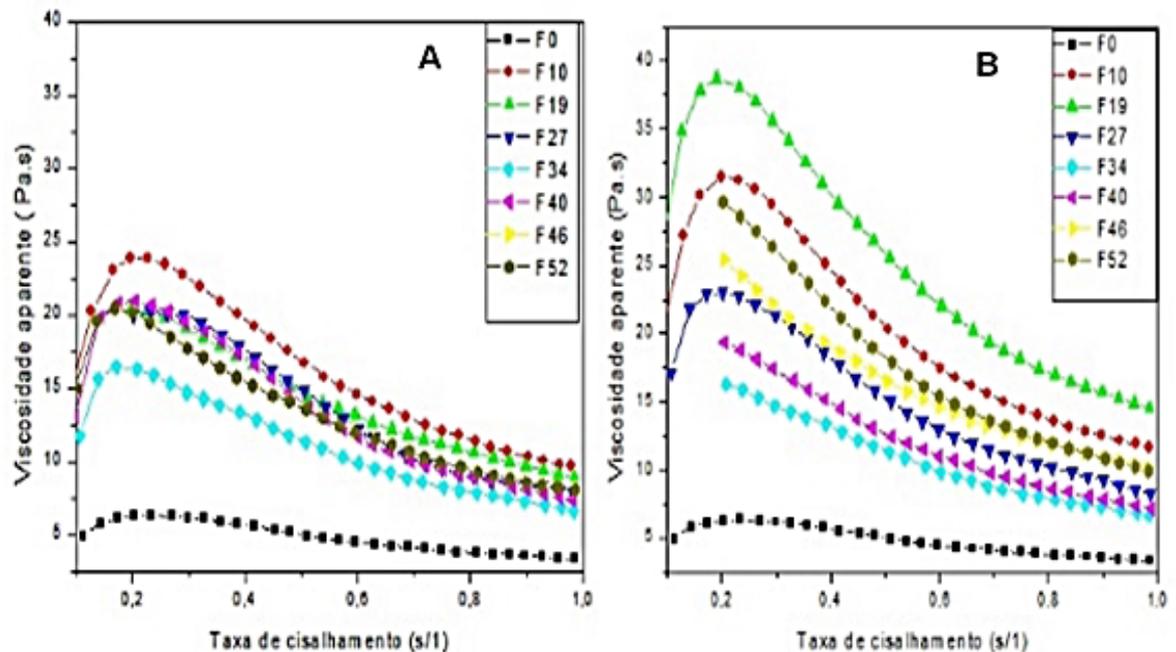


Figura 01: Curvas de viscosidade das massas de bolo com substituição parcial do açúcar por uma solução de sucralose (A) e Acessulfame K (B) com goma xantana.

Observa-se que todas as amostras, incluindo a controle F0, apresentaram um comportamento pseudoplástico, ou seja, a viscosidade aparente diminuiu com o aumento da taxa de cisalhamento. Os valores obtidos com o índice de fluxo, que variaram de 0,48-0,27 (massa dos bolos com substituição parcial do açúcar por sucralose e goma xantana (TSG)) (tabela 02) e 0,48-0,25 (massa dos bolos com substituição parcial do açúcar por sucralose e goma xantana (TAG)) (tabela 02), confirmaram esse comportamento das amostras de massas de bolo contendo os respectivos adoçantes e goma xantana, de acordo com o valor de n (índice de fluxo), onde $n < 1$ o fluxo é pseudoplástico e $n > 1$ é dilatante (TONELI et al., 2004).

Segundo Shiroma (2012), o coeficiente de consistência K indica o grau de resistência da amostra ao escoamento (fluxo), ou seja, quanto maior o valor de K , maior a sua resistência ao escoamento e, portanto, maior a sua viscosidade aparente. A viscosidade é uma importante propriedade física, uma vez que está intimamente relacionada com a qualidade do produto final. Ela também é um dos fatores que controlam o seu volume no final do processo de assamento (Lee et al., 2004). Os trabalhos de Lee et al., 2004, Martínez-Cervera et al., 2012 e Psimouli e Oreopoulou, 2012 mostraram que quando a viscosidade é elevada, essa proporciona o aumento da

incorporação e retenção das células de ar a massa durante a mistura dos ingredientes, contribuindo para um maior volume e estabilidade dos bolos, indicada por uma menor densidade específica da massa.

A densidade específica fornece uma indicação do total de ar incorporado e retido na massa durante a mistura. Valores baixos indicam uma boa incorporação de ar, obtendo-se um volume final elevado depois do forneamento (FRYE; SETSER, 1991; MARTÍNEZ-CERVERA et al., 2012)

Formulação	Sucralose		Acessulfame K	
	Coeficiente de consistência (Pa s ⁿ)	Índice de fluxo (n)	Coeficiente de consistência (Pa s ⁿ)	Índice de fluxo (n)
F0	3,29 ^e ± 0,32	0,48 ^a ± 0,00	3,29 ^e ± 0,32	0,48 ^a ± 0,00
F10	9,69 ^{ab} ± 0,29	0,38 ^b ± 0,01	11,49 ^{ab} ± 0,41	0,29 ^{bcd} ± 0,03
F19	9,21 ^b ± 0,06	0,37 ^b ± 0,02	11,69 ^a ± 0,14	0,32 ^{bcd} ± 0,02
F27	9,20 ^b ± 0,14	0,29 ^c ± 0,03	8,58 ^d ± 0,12	0,25 ^d ± 0,01
F34	7,32 ^d ± 0,04	0,33 ^{bc} ± 0,01	10,90 ^{abc} ± 0,27	0,30 ^{bcd} ± 0,04
F40	7,62 ^{cd} ± 0,03	0,28 ^c ± 0,03	7,88 ^d ± 0,64	0,27 ^{cd} ± 0,01
F46	8,27 ^c ± 0,10	0,32 ^{bc} ± 0,02	10,35 ^{bc} ± 0,04	0,35 ^{bc} ± 0,02
F52	10,26 ^a ± 0,43	0,34 ^{bc} ± 0,02	10,12 ^c ± 0,09	0,34 ^{bc} ± 0,02

Tabela 02: Valores de coeficiente de consistência e índice de fluxo, para massas de bolos elaborados com substituição parcial do açúcar pelas soluções de sucralose/acessulfame K e goma xantana

Os resultados são apresentados como valores médios ± desvio padrão. Valores seguidos por letras sobrescritas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (P <0,05) onde a > b > c > d > e

Os resultados obtidos com a densidade específica demonstraram que houve uma boa incorporação de ar a massa, pois os referidos valores para as massas dos bolos TSG (tabela 03) variaram de 0,86-0,89g/cm⁻³, não diferindo significativamente entre si e a formulação F0. Com relação as massas dos bolos TAG (tabela 03) os valores variaram de 0,85-0,89g/cm⁻³, onde a formulações F46 e F52 diferiram significativamente da formulação controle com resultado superior a mesma, indicando que houve uma menor incorporação e retenção de ar nas mesmas quando comparada com a F0.

Formulação	Densidade Especifica (g/cm ³)	
	Sucralose	Acessulfame K
F0	0,86 ^a ± 0,00	0,86 ^b ± 0,00
F10	0,86 ^a ± 0,03	0,85 ^b ± 0,01
F19	0,88 ^a ± 0,01	0,85 ^b ± 0,00
F27	0,86 ^a ± 0,02	0,88 ^{ab} ± 0,01
F34	0,87 ^a ± 0,01	0,87 ^{ab} ± 0,01
F40	0,87 ^a ± 0,00	0,88 ^{ab} ± 0,00
F46	0,87 ^a ± 0,00	0,89 ^a ± 0,01
F52	0,89 ^a ± 0,01	0,89 ^a ± 0,01

Tabela 03: Valores de densidade especifica das massas de bolo elaborados com substituição parcial do açúcar pelas soluções de sucralose/acessulfame K e goma xantana

Os resultados são apresentados como valores médios ± desvio padrão. Valores seguidos por letras sobrescritas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (P <0,05) onde a > b

Baeva et al. (2003), Martinez-Cevera et al. (2012) e Manisha, Soumya e Indrani (2012), em seus trabalhos sobre redução do açúcar em bolos, estudaram o efeito da substituição do açúcar em diferentes concentrações por adoçantes artificiais associados a seus respectivos agentes de volume em formulações de bolo, todos relataram a redução no valor da densidade especifica, indicando que a substituição do açúcar não interferiu na incorporação de ar a massa durante a mistura.

Os valores obtidos com o volume especifico (tabela 04) dos bolos TSG variaram de 1,90- 1,06 cm³/g-1, resultados esses inferiores ao F0, excetuando as formulações F10 e F19, que não diferiram significativamente entre si e F0. Já os bolos TAG os valores para o volume especifico (tabela 04) variaram entre 1,90-1,06 cm³/g-1, resultados esses inferiores a controle, com exceção da formulação F10 que não diferiu significativamente da formulação controle.

Formulação	Volume especifico (cm ³ /g ⁻¹)	
	Sucralose	Acessulfame K
F0	1,81 ^a ± 0,01	1,81 ^b ± 0,01
F10	1,90 ^a ± 0,09	1,90 ^a ± 0,02
F19	1,80 ^a ± 0,03	1,59 ^c ± 0,06
F27	1,51 ^b ± 0,05	1,50 ^c ± 0,01
F34	1,19 ^c ± 0,03	1,29 ^d ± 0,02
F40	1,17 ^c ± 0,01	1,19 ^{de} ± 0,02
F46	1,16 ^c ± 0,02	1,10 ^f ± 0,03
F52	1,05 ^c ± 0,03	1,06 ^f ± 0,03

Tabela 04: Valores de volume especifico dos bolos elaborados com substituição parcial do açúcar por uma solução de sucralose/acessulfame K e goma xantana

Os resultados são apresentados como valores médios ± desvio padrão. Valores seguidos por letras sobrescritas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (P <0,05) onde a > b > c > d > e > f

Verificou-se também uma relação inversamente proporcional entre os valores

de coeficiente de consistência (tabela 02) e volume específico (tabela 04). O volume específico pode ser utilizado como um indicador do desenvolvimento de volume e, conseqüentemente, da estrutura porosa do produto (PSIMOULI; OREOPOULOU, 2011).

Mesmo apresentando bons índices de consistência e incorporação de ar, os baixos valores de índice de fluxo (n) obtidos nas formulações das massas dos bolos TSG e TAG (Tabela 02), em relação a formulação controle (n=0,48) indicaram que essas formulações de bolo (TSG e TAG) foram mais susceptíveis as deformações provocadas pelo aumento da taxa de cisalhamento.

Ocorrendo uma redução na viscosidade mais acentuada à medida que, a taxa de cisalhamento era elevada, como ilustra os reogramas apresentados na figura 01, apontando para uma possível incapacidade de retenção do ar (oriundo da incorporação de células de ar durante a mistura e da fermentação química e do vapor de aquecimento) durante o forneamento, permitindo seu escape para a superfície do bolo e restringindo assim sua expansão (SARABJIT; ALAVA, 2003), resultando em bolos de baixo volume.

Sugerindo que, durante o assamento as formulações com substituição parcial do açúcar por pelos adoçantes e goma em questão apresentaram incapacidade de retenção das células de ar. O que permitiu o escape dessas células de ar para a superfície do bolo restringindo assim expansão da massa, resultando em bolos de menor volume.

CONCLUSÕES

As características reológicas da massa são fatores de controle das características de qualidade do bolo, no que concerne o desenvolvimento do volume desejado. Portanto, conclui-se que a substituição crescente do açúcar pelas soluções de adoçantes e goma xantana, mesmo apresentando elevado índice viscoso, foram incapazes de reter as células de ar durante o forneamento, resultando em bolos de baixo volume. As formulações F10 e F19 obtiveram resultados reológicos e físicos semelhantes a controle. Isso significa que nesses níveis de substituição do açúcar não a prejuízos as propriedades reológicas da massa e do volume final dos bolos.

REFERÊNCIAS

AACC International. **Approved methods of the AACC**. 10th ed. AACC The Association: St Paul, Minnesota, 2000.

BENNION, E.B.; BAMFORD, G. S. T. **The Technology of Cake Making**. London: Blackie Academic e Professional, 1997.

BORGES, J. T. S.; PIROZI, M. R.; VIDIGAL, J. G.; Paula, D. C. de.; SILVA, N. A. S. de. **Utilização de farinha mista de aveia e trigo na elaboração de bolos**. *R. Brasileira Tecno.l Agroin.*, v. 24, p. 145-162, 2006.

CAVALCANTE, R. S. **Avaliação das características estruturais de bolos com redução calórica.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

LEE, S.; INGLETT, G. E.; CARRIERE, C. **Effect of Nutrim Oat Bran and Flaxseed on Rheological Properties of Cakes.** *Cereal Chem.*, v. 81, p. 22-33, 2004.

LIN, S-D.; LEE, C-C. **Qualities of chiffon cake prepared with indigestible dextrin and sucralose as replacement for sucrose.** *Cereal Chem.*, v. 82, p. 405–413, 2005.

PSIMOULI, V.; OREOPOULOU, V. **The effect of alternative sweeteners on batter rheology and cake properties.** *J. sci Food Agric.*, v. 92, p. 99-105, 2012.

RONDA, F.; OLIETE, B. GOMEZ, CABALLERO, P. A., PANDO, V. **Rheological study of layer cake batters made with soybean protein isolate and different starch sources.** *J. Food Eng*, v. 102, p.272-277, 2011.

SARABJIT, S.; ALAVA, J. M. **Functionality of emulsifiers in sponge cake Production.** *J. Sci Food Agric.*, v. 83, p.1419–1429, 2003.

SCHIRMER, M. **Physicochemical interactions of polydextrose for sucrose replacement in pound cake.** *Food Research Inter.* V. 49, 2012.

SHIROMA, P. H. **Estudo do comportamento reológico de suspensões aquosas de bentonita e CMC: Influência da concentração de NaCl.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

FARMACOGENÉTICA E CÂNCER DE MAMA: PESQUISA INTEGRATIVA

Marília Silva Marques

Pós-graduando em Farmácia Estética pelo o instituto Nepuga.

Pós-graduando em Medicina Genômica Biotecnologia e Inovações em Saúde do Instituto Nacional de Cursos.

mariliasmarques2010@hotmail.com

Benedito R. Da Silva Neto

Pós-Doutorando em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática. Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pela Universidade Federal de Goiás. Mestrado em Biologia Celular e Molecular. Tem experiência na área de Microbiologia Genômica, Engenharia Genética e Quimioinformática.

Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – IPTSP/UFG
dr.neto@ufg.br

RESUMO: **Introdução:** A relação da farmacogenética ao câncer de mama a variabilidade pode influenciar a resposta do tratamento farmacológico convencional analisando o indivíduo porque a genética pode interferir tanto na eficácia quanto toxicidade do fármaco. O câncer de mama é a segunda maior causa de morte de câncer no mundo. **Objetivo:** Verificar os possíveis achados de novos biomarcadores genéticos de suscetibilidade e resposta a medicamentos que possa ser ferramentas para os profissionais

de saúde tomar decisões informadas sobre o tratamento mais adequado. **Métodos:** Trata-se de uma pesquisa integrativa sendo o método ao qual permite a avaliação e busca crítica e sintetizada das evidências disponíveis do tema estudado. Esse estudo foi realizado utilizando algumas ferramentas de pesquisa em duas bases de dados: Scielo e Google Acadêmico, foram utilizadas as referências selecionadas de acordo com o critério de inclusão que era o seu grau de relevância e o ano de publicação no entanto as publicações dos últimos 8 anos teve um maior destaque. Os artigos que compuseram essa revisão são artigos completos e revisões de literatura publicados entre 2010 a 2018 em periódicos tanto internacionais como em nacionais que nos trazia as informações sobre o tema em questão. O que motivava a exclusão dos artigos era publicações em anos fora do delimitado, com duplicidade que por algum motivo não enquadrasse ao tema da revisão. Desta maneira a revisão de literatura foi constituída por 33 artigos. **Resultados:** Essa revisão nos demonstrou os principais biomarcadores e genes utilizados para diagnósticos e tratamento do câncer de mama, nos gráficos temos o quantitativos de média de artigos publicados que delimita quais são os genes, biomarcadores e os principais métodos de diagnósticos. **Conclusão:** Vimos que os artigos utilizados nos mostram os principais

genes e biomarcadores existentes para diagnósticos e possíveis tratamentos, mesmo diante dessas inovações os exames de diagnósticos ainda são utilizados métodos tradicionais, encontrando apenas 2 novos métodos diagnósticos inovadores. É notório o desenvolvimento do tratamento para o câncer de mama com a farmacogenética e a medicina personalizada, apesar do objetivo de baixos gastos para essa nova ciência, o desenvolvimento de fármacos específicos ainda estão em estudos.

PALAVRAS-CHAVE: Câncer, Farmacogenética, Genética e Terapia.

PHARMACOGENETICS AND BREAST CANCER: INTEGRATIVE RESEARCH

ABSTRACT: Introduction: The relationship of pharmacogenetics to breast cancer to variability may influence the response of conventional pharmacological treatment by analyzing the individual because genetics may interfere both in efficacy and drug toxicity. Breast cancer is the second leading cause of cancer death in the world. **Objective:** To verify the possible findings of new genetic biomarkers of susceptibility and response to medications that may be tools for health professionals to make informed decisions about the most appropriate treatment. **Methods:** This is an integrative research, being the method that allows the evaluation and critical and synthesized search of the available evidence of the studied subject. This study was carried out using some research tools in two databases: Scielo and Google Scholar, we used the selected references according to the criterion of inclusion that was their degree of relevance and the year of publication, however the publications of the last 8 years had a greater prominence. The articles that composed this review are full articles and literature reviews published between 2010 and 2018 in international and national journals that brought us the information on the subject in question. What motivated the exclusion of the articles was publications in years outside the delimited, with duplicity that for some reason did not fit the subject of the revision. In this way, the literature review consisted of 33 articles. **Results:** This review showed us the main biomarkers and genes used for diagnosis and treatment of breast cancer, in the charts we have the average number of published articles that delimits the genes, biomarkers and main methods of diagnosis. **Conclusion:** We have seen that the articles used show us the main genes and biomarkers available for diagnoses and possible treatments, even in the face of these innovations the diagnostic tests are still used traditional methods, finding only 2 new innovative diagnostic methods. It is notorious the development of treatment for breast cancer with pharmacogenetics and personalized medicine, despite the goal of low spending for this new science, the development of specific drugs are still under study.

KEYWORDS: Cancer, Pharmacogenetics, Genetics and Therapy.

INTRODUÇÃO

A segunda principal causa de morte em mulher é o câncer de mama dentre

os diversos tipos de câncer em todo o mundo, e o sistema imunológico apresenta um papel importantíssimo nesse tipo de tumor sólido sendo o principal tema do debate nas últimas décadas (SIEGEL *et al.*, 2015.) Estão sendo descobertas algumas modificações moleculares, epigenéticas e genéticas relacionados ao câncer de mama que tem o intuito de melhorar a compreensão da tumorigênese e ver também contribuir para o desenvolvimento de terapias direcionadas e específicas para superexpressão de proteínas inibidoras das mutações específicas, como por exemplo o receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2), (NIXON *et al.*, 2018).

O câncer de mama é causado por algumas combinações de fatores genéticos e ambientais, onde os polimorfismos genéticos apresentam diferentes efeitos no desenvolvimento de câncer frente a exposição a fatores ambientais (SCOTT, 2011).

A farmacogenética vem analisar como a variabilidade influencia na resposta individual ao tratamento farmacológico convencional, pois a potência e a toxicidade de um fármaco podem sofrer interferência da genética. A aplicação dessa ciência faz-se necessário pois tem uma grande variedade de respostas a drogas, as respostas em relação a eficácia e toxicidade são diferentes frente ao tratamento farmacológico. Diante disso tem a permissão de identificar a causa da variação nos efeitos, podendo assim ser realizada uma terapia personalizada, com base na individualidade genética, que resultará em um tratamento mais eficiente e seguro e com menor toxicidade possível (SCOTT, 2011).

A Farmacogenética enfoca a previsão da eficácia e toxicidade do medicamento com base no perfil genético de um paciente com testes genéticos frequentemente aplicáveis para escolher a medicação mais apropriada em doses ideais para cada paciente individualmente (CHIN; ANDERSEN; FUTREAL, 2011; CREWS *et al.*, 2011).

O câncer de mama apresenta uma heterogeneidade muito vasta representando um desafio para a escolha do tratamento mais adequado para a doença. Seriam os pacientes os principais beneficiários da medicina individualizada ou regimes terapêuticos individuais apresentados especificamente para tratar os seus tipos de câncer de características particulares (VICTORA *et al.*, 2011). Existem cinco principais tratamentos para o câncer de mama que são: radioterapia, cirurgia, quimioterapia, terapia hormonal e terapia biológica. Muitas vezes estas terapias são associadas, constituindo combinações terapêuticas (VICTORA *et al.*, 2011).

São os polimorfismos genéticos que apresenta baixa penetrância que normalmente pode ocasionar o aumento do risco de câncer de mama, esses efeitos são exibidos por dois principais grupos de genes potentes, que são os genes que podem codificar as proteínas que são envolvidas ao metabolismo dos hormônios esteroides e o outro grupo de genes são os relacionados à expressão de enzimas envolvidas no metabolismo de carcinógenos (CREWS *et al.*, 2011; ANTON *et al.*, 2010).

O principal objetivo da farmacogenética é verificar os possíveis achados de novos biomarcadores genéticos de suscetibilidade e resposta a medicamentos que possa ser ferramentas para os profissionais de saúde tomar decisões informadas sobre o

tratamento mais adequado ao paciente, dosagem correta, evitar reações adversas e desenvolver novos medicamentos de acordo com o perfil genético e metabolismo de cada paciente, dessa maneira vamos observar nessa revisão alguns artigos que discute os principais achados farmacogenéticos que estão em desenvolvimento e o perfil do câncer de mama de acordo a essa realidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de uma pesquisa integrativa sendo o método ao qual permite a avaliação e busca crítica e sintetizada do tema estudado o resultado dessa busca traz as principais evidências que envolve as publicações e os resultados de uma pesquisa bibliográfica. O principal objetivo da revisão integrativa é a conexão entre a pesquisa científica e a prática profissional no âmbito de atuação. Essa revisão integrativa contém as principais análises das pesquisas mais relevantes para um suporte na parte clínica, permitindo uma síntese do estudo do conhecimento de terminados assuntos, essas revisões integrativas nos permitem apontar algumas lacunas em relação ao conhecimento para que elas possam ser preenchidas através de novos estudo com base em pesquisa integrativa.

Esse estudo foi realizado utilizando algumas ferramentas de pesquisa em duas bases de dados: Scielo e Google Acadêmico, foram utilizadas as referências selecionadas de acordo com o critério de inclusão que era o seu grau de relevância e o ano de publicação, no entanto as publicações dos últimos 8 anos teve um maior destaque. Os artigos que compuseram essa revisão são artigos completos e revisões de literatura publicados entre 2010 a 2018 em periódicos tanto internacionais como em nacionais que nos trazia as informações sobre o tema em questão. O que motivava a exclusão dos artigos era publicações em anos fora do delimitado, com duplicidade que por algum motivo não enquadrasse ao tema da revisão.

A realização deste estudo de-se através das ferramentas de busca em bases de dados, com as principais palavras chaves em língua portuguesa e inglês: farmacogenética, câncer, genética e terapia. Foram selecionadas as referências de acordo com o ano de publicação e seu grau de relevância, dando ênfase aquelas dos últimos 8 anos, no entanto artigos adicionais também foram referenciados por estarem citadas nessas publicações.

Foram localizadas a partir das combinações das palavras chaves encontradas 40 publicações. A seleção dos artigos inicialmente foi realizada através de uma leitura completa e atenta dos resumos das publicações com o intuito de fazer um peneiramento das amostras por meio do critério de inclusão ou exclusão. Os artigos incluídos foram todos originais e completos, o período de publicação das revisões de literatura foram entre 2010 a 2018 em periódicos nacionais e internacionais que demonstrava as informações sobre a temática do estudo. Foram excluídos artigos publicados em anos anteriores, com duplicidade, e que não se encaixaram no objetivo

da pesquisa. Assim, a amostra final foi constituída por 33 artigos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esse estudo foi elaborado mediante uma revisão de literatura com o método de pesquisa integrativa estudamos alguns artigos, nos quais estávamos buscando analisar quais foram os principais métodos de estudo usados e seus resultados e conclusões, durante esse estudo encontramos 5 diferentes tipos de estudo, que acrescentava em conhecimento, esses diferentes tipos de estudos agregou ao nosso estudo alguns dados importante.

Ao realizar esses estudos encontramos informações essenciais para desenvolvimento de nosso revisão em um dos estudos falam o que deveria ser analisado após um tratamento cirúrgico de câncer de mama, delimitando um principal gene que se deve ter cuidado após esse processo, encontramos em outro estudo o metabolismo de drogas com uma possível correlação entre genótipo individual e sua capacidade de metabolização celular. Vimos também a importância dos biomarcadores em desenvolvimentos de alguns fármacos com alternativa de baixo custo. Em outro estudo a farmacogenética garantindo uma terapêutica individualizada com eficiência e segurança dos medicamentos.

Vimos ainda sobre as principais recomendações do rastreamento do câncer de mama em diferentes faixas etárias. E a principal enzima estudada pela a farmacogenética que é a CYP2D6 sendo o principal alvo terapêutico para câncer de mama. Diante dessas informações conseguimos concluir que cada estudo acrescentava algo inovador tanto para tratamento como para rastreio do câncer de mama.

Foi segundo esses estudo que chegamos ao número de 06 artigos que continham o que foi descrito esses conhecimentos descritos então a tabela 1 vem para demonstrar o que anteriormente já havia sido discorrido nesse estudo, essa tabela 1 é um resumo dos 6 principais artigos que compõe essa revisão, na tabela 1 podemos encontrar os autores, ano de publicação, tipo de estudo utilizado para elaboração do mesmo, as discussão e conclusão de cada artigo, o objetivo dessa tabela 1 é nos mostrar os diferentes tipos de estudo existe nessa revisão e a contribuição de cada estudo para o desenvolvimento deste trabalho.

A composição dessa tabela 1 vem nos auxiliar nos principais norte dessa revisão, para o desenvolvimento dessa tabela, assim como de todo a revisão os artigos também passaram por análise de inclusão ou exclusão de acordo com ano de publicação, e relevância ao conteúdo a ser acrescentado em nosso estudo.

Autores/Ano	Tipo de estudo	RESULTADOS/CONCLUSÕES
Monteiro, Hayra de Andrade Vieira, 2015	Estudo observacional exploratório em coorte	Após o tratamento cirúrgico a sobrevida livre de doença, os SNPs de VEGFA ou seus haplótipos não demonstraram significativo impacto em relação ao risco de progressão, ou a recorrência da doença é considerando toda a coorte de estudo, isso acontece após a estratificação das pacientes de acordo com os subtipos tumorais. Esse estudo nos mostra que, os haplótipos VEGFA não foram regularizados como preditores independentes da progressão do câncer de mama em pacientes no início da doença e tratados com padronizadas terapias. A associação do SNP ou o haplótipo do gene VEGFA com tumores não-luminais, necessita de futuros estudos em relação a relevância dos SNPs VEGFA para o prognóstico do câncer de mama abordar os tumores dos tipos HER2-like ou Triplo-Negativo, que têm menos opções terapêuticas, e podem se favorecer de novas terapias.
PEREIRA <i>et al.</i>, 2012.	Estudo de caso	Nos apresenta a quantidade de indivíduos com o genótipo mutado, ou não selvagem, foi de aproximadamente quatro vezes àquela apresentada pelo grupo homocigótico selvagem. É muito importante o resultado do metabolismo de drogas utilizando linhagens de camundongos SWISS, pois garante à possibilidade de se colocar uma possível correlação entre o genótipo individual e sua capacidade de metabolização celular.
CABALEIRO, T. <i>et al.</i>, 2013	Revisão de Literatura	A importância do uso de biomarcadores tenta garantir uma economias significativas em desenvolvimento clínico de drogas tanto reduzindo as populações e melhor delimitar cada teste, também tenta reduzir a taxa de falhas através da eficácia e toxicidade de drogas em desenvolvimento. Existe a estratificação que pode envolver inúmeros benefícios após a autorização, contribuindo para o desenvolvimento de novas indicações, o aumento da taxa de penetração no alvo e melhorar a adesão.
SANTOS, 2017	Pesquisa bibliográfica exaustiva.	A prática da Farmacogenética na clínica, designadamente as questões éticas subjacentes à concretização dos testes a falta de evidência que suporte as suas vantagens ou ainda o elevado investimento económico. É fundamental estabelecer metas e surge alguns desafios que permitam incluir esta abordagem terapêutica inovadora como parte imprescindível da farmacoterapia quer em ambiente hospitalar. Com maior relevância as informações científicas que permitem a personalização da terapêutica, como a farmacodinâmica e a farmacogenética e farmacocinética, devem ser apreendidos e aplicados pelos farmacêuticos clínicos em prole do aumento da qualidade de vida do paciente.
PIRANDA <i>et al.</i>, 2013	Revisão de Literatura	A enzima CYP2D6 foi primeiro alvo terapêutico para terapia do câncer de mama para ser estudada em farmacogenéticos em virtude da correlação genótipo-fenótipo visivelmente forte. Existem alguns relatos na literatura que admitem que os polimorfismos do gene CYP2D6 afetam a disponibilidade e a atividade funcional da enzima podendo levar a níveis alterados de metabólitos do tamoxifeno, a genotipagem para CYP2D6 dessa maneira ainda não são suficiente para prever coroações clínicas em câncer de mama e, assim, não se aconselha como estratégia de definição da conduta terapêutica.

Migowski A et al., 2018	Revisão Sistemática	Esse estudo delimitou algumas recomendações de rastreamento do câncer de mama que são as recomendação contrária forte ao rastreamento com mamografia em mulheres com menos de 50 anos; também teve algumas recomendação favorável fraca ao rastreamento com mamografia em mulheres com idades entre 50 e 69 anos; achados demonstra que há recomendação contrária fraca ao rastreamento com mamografia em mulheres com idades entre 70 e 74 anos essas recomendação favorável forte de que o rastreamento nas faixas etárias recomendadas seja bienal, quando comparada às periodicidades menores do que a bienal.
--------------------------------	---------------------	--

Tabela 1 – Métodos de estudos e contribuição de farmacogenéticas.

De acordo com os estudos delimitamos alguns genes que tem impacto ao câncer de mama, dentre os artigos aceitos para desenvolvimento dessa revisão, vimos o que são esses genes, o que cada um pode desenvolver em relação ao câncer de mama, os genes selecionados foram os VEGFA, CYP2D6, HER2 e BRCA 1 e 2.

Verificamos nos artigos que através das modificações genéticas, sabe-se que os pacientes podem ser tratados com terapias farmacológicas e apresentarem respostas diversas ao tratamento. Isto porque existem alguns fatores que podem influenciar as respostas farmacológicas que são eles, etnia, sexo, idade, dieta, estado de saúde, o ambiente, a farmacodinâmica do fármaco e a farmacocinética. O polimorfismo genético de maneira geral se exprime na resposta a um fármaco, o maior exemplo são as enzimas transportadores, metabolizadoras e receptores, sendo assim os fatores genéticos é extremamente determinante na eficácia do fármaco (RAMOS; FARIA; FARIA, 2014).

O câncer hereditário é qualificado pelo aparecimento de casos na família em membros graus de sangue próximo primeiro ou segundo sem o padrão de conduta da transmissão autossômica dominante da linhagem germinativa. Há uma aproximadamente de até 09% dos casos de câncer de mama estarem associados à predisposição hereditária. Esses casos que entrelaçam herança familiar estão em até 35% dos casos onde existe uma cópia do gene que apresenta um defeito esse gene é o *BRCA1* ou de *BRCA2*, que predispõe em mulheres nestas famílias a um risco de 50-79% de poder desenvolver um câncer de mama e um grau inferior ao câncer de ovário (HOLSTEGE *et al.*, 2010.)

As mutações ocorrem quando nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, a sua capacidade de regeneração das quebras nas moléculas de DNA ficará comprometida e poderá ocorrer determinados, erros nessa reparação, provocando instabilidade genética (BAYRAKTAR & ARUN, 2016).

O fator de crescimento vascular endotelial (VEGFA) é a principal contribuição na fisiopatologia tumoral. Os elevados níveis tumorais de VEGFA no câncer de mama têm sido associados a piores prognóstico (BRUFISKY *et al.*, 2011.) O potencial carcinogênico do VEGFA, anticorpos anti-VEGFA, tem como exemplo a medicação bevacizumab, estão sendo investigados são as novas alternativas terapêuticas para

tumores de mama avançados ou não-responsivos às primeiras linhas de tratamento. (GIANNI *et al.*,2013.)

Já foram descrito cerca de 100 alelos diferentes do gene polimórfico CYP2D6 que está locado no cromossomo 22q13.1. Existe quatro categorias para a classificação das categorias diante disso existe uma base em seu impacto na atividade enzimática, podendo ter alelos que geram proteínas sem função, proteínas com atividade diminuída, com atividade normal ou aumentada (FLORES-ÂNGULO *et al.*, 2015).

A expressão tumoral do HER2 compõe o perfil de desenvolvimento da doença e a escolha correta da conduta terapêutica. Entre 14 a 29% dos tumores de mama expressam exacerbadamente o HER2, o que implica em menor sobrevida global e livre de doença para estas pacientes (YONEMORI *et al.*, 2010.)

Alguns tumores demonstram alta expressão de HER2 é muito frequente que esses tipos de tumores apresentam irregularidades na via da proteína tumoral p53, possuem status de receptores hormonais negativos, apresentam infiltração de nódulos linfáticos e alto índice mitótico, todos estes marcadores são de mau prognóstico para o câncer de mama. A estimativa do status de expressão de HER2 por imunohistoquímica tem sido extremamente valiosas no andamento da predição da resposta tumoral a tratamentos com o anticorpo monoclonal ou outras terapias-alvo (BOUCHALOVA *et al.*, 2010.)

Com essas informações delimitamos a figura 1, que foi composta de acordo com o levantamento de dados dos artigos selecionados para essa revisão, essa figura demonstra os principais genes aqui discutidos, a quantidade de artigos que discorreram sobre eles , o ano de publicação de cada artigo.

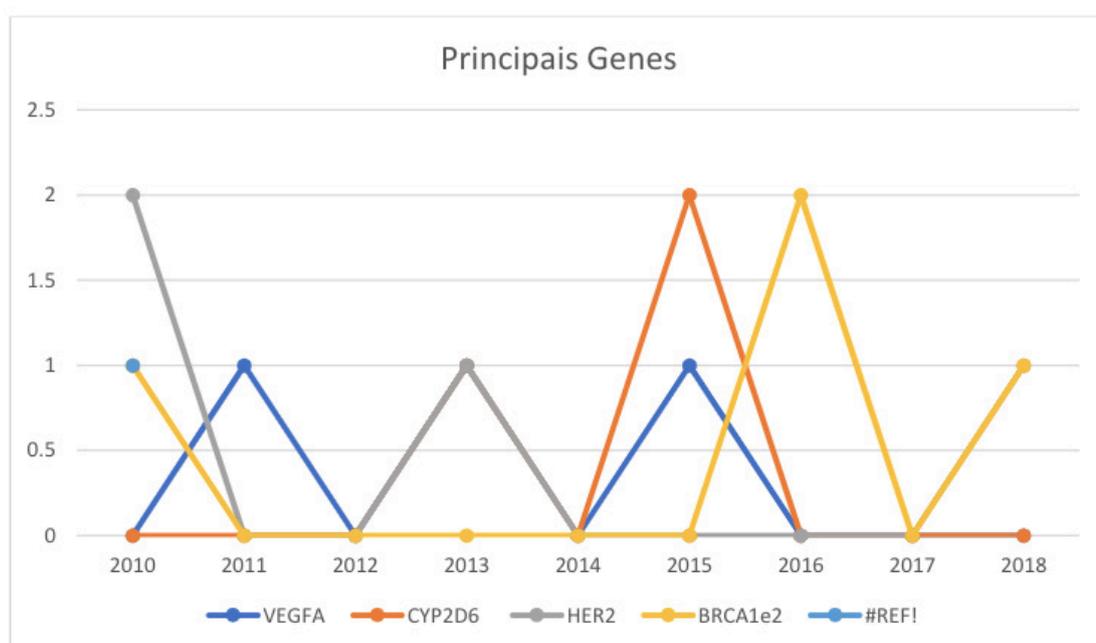


Figura 1: Genes em destaque para o câncer de mama, nessa figura temos os 4 principais genes estudados dentre os artigos para desenvolver essa revisão que nos demonstram de alguma forma seu potencial para câncer de mama.

Os estudos realizados para desenvolver essa revisão vimos os principais métodos diagnósticos para câncer de mama na atualidade, quando buscamos métodos inovadores para diagnóstico em uso na atualidade, encontramos apenas 2 métodos novos em uso, diante dessas evidências buscamos nos artigos as principais explicações para utilização de cada método.

Foram encontrados 3 artigos de relevância sobre a mamografia que define o exame como sendo o padrão ouro na detecção precoce do câncer de mama e o mais efetivo da atualidade, tem especificidade de aproximadamente 90%, consegue visualizar de 85 a 90% dos casos, um tumor com mais de dois anos de antecedência de ocorrer comprometimentos dos gânglios, em pacientes com mais de 50 anos (CBR. 2014.).

O objetivo da mamografia é produzir imagens delineadas com alta resolução espacial da estrutura interna da mama para possibilitar bons resultados através de alterações nas mamas, a mamografia seja digital ou convencional apresenta limitações que atestam a necessidade de melhoria no exame em si por utilizar radiação ionizante expõem as mulheres a riscos, por menores que sejam níveis de radiação, pode trazer consequências à saúde em longo prazo (CBR. 2014.).

Os mamógrafos em uso no país são das tecnologias: analógica ou convencional, conhecida como sistema filme-tela intensificadora (SFT), tecnologia digital computadorizada (CR) e digital direta (DR). Na tecnologia SFT, o registro da imagem se dá através de uma combinação padronizada de filme-tela intensificadora no interior de um cassete e exige o uso de uma processadora de filmes, específica e dedicada à mamografia (PINHEIRO *et al.*, 2018).

A tecnologia digital CR emprega o mamógrafo convencional, uma placa de imagem usada dentro de um cassete e um digitalizador para leitura da IP sensibilizada, convertendo as informações obtidas deste processo, em imagem digital (SANTOS, 2010). A digital direta (DR) utiliza um mamógrafo específico equipado com uma matriz de detectores que gera e registra imediatamente a imagem digital da mama (SANTOS, 2010).

Segundo os estudos 2 artigos falam de ressonância magnética que pode ser mais sensível e específica e tem sido frequentemente utilizada, especialmente nas lesões ocultas à mamografia e ultrassonografia confirmando sua capacidade de demonstrar a localização exata da anatomia do tumor e detectar lesões multifocais que a mamografia não conseguiria identificar (ARORA *et al.*, 2014).

Existem algumas vantagens da ressonância magnética frente a mamografia que são o menor grau de radiação, localização, melhor visualização e morfologia de lesões malignas e a real extensão do câncer, admitindo assim um tratamento menos agressivo. Contudo, proporciona desvantagens que dificultam sua difusão como método de alternativa, como sua baixa especificidade, gerando problemas na diferenciação das lesões benignas e malignas como único método complementar, tem um custo muito alto. (MARQUES *et al.*, 2011).

Utilizamos referências já publicadas para realizar essa revisão encontramos apenas 1 artigos que delimita o emprego da ultrassonografia em diagnóstico para câncer de mama, o método diagnóstico da ultrassonografia é vastamente difundido, utilizando como adjuvante à mamografia em casos de achado clínico ou mamográfico anormal, a primeira escolha em frente situações especiais, como por exemplo durante a gravidez, mulheres jovens, lactação e durante os estados inflamatórios da mama. Quando a lesões mamográficas, a ultrassonografia auxilia na caracterização e também na coleta de biópsias, ela é capaz de identificar lesões adicionais em até 13% das mulheres com mamas densas. (CALAS *et al.*, 2011).

Nos artigos estudados constatamos que há estudos de inovações para diagnósticos para câncer de mama e isso se deu através da triagem genética, 4 artigos demonstram essas inovações.

O teste MammaPrint é realizado com 70 genes para ver verificar quais deles são ativos e faz-se o cálculo de uma pontuação que equivale ao risco de recorrência do câncer, em escala de pequeno, médio ou alto. Esse teste poderá ser utilizados para tomar as decisões em tratamento baseado no risco de recorrência em estágios iniciais de RH+(hormônio receptor positivo) ou negativo (KNAUER *et al.*, 2010; SAGHATCHIAN *et al.*, 2013).

Oncotype DX, ele tem o objetivo de calcular os risco de reincidência do tumor em estágio inicial, com receptor hormonal positivo, apresenta também uma boa probabilidade do paciente se beneficiar com quimioterapia após a cirurgia de câncer de mama. Esse método foi muito utilizado para aferir o risco de uma mulher de recorrência de carcinoma ductal in situ (CDIS) e o risco de um possível novo câncer invasivo se desenvolver na mesma mama (LYNCH *et al.*, 2013) O teste é realizado com a análise da atividade de 21 genes, logo após é calculada uma pontuação de recorrência entre 0 e 100, quanto maior a pontuação, maior o risco de recorrência. Destes dois testes, o teste que mais apresenta dados confiáveis é Oncotype DX por isso é justificado sua utilização para tomar decisões no tratamento (CARDOSO *et al.*, 2016).

O tratamento do câncer de mama da-se através de uma escolha da terapia adjuvante que é delimitada através achados biológicos do tumor, no entanto existe uma diversidade genética dos pacientes e fatores associados ao tumor que determinem uma alta variabilidade interindividual na resposta ao tratamento (ARGALÁCSOVÁ *et al.*, 2015). Quando se utilizada cada opção de tratamento locorregional do câncer de mama é necessário o paciente ser submetido a uma cirurgia e o tratamento com radioterapia, quando o paciente necessita de tratamento sistêmico utilizam-se hormonioterapia a quimioterapia, e a imunoterapia (SMELTZER *et al.*, 2011).

Dentro da rotina médica atualmente estão sendo utilizada a terapia por marcadores moleculares. É significativamente o uso de biomarcadores pois quase sempre significa uma economia considerável ao desenvolvimento clínico de fármacos minimizando o tempo e trazendo melhora na delimitação das populações de cada teste (CABALEIRO *et al.*, 2013)

São vários os fatores que faz-se necessário a aplicação da farmacogenética no tratamento do câncer são esses os fatores alta segurança, alta variabilidade individual da tolerabilidade dos pacientes resposta e na adesão ao tratamento, medicação, sequelas resultantes de falhas terapêuticas, intoxicação e internações de alto custo. Diante dessa realidade no tratamento do câncer estão estudando os desenvolvimentos de uma nova geração de agentes farmacológicos que serão seletivos contra células neoplásicas, permitindo uma melhora significativa na relação risco/benefício de vários tipos de câncer. (PIRANDA; ALVES; JORGE, 2013).

O principal foco da farmacogenética é delimitar os pacientes que poderão apresentar algum tipo de efeito toxicológico na presença de determinados fármacos ou os pacientes terem um benefício ao tratamento individual, que tem o objetivo de promover essa terapia individualizada, minimizando a toxicidade e maximizando a eficácia dos fármacos anti-neoplásicos (PIRANDA; ALVES; JORGE, 2013).

Diante dessas informações desenvolvemos a figura 2 que delimitam quais foram os principais métodos de diagnóstico na atualidade para câncer de mama, a quantidade de artigo que foram utilizados na construção dessa revisão, que falam de cada método e qual era o ano de sua publicação.

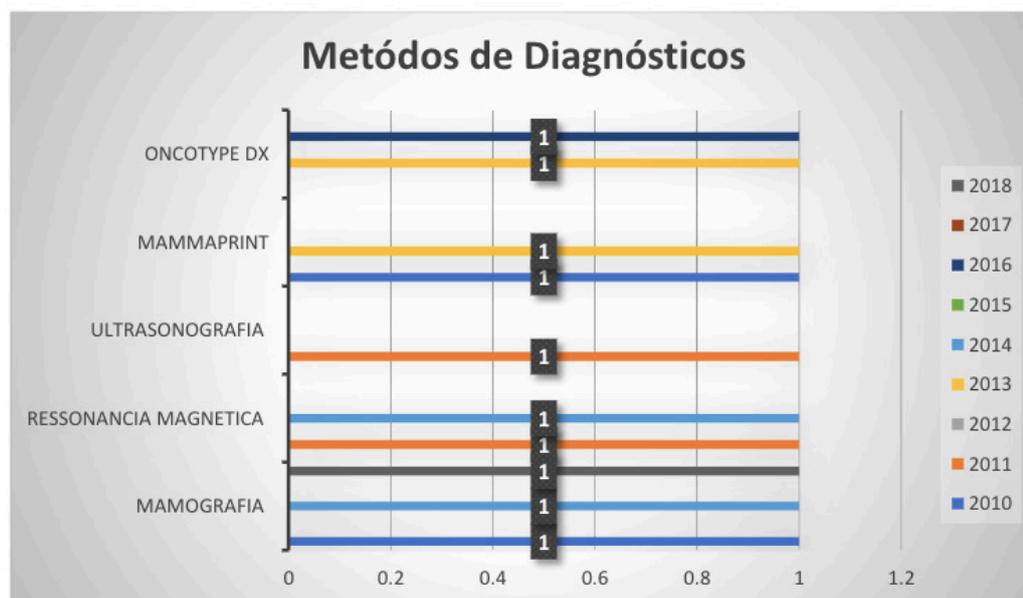


Figura 2: Métodos de diagnóstico, os principais e inovadores métodos usados na atualidade, ano de publicação e quantidade de artigos publicados.

CONCLUSÃO

O câncer de mama é uma neoplasia crescente que tem a consequência de fazer inúmeras vítimas no gênero feminino no mundo, a farmacogenética aposta em identificar os polimorfismos de maneira rápida, economicamente viável e eficiente que como consequência proporcionou auxílio nas pesquisas e desenvolvimento dos estudos farmacogenéticos. Os artigos que estudamos encontramos as amostras dos principais

genes e biomarcadores existentes para diagnósticos e possíveis tratamentos, mesmo diante dessas inovações os exames de diagnósticos ainda são utilizados métodos tradicionais, encontrando apenas 2 novos métodos diagnósticos inovadores. A farmacogenética apresenta um desenvolvimento para o tratamento para o câncer de mama com um medicina personalizada, apesar do objetivo de baixos gastos a essa nova ciência, o desenvolvimento de fármacos exclusivos ainda estão em estudos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus e a nossa senhora da Abadia do Muquém que sempre iluminou meu caminho me dando muita fé e coragem para seguir em frente, a toda a minha família, são as 6 pessoas mais importantes da minha vida apenas para registrar meu pai amado, minha mãe maravilhosa, meu sobrinho que eu amo de todo meu coração, minha cunhada que se tornou uma grande amiga, meu irmão que é como se fosse uma parte de mim , pelo o financiamento dos meus estudos, cada diploma que eu recebo nessa vida dedico a vocês. E em especial ao meu esposo que veio para completar meus dias ,João Pedro que sempre me deu força para seguir em frente, todos os finais de semana que eu tinha que ir para aula, e eu ter que ir pra aula foi desde de o inicio de nosso namoro, com todo amor estava aqui sempre do meu lado até mesmo quando eu estava sem paciência e de bico, de pirraça, com raiva nunca deixou de me apoiar. Não posso esquecer também de todos os amigos e colegas que essa jornada me proporcionou em especial a amizade para vida toda de minha amiga e madrinha de casamento Nayara, e ao professor Dr. Neto que com toda paciência e carinho nos suportou esses dois anos e meio, não há palavras para te agradecer todo o conhecimento passado, muito obrigada!

REFERÊNCIAS

Siegel, RL, Miller, KD, Jemal, A. Estatísticas do câncer, 2015 . CA: Cancer Clin 2015 ; 65 (1): 5 - 29 . Google Acadêmico , Medline.

Nixon, N.A.; Hannouf, M.B.; Verma, S. A review of the value of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-targeted therapies in breast cancer. Eur. J. Cancer 2018.

Scott, S. A. (2011). Personalizing medicine with clinical pharmacogenetics. Genetics in Medicine, 13(12).

Chin, L; Andersen, J.N; Futreal, P.A. Cancer Genomics: From Discovery Science To Personalized Medicine. **Nature Medicine**, V.17, N.3, 2011.

Victoria CG, Barreto ML, do Carmo Leal M, Monteiro CA, Schmidt MI, Paim J, et al. Health conditions and health-policy innovations in Brazil: the way forward. Lancet 2011;

Crews, K.R; Cross, S.J; McCormick, J.N; Baker, D.K; Molinelli, A.R; Mullins, R; Relling, M.V; Hoffman, J.M. Development and Implementation of a Pharmacist-Managed Clinical Pharmacogenetics Service. Am J Health Sys Pharm, v.68, n.2, 2011.

- Anton, E.M; Renner, J.D.P; Valim, A.R.M; Dotto, M.L; Possuelo, L.G. Avaliação Epidemiológica Da Influência Dos Genes Gstm1 E Gstm1 Na Susceptibilidade Ao Câncer De Mama Em Mulheres Atendidas Em Um Hospital Do Sul Do Brasil: Um Estudo-Piloto. **Revista Da Amrigs**, Porto Alegre, V.54, N.4, 2010.
- Monteiro, Hayra de Andrade Vieira Polimorfismos do Gene VEGFA: avaliação de impacto sobre a evolução clínica do câncer de mama. / Hayra de Andrade Vieira Monteiro. -- 2015.
- Pereira, L.C.G; Costa, C.A.S.V; Araújo, G; Lacerda, E.P.S. Análise Do Polimorfismo No Gene Cyp2c29 Em Camundongos Swiss E Sua Influência No Tratamento Do Câncer. Estudos, Goiânia, V.39, N.3, P.321-330, 2012.
- Cabaleiro, T; Pérez, R.P; Ochoa, D; Santos, F.A. Aplicación De La Farmacogenómica Y Otras Nuevas Tecnologías Al Desarrollo De Medicamentos. Medicina Clínica, V.140, N.12, P.558-563, 2013.
- Santos,B.G.Q. A Aplicação Da Farmacogenética Em Contexto De Farmácia Hospitalar, 2017.
- Piranda, D.N; Alves, D.R.F; Jorge, R.V. Farmacogenética E Implicações Terapêuticas No Câncer De Mama, Revista Brasileira De Cancerologia, 2013.
- Migowski, A; Silva, G.A; Dias, M. B. K; Diz, M. D. P. E; Sant'Ana ,D. R. e Nadanovsky, P. Diretrizes para detecção precoce do câncer de mama no Brasil. II – Novas recomendações nacionais, principais evidências e controvérsias. Cad. Saúde Pública 2018.
- Ramos, A; Faria, P.M; Faria. A. Revisão Sistemática De Literatura: Contributo Para A Inovação Na Investigação Em Ciências Da Educação. Revista Diálogo Educ, Curitiba, V.14, N.41, P.17-36, 2014.
- Holstege, H. et al. Cross-species comparison of a CGH data from mouse and human BRCA1- and BRCA2-mutated breast cancers. BMC Cancer, v. 10, p. 455-465, 2010.
- Bayraktar, S. & Arun, B. K. (2016). Epidemiology, Risk Factors, and Prevention.
- Brufsky AM, Hurvitz S, Perez E, Swamy R, Valero V, O'Neill V, et al. RIBBON-2: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase III Trial Evaluating the Efficacy and Safety of Bevacizumab in Combination With Chemotherapy for Second-Line Treatment of Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Metastatic Breast Cancer. J Clin Oncol. 2011 Nov 10;29(32):4286–93.
- Gianni L, Romieu GH, Lichinitser M, Serrano SV, Mansutti M, Pivot X, et al. AVEREL: A Randomized Phase III Trial Evaluating Bevacizumab in Combination With Docetaxel and Trastuzumab As First-Line Therapy for HER2-Positive Locally Recurrent/Metastatic Breast Cancer. J Clin Oncol. 2013 May 10;31(14):1719–25.
- Flores-Ângulo, C.; Villegas, C.; Mora, Y.; Martínez, J. A.; Oropeza, T.; Moreno, N. Variantes Alélicas De Cyp2d6: *4, *6 Y *10 En Una Muestra De Residentes Del Estado Aragua, Venezuela. Ver. Peru Med. Exp. Salud Publica. V. 32, N. 4, P. 746-751, 2015.
- Yonemori K, Tsuta K, Shimizu C, Hatanaka Y, Hiraoka A, Ono M, et al. Immunohistochemical expression of HER1, HER3, and HER4 in HER2-positive breast cancer patients treated with trastuzumab-containing neoadjuvant chemotherapy. J Surg Oncol. 2010.
- Bouchalova, K, Cizkova, M, Cwiertka, K, Trojanec, R, Friedecky, D, Hajdich, M. Lapatinib in breast cancer - the predictive significance of HER2, PTEN and PIK3CA genes and Lapatinib plasma level assessment. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2010;154(4):281–8. Disponível:<http://cbr.org.br/outubro-rosa-acesso-a-mamografia-e-ao-tratamento-e-restrito-no-brasil/>. Postado em: 2 de outubro de 2014, acessado no dia 04 de novembro de 2018.
- Pinheiro M. A.; C. D. Almeida ; J. E. Peixoto ; M. A. S. Valverde ; A. V. Marin: Análise das tecnologias

e doses glandulares médias em mamografia no Brasil no período de 2011 a 2016, BRAZILIAN JOURNAL OF RADIATION SCIENCES 06-03 (2018).

Santos, A. F., 2010, Física Médica em Mamografia, 1ª edição, Rio de Janeiro, Editora Revinter.

Arora TK, Terracina KP, Soong J, Idowu MO, Takabe K. Primary and secondary angiosarcoma of the breast. *Gland Surg.* 2014;3(1):2834.

Marques EF, Medeiros MLL, Souza JA, Mendonça MC, Bitencourt AGV, Chojniak R. Indicações de ressonância magnética das mamas em um centro de referência em oncologia. *Radiol Bras.* 2011 Nov/Dez;44(6):363–366.

Calas, J.G.C.; Castro, F.; Pereira, F.P.A. Ultrassonografia das mamas. Requisitos para o exame de ultrassonografia mamaria. *Tratado de Mastologia da SBM.* Rio de Janeiro: Revinter, 2011.

Knauer, M., Mook, S., Rutgers, E. J. T., Bender, R. A., Hauptmann, M., van de Vijver, M. J., ... van 't Veer, L. J. (2010). The predictive value of the 70-gene signature for adjuvant chemotherapy in early breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 120(3), 655–66.

Saghatchian, M., Mook, S., Pruneri, G., Viale, G., Glas, A. M., Guerin, S., ... van't Veer, L. (2013). Additional prognostic value of the 70-gene signature (MammaPrint®) among breast cancer patients with 4-9 positive lymph nodes.

Lynch HT, Snyder C, Casey MJ. Hereditary ovarian and breast cancer: what have we learned? *Ann Oncol.* 2013;

Cardoso M, Faganello TRC, Frizzo MN. Avaliação os marcadores moleculares de pacientes com carcinoma mamario: Uma revisão. *Revista saude integrada.* 2016.

Argalácsová, S.; Slanař, O.; Vítek, P.; Tesařová, P.; Bakhouche, H.; Draždřáková, M.; Bartošová, O.; Zima, T.; Pertuželka, L. Contribution Of Abcb1 And Cyp2d6 Genotypes To The Outcome Of Tamoxifen Adjuvant Treatment In Premenopausal Women With Breast Cancer. *Physiol. Res.*, V. 64, Supl. 4, P. 539-547, 2015.

Smeltzer, S.; Bare, B.; Hinkle, J.; Cheaver, K. Brunner & Suddarth: *Tratado De Enfermagem Médico-Cirúrgica.* 12. Ed. Rio De Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

INFLUÊNCIA DE REGULADORES DE CRESCIMENTO NA DIFERENCIAÇÃO CELULAR *IN VITRO* DE EXPLANTES FOLIARES DE PEQUIZEIRO (*Caryocar brasiliense*)

Bruno Henrique Gomes

Bioteecnologista e mestre em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia – Minas Gerais

Ana Paula Caetano Procópio

Discente do curso de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia – Minas Gerais

Mariane Rabelo Coelho Fernandes

Bioteecnologista, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia – Minas Gerais

Maristela Mota Morais

Discente do curso de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia – Minas Gerais

Carolina de Souza Misawa

Bioteecnologista, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia – Minas Gerais

Paula Guimarães Rabelo

Bioteecnologista e mestranda em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia – Minas Gerais

Mariana Gonçalves Mendes

Bióloga, e doutoranda em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia – Minas Gerais

Ana Paula Oliveira Nogueira

Docente e Pesquisadora, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia

– Minas Gerais

RESUMO: O pequizeiro (*Caryocar brasiliense*) apresenta sementes com baixa taxa de germinação, assim as técnicas de cultivo *in vitro* são importantes para a produção e micropropagação de mudas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento de explantes foliares juvenis de pequizeiro na regeneração *in vitro*. Foram realizados cinco ensaios com diferentes concentrações e combinações entre auxinas (ácido-2,4-diclorofenoxiacético, ácido indol-3-butírico e ácido naftaleno acético) e citocininas (benzilaminopurina e cinetina). Os experimentos foram instalados no delineamento inteiramente casualizado, sendo que cada tratamento foi composto por três repetições e cada repetição por um frasco de cultivo contendo 10 explantes. Ao final dos 60 dias foram avaliados a porcentagem de enraizamento e formação de calos. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). Observou-se a formação de calos nos explantes foliares a partir do 25º dia estabelecimento. A utilização de 2,0 mg L⁻¹ de cinetina em combinação com 2,0 mg L⁻¹ de ácido 2,4-diclorofenoxiacético levou a 7,34% de calos induzidos. Para a indução de raízes, a utilização de 4,0 mg L⁻¹ de ácido indol-3-butírico isolado ou em combinação com 1,0 mg L⁻¹ ou

2,0 mg L⁻¹ de cinetina permitiu a formação de maior número de raízes por explante inoculado. Mais estudos são necessários para verificar a competência e totipotência celular para a regeneração *in vitro* de explantes foliares de pequi.

PALAVRAS-CHAVE: Calogênese, Rizogênese, reguladores de crescimento,

ABSTRACT: The pequi tree (*Caryocar brasiliense*) have seeds with low germination rate, so *in vitro* cultivation techniques are important for the production and micropropagation of seedlings. The aim of this work was to evaluate the behavior of young leaf explants of pequi tree in the regeneration *in vitro*. Five assays with different concentrations and combinations between auxins (2,4-dichlorophenoxyacetic acid, indole-3-butyric acid and naphthalene acetic acid) and cytokinins (benzylaminopurine and kinetin) were carried out. The experiments were installed in the completely randomized design, with each treatment consisting of three replicates and each replicate by petri dish containing 10 explants. At the end of the 60 days the percentage of rooting and callus formation were evaluated. The data were submitted to analysis of variance and the means were compared by the Tukey test ($p \leq 0.05$). Callus formation was observed in leaf explants after 25th day establishment. The use of 2.0 mg L⁻¹ of kinetin in combination with 2.0 mg L⁻¹ of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, yielding on average 7.34% of callus. For the induction of roots, the use of 4.0 mg L⁻¹ of indole-3-butyric acid alone or in combination with 1.0 mg L⁻¹ or 2.0 mg L⁻¹ of kinetin allowed the formation of more roots per inoculated explant. More studies are needed to verify cell competence and totipotency for *in vitro* regeneration of leaf explants.

KEYWORDS: Calogenesis, Rizogenesis, growth regulators

1 | INTRODUÇÃO

O pequi (*Caryocar brasiliense*) é considerada uma espécie de base econômica extrativista, que alimenta diversas famílias e serve como alternativa de renda, principalmente, para o meio rural (SANTOS et al., 2013). O pequi oferece diversas aplicabilidades desde fonte de alimentação, matriz energética, prospecção de moléculas com efeitos farmacológicos, reflorestamento, madeireiro entre outros usos. Os frutos e folhas são muito utilizados tanto para fins de alimentação quanto terapêuticos (VIEIRA; MARTINS, 2000). Na culinária, a polpa do fruto é empregada em diversas preparações, tais como arroz com pequi, frango com pequi, farofas, paçocas, licores, entre outras (CARRAZA; ÁVILA, 2010).

A expansão das fronteiras agrícolas e a exploração intensiva do cerrado para produção de carvão vegetal nativo, pastagens e urbanização têm posto em risco a preservação e a variabilidade do pequi (JÚNIOR et al., 2004). O extrativismo intensivo pode gerar perdas de material genético e genes de interesse agrônomico e farmacológico, em razão da coleta, consumo e/ou comercialização dos pequis de maior qualidade, oriundos de genótipos superiores, o que impede a reprodução natural a partir das sementes destes frutos (SANTOS et al., 2006).

Outro fator importante para a reprodução natural do pequiyeiro é a dormência de suas sementes. A germinação das sementes do pequiyeiro é lenta, com índices de germinação em torno de 30% - 85% (HERINGER, 1970; MIRANDA, 1986; MELO, 1987; MIRANDA et al., 1988; ARAÚJO, 1994; SÁ et al., 1994) em até um ano da sementeira (HERINGER, 1970; SÁ et al., 1994), sendo que essa grande variação se deve ao método de quebra de dormência empregado (PREIRA et al., 2000). A dormência pode ser ocasionada pelo endocarpo rígido, servindo como impedimento mecânico para o desenvolvimento do embrião (DOMBROSKI, 1998; OLIVEIRA, 2002) e pela dormência do próprio embrião (DOMBROSKI, 1998).

Foram desenvolvidas pesquisas de cultivo *in vitro* desta espécie (SANTOS et al., 2006; SANTOS et al., 2011; DAMASCENA et al., 2014; BRANDÃO et al., 2014) para otimizar e estabelecer técnicas de cultivo de baixo custo e grande taxa de sucesso. Os primeiros trabalhos relacionados ao cultivo *in vitro* do pequiyeiro foram realizados por Cardoso (1991) na germinação de sementes *in vitro*. Mais tarde, Dombroski (1997) realizou estudos sobre a oxidação de segmentos nodais e a indução de calogênese a partir de explantes juvenis obtidos de mudas produzidas *ex vitro*.

Em estudos de regeneração *in vitro*, de explantes caulinares de pequiyeiro, Damascena et al. (2014) avaliaram a influência do Ácido Naftalenoacético (ANA) e do 6-Benzilaminopurina (BAP) na indução de brotações em pequiyeiro. Estes autores obtiveram resultados promissores na obtenção de brotos utilizando 0,5 mg L⁻¹ de BAP e 3,0 mg L⁻¹ de ANA (média de 7,15 brotações por explante). Pesquisa desenvolvida por Brandão et al. (2014) visando o alongamento de explantes de pequiyeiro *in vitro*, mostrou que o desenvolvimento foi possível devido utilização de carvão ativado no meio de cultura.

Há a necessidade de estabelecer técnicas de cultivo e micropropagação *in vitro* de forma a garantir o fornecimento de mudas, pois a produção de mudas do pequiyeiro ocorre apenas através do uso de sementes. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é avaliar as condições de estabelecimento *in vitro* por meio da indução de calos e raízes em explantes foliares de pequiyeiro para subsidiar estratégias de micropropagação da espécie.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

As folhas dos pequiyeiros cultivados em casa de vegetação foram cortadas em fragmentos de 0,5 cm² e estabelecidas em frascos de cultivo. Os explantes foliares foram previamente desinfetados com hipoclorito de sódio 7,5% por 15 minutos antes da inoculação no meio de cultura. Cada frasco de cultivo foi composto por 20 mL do meio de cultura WPM (LLOYD G; MCCOWN B, 1980) acrescido de 30,0 g L⁻¹ de sacarose e 6,5 g L⁻¹ de ágar e 800,0 mg L⁻¹ de polivinilpirrolidona (PVP) suplementados com diferentes concentrações de reguladores de crescimento (Tabela 1). Foram

conduzidos 5 experimentos com combinações de diferentes auxinas e citocininas. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem que ocorreu a 121 °C e 1,1 atm de pressão por 20 min. Os explantes foram mantidos em sala de cultivo por 60 dias sob temperatura de 27 °C ± 2 °C e intensidade luminosa de 35 μmol m⁻² s⁻¹, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias, com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro.

Exp. 1		Exp. 2		Exp. 3		Exp. 4		Exp. 5	
[2,4-D] mg L ⁻¹	[KIN] mg L ⁻¹	[2,4-D] mg L ⁻¹	[BAP] mg L ⁻¹	[AIB] mg L ⁻¹	[KIN] mg L ⁻¹	[BAP] mg L ⁻¹	[AIB] mg L ⁻¹	[BAP] mg L ⁻¹	[ANA] mg L ⁻¹
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	1,0	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0	0,5	0,0	0,5
0,0	2,0	0,0	2,0	0,0	2,0	0,0	0,75	0,0	0,75
0,0	4,0	0,0	4,0	0,0	4,0	0,0	1,0	0,0	1,0
1,0	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0
1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5	0,5	0,5	0,5
1,0	2,0	1,0	2,0	1,0	2,0	0,5	0,75	0,5	0,75
1,0	4,0	1,0	4,0	1,0	4,0	0,5	1,0	0,5	1,0
2,0	0,0	2,0	0,0	2,0	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0
2,0	1,0	2,0	1,0	2,0	1,0	1,0	0,5	1,0	0,5
2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	1,0	0,75	1,0	0,75
2,0	4,0	2,0	4,0	2,0	4,0	1,0	1,0	1,0	1,0
4,0	0,0	4,0	0,0	4,0	0,0	2,0	0,0	2,0	0,0
4,0	1,0	4,0	1,0	4,0	1,0	2,0	0,5	2,0	0,5
4,0	2,0	4,0	2,0	4,0	2,0	2,0	0,75	2,0	0,75
4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	2,0	1,0	2,0	1,0
						3,0	0,0	3,0	0,0
						3,0	0,5	3,0	0,5
						3,0	0,75	3,0	0,75
						3,0	1,0	3,0	1,0

Tabela 1 – Combinações e concentrações de reguladores de crescimento utilizados na instalação dos 5 experimentos (Exp.) de regeneração in vitro de explantes foliares de pequiheiro. Auxinas: 2,4-D - ácido 2,4 diclorofenoxiacético, AIB – ácido indol-3-butírico, ANA – ácido alfa-naftaleno acético. Citocininas: BAP – benzilaminopurina, KIN – cinetina

Os experimentos foram instalados no delineamento inteiramente casualizado, variando entre 16 ou 20 tratamentos dependendo da condição e disponibilidade de material biológico para a condução do ensaio. Cada tratamento foi composto por três repetições e cada repetição por um frasco de cultivo contendo 10 explantes.

Ao final dos 60 dias foram avaliados o número de brotações, número de raízes, comprimento das raízes, pela medida com régua milimetrada e formação de calos por explante (ausência ou presença). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). Quando necessário os dados foram transformados para $\sqrt{x + 1}$.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os reguladores de crescimento exógenos como as auxinas e as citocininas adicionados ao meio de cultura influenciam o metabolismo vegetal e promovem a indução de diferentes rotas metabólicas. A diferenciação do material vegetal *in vitro* culmina no desenvolvimento de raízes, brotos, embriões somáticos e calos, dependendo do estímulo apropriado.

Os experimentos 2, 4 e 5 (Tabela 1) não foram capazes de induzir raízes, calos ou brotos nos explantes foliares de pequiheiro, nas condições testadas. Nestes três experimentos ocorreu a morte do explante e ao final de 60 dias foi possível observar muitos explantes enrugados, entretanto, este enrugamento não se deve às alterações influenciadas pelos reguladores de crescimento, uma vez que foram encontrados explantes enrugados em todos os tratamentos testemunhas (sem adição de reguladores de crescimento).

Foi observada a capacidade de regeneração dos explantes foliares de pequiheiro em formar calos, nas condições do experimento 1 (Figura 1).

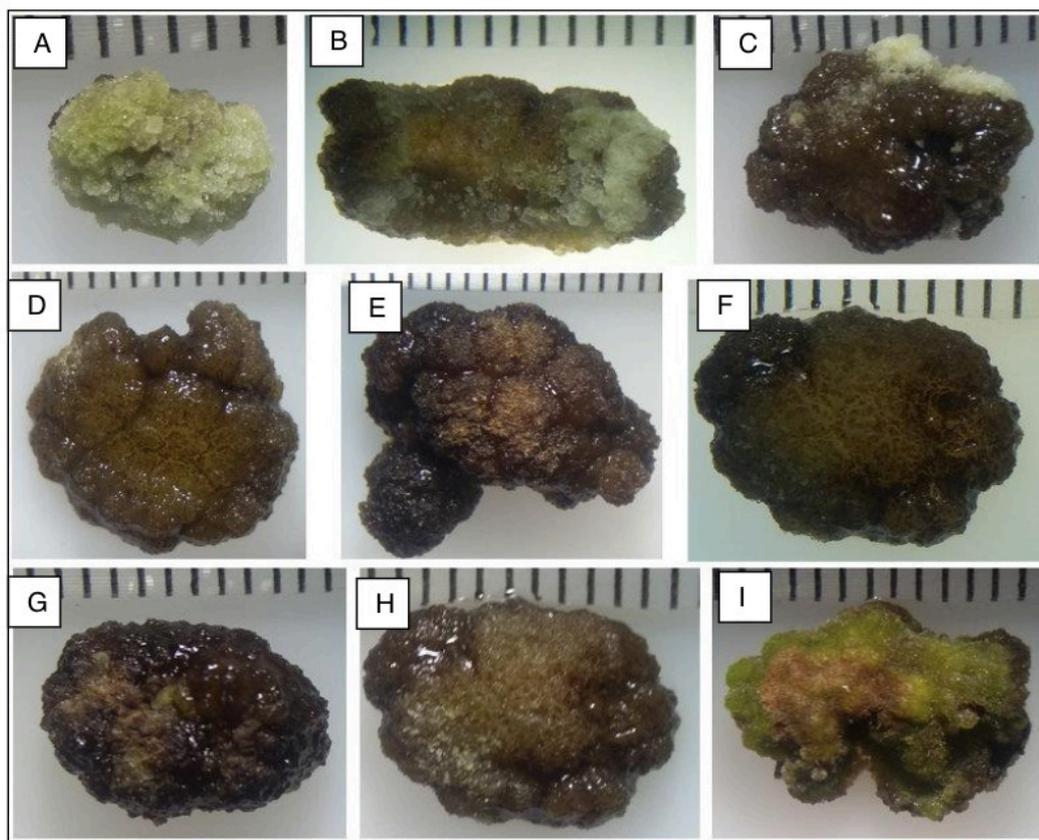


Figura 1 – Calos obtidos a partir de explantes foliares de pequiheiros submetidos a diferentes reguladores de crescimento em meio de cultura WPM. A-B: Calos embriogênicos, C: Calo oxidado com pequenas porções embriogênicas, D-H: Calos oxidados, I: Calo fotossintético.

Fonte: Do autor

A mesma fonte de explante pode apresentar comportamentos diferentes, mesmo quando submetida às condições idênticas. Conforme observado por Landa

et al. (2000), os explantes podem apresentar comportamentos como enrugamento da folha, calos compactos e coloração variando entre o branco, marrom e acinzentado. Estes resultados indicam a ação dos diferentes reguladores de crescimento sobre o metabolismo dos explantes de pequizeiros cultivados *in vitro*, mostrando que o tecido apresenta competência celular.

Observou-se a formação de calos em explantes foliares de pequizeiro a partir do 25º dia estabelecimento *in vitro* no meio de cultivo, em fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro. Landa et al. (2000) demonstraram a competência dos explantes foliares na formação de calos, aos 20 dias de cultivo, em meio WPM (LLOYD G; MCCOWN B, 1980) suplementado com 3% de sacarose e 0,65% de ágar e combinação de reguladores de crescimento de ANA (2,0 mg.L⁻¹) e BAP (0,5 mg.L⁻¹ ou 1,0 mg.L⁻¹).

Novos órgãos vegetais, como raízes e brotos, podem ser induzidos em tecidos nos quais antes não ocorriam, sendo este processo chamado de morfogênese ou organogênese. Foi verificada a regeneração apenas de raízes nos explantes foliares de pequizeiro (Figura 2).

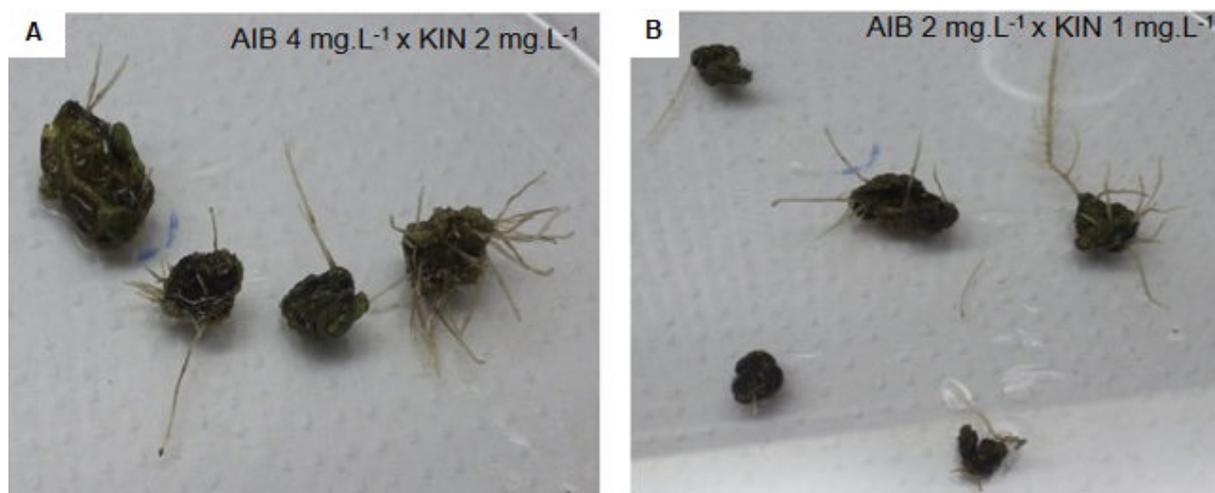


Figura 2 – Organogênese de explantes foliares de pequizeiro submetidos a diferentes concentrações de AIB e KIN para a regeneração de raízes. KIN: Cinetina, AIB: Ácido-3-Indol butírico. Fonte: Do autor

Nos experimentos para a regeneração *in vitro* de explantes foliares de pequizeiro não foi verificada a presença de raízes e/ou brotações nos calos produzidos. As raízes foram induzidas diretamente no explante foliar, sem antes passar pela fase de calo, ou seja, o processo de rizogênese ocorreu de forma direta (Figura 2), e não houve brotações em nenhum dos tratamentos. A tabela 2 mostra a existência de interação significativa (Teste F, $p < 0,01$) para os reguladores de crescimento 2,4-D e KIN na indução de calos, e para AIB e KIN na indução de raízes, bem como para os fatores isoladamente.

Calos - 2,4-D x KIN		
Fatores de variação	GL	QM
2,4-D	3	80,19**
KIN	3	85,65**
2,4-D*KIN	7	65,66**
Resíduo	222	8,04

CV = 136,7%

Raízes – AIB x KIN

Fatores de variação	GL	QM
AIB	3	4,28*
KIN	3	12,53**
AIB*KIN	4	7,78**
Resíduo	98	1,17

CV = 86,84%

Tabela 2 – Resumo da análise de variância para indução de calos e raízes em explantes foliares de pequiheiro produtores de frutos sem espinhos no endocarpo, submetidos a diferentes tratamentos com reguladores de crescimento.

2,4-D: Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético, KIN: Cinetina, CV: Coeficiente de variação, * e **: significativo a 5% e 1% de probabilidade, pelo teste de F

Uma vez que houve interação entre os reguladores de crescimento, constatou-se a combinação que promoveu a maior porcentagem de calos foi com a utilização de 2,0 mg L⁻¹ de KIN em combinação com 2,0 mg L⁻¹ de 2,4-D, com obtenção de, em média, 7,34% de calos induzidos, seguido de 2,0 mg L⁻¹ de KIN em combinação com 1,0 mg L⁻¹ de 2,4-D, com 4,62% de calos (Tabela 3).

Calos				
-----2,4-D mg L ⁻¹ -----				
KIN mg L ⁻¹	0	1	2	4
0	1,00Aa	1,00aA	1,00cA	1,00aA
1	1,00Ba	2,81aAB	1,00bA	2,81aAB
2	1,00Ba	4,62aB	7,34aA	1,00aB
4	1,00Aa	2,81aA	2,81cA	1,00aA

Raízes				
-----AIB mg L ⁻¹ -----				
KIN mg L ⁻¹	0	1	2	4
0	1,00aA	1,00aC	1,00bA	1,38cA
1	1,00aC	1,00aC	1,69aB	2,13bA
2	1,00aB	1,00aB	1,00bB	2,74cA
4	1,00aA	1,00aA	1,00bA	1,00cA

Tabela 3 – Porcentagem de indução de calos e média de raízes por tratamento, induzidos em explantes foliares de pequiheiro

2,4-D: Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético, KIN: Cinetina. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem estatisticamente entre si.

Para a indução de raízes, a utilização de 4,0 mg L⁻¹ de AIB isolado ou em combinação com 1,0 mg L⁻¹ de KIN ou 2,0 mg L⁻¹ de KIN permitiu a formação de maior número de raízes por explante inoculado (Tabela 3). Pela análise da Tabela 3, pode-se verificar que há dificuldade em se obter um protocolo eficaz e com alto rendimento de diferenciação e regeneração celular, mesmo com a utilização diferentes reguladores de crescimento e em diferentes combinações de doses de auxinas e citocininas. A indução de raízes adventícias tem ocorrido, na maioria das vezes, de forma empírica, a partir da adição de auxinas no meio de cultura, levando a uma alteração na relação auxina/citocinina endógena dos tecidos (LEMOS, 2010).

Santos et al. (2006) obtiveram altos níveis de raízes mediante a utilização de 3 mg L⁻¹ de AIB, o qual proporcionou a indução de raízes em 100% dos explantes, gerando um número médio de 12,87 raízes por brotação. Para estes autores, as raízes desenvolvidas no meio de cultivo contendo carvão ativado foram maiores (33,16 mm), com maior número de raízes secundárias (média de 19,53).

Apesar da dificuldade para obtenção de plântulas *in vitro* de pequiheiro, pesquisas mostram que é possível estabelecer o cultivo *in vitro* da espécie. Damascena et al. (2014) : “Influência do ácido Naftalenoacético (ANA demonstraram a eficiência da indução de brotações em segmentos nodais, obtidos *in vitro* a partir de sementes de *C. brasiliense*. Estes autores obtiveram indução de brotações de pequiheiro com a utilização de 0,05 mg L⁻¹ de ANA + 0,5 mg L⁻¹ de BAP (com média de 4,79 brotações por explante) e 0,05 mg L⁻¹ de ANA + 3,0 mg L⁻¹ de BAP (com média de 6,59 brotações por explante) em meio de cultivo WPM acrescido de 30 mg L⁻¹ de sacarose, 7,0 mg L⁻¹ de ágar e antioxidantes (800 mg L⁻¹ de ácido ascórbico, 400 mg L⁻¹ de PVP).

Avaliando a capacidade de formação de brotos e raízes em segmentos nodais, Santos et al. (2006) utilizaram diferentes combinações de BAP e ANA em meio de cultura WPM contendo 800 mg L⁻¹ de PVP, 30 mg L⁻¹ de sacarose, 7 mg L⁻¹ de ágar e carvão ativado (0 g L⁻¹ e 4 g L⁻¹). De acordo com estes autores melhores brotações foram obtidas com 0,05 mg L⁻¹ de ANA combinada 0,75 mg L⁻¹ de BAP (média de 6 brotações por explante), induzindo maior número de gemas por explante (17,4), o que proporcionou a maior taxa de multiplicação (8,7).

Conforme verificado nos explantes foliares de pequiheiro no presente estudo, mesmo realizando ensaios em que o objetivo era a indução de brotações, esta rota não foi observada. Isto pode ser explicado pela competência celular. As células competentes possuem a habilidade de se dividir e seguir em direção de um novo caminho de desenvolvimento. Entretanto, esse caminho pode ser limitado, pois as células competentes para formar brotos nem sempre são competentes para formar raízes, e vice-versa (LEMOS, 2010).

A utilização de calos para a multiplicação de espécies é uma alternativa promissora, uma vez que, de uma única massa celular com crescimento desorganizado, pode-se formar um grande número de plantas através da micropropagação. Para o pequiheiro,

esta forma de reprodução se torna importante do ponto de vista comercial, pois pode resultar em plantas uniformes quanto às características de crescimento, floração, frutificação, sendo estas características desejadas do ponto de vista agrônomo.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos e nas condições testadas, explantes foliares de pequi apresentam competência e totipotência celular para a regeneração *in vitro* em calos e raízes, mostrando-se promissores para serem empregados em processos de micropropagação. Estudos devem ser aprofundados para viabilizar esta técnica biotecnológica de produção de mudas *in vitro*.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho faz parte da dissertação de mestrado do primeiro autor. Os autores agradecem à Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- CARDOSO, E. N. Multiplicação de pequi *in vitro* a partir de sementes. In: 1º Encontro de Botânicos do Centro-Oeste, Brasília. **Anais...** Brasília: UNB, 1991. p. 49.
- CARRAZA, L.R.; ÁVILA, J.C.C. Manual Tecnológico de aproveitamento integral do fruto do pequi (*Caryocar brasiliense*). **Instituto Sociedade, População e Natureza**. 2ª edição, p.47, 2010.
- DAMASCENA, N. D. S. et al. Influência do Ácido Naftalenoacético (ANA) e do 6-Benzilaminopurina (BAP) na indução de brotações em pequi. Anais do XI Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da EPAMIG. **Anais...** Belo Horizonte: 2014, Disponível em: http://www.epamig.br/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=142
- DOMBROSKI, J. L. D. **Estudos sobre a propagação do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 1997. 80 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.
- DOMBROSKI, J. L. D.; PAIVA, R.; CAMARGO, I. P. Efeito da escarificação sobre a germinação do pequi. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 20, p. 68-73, 1998.
- HERINGER, E. P. **Pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess)**. Brasil Florestal, Rio de Janeiro, v. 1, p. 28-31, 1970.
- JÚNIOR, A. F. de M. et al. Genetic structure of natural populations of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Scientia Forestalis**, n. 66, p. 56–65, 2004.
- LANDA, F. DE S. L. et al. Indução *in vitro* de calos em explantes foliares de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, n. E, p. 56–63, 2000.

LEMOS, E. E. P. Oorganogênese. In: CID, L. P. B. Cultivo in vitro de plantas. Embrapa, 2010, p. 104-127

LLOYD G; MCCOWN B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmia latifolia* by use of shoot-tip culture. **Proceedings of International Plant Propagation Society**, v. 30, p. 421–427, 1980.

MELO, J. T. **Fatores relacionados com a dormência da semente de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 1987. 91 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura de Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1987.

MIRANDA, J. S. **Contribuição ao estudo da cultura do piqui (*Caryocar* sp.): propagação e concentração de nutrientes**. 1986. 103 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 1986.

MIRANDA, J.S.; SILVA, H.; MATOS, M. A. de O. Emergência e vigor de sementes de pequi submetidas a pré-tratamentos mecânicos e térmicos. In: 9º Congresso Brasileiro de Fruticultura, 1988, Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, p. 647-651, 1988.

PREIRA, A. V. et al. **Pequi produção de mudas**. Embrapa Cerrados, 2000. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/546754/pequi-producao-de-mudas>>.

SÁ, C. C. G. et al. Efeito de diferentes tratamentos na germinação do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Acta Botânica Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 109-120, 1994.
<https://doi.org/10.1590/S0102-33061994000100011>

SANTOS, B. R. et al. Germinação *in vitro* e *ex vitro* de sementes de pequi [*Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae)]. **Naturalia**, v. 34, p. 43–47, 2011.

SANTOS, B. R. et al. Micropropagação de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p. 293–296, 2006.
<https://doi.org/10.1590/S0100-29452006000200031>

SANTOS, F. S. et al. A cultura do pequi (*Caryocar brasiliense* CMB), **Acta Iguazu**, v. 2, n. 3, p. 46-57, 2013.

VIEIRA, R. F.; MARTINS, M. V. M. Recursos genéticos de plantas medicinais do Cerrado: uma compilação de dados. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, v. 3, n. 1, p. 13–36, 2000.

INFLUÊNCIA DA SONICAÇÃO NO TAMANHO DE GOTÍCULA DE NANOEMULSÕES CONTENDO EXTRATO DE *Physalis Peruviana*

Suelen Santos da Silva

Universidade Federal de Santa Maria,
Departamento de Tecnologia e Ciência dos
Alimentos
Santa Maria – RS

Maiara Taís Bazana

Universidade Federal de Santa Maria,
Departamento de Tecnologia e Ciência dos
Alimentos
Santa Maria - RS

Cristiane de Bona da Silva

Universidade Federal de Santa Maria,
Departamento de Farmácia Industrial
Santa Maria - RS

Cézar Augusto Bizzi

Universidade Federal de Santa Maria,
Departamento de Química
Santa Maria - RS

Cristiano Ragagnin de Menezes

Universidade Federal de Santa Maria,
Departamento de Tecnologia e Ciência dos
Alimentos
Santa Maria - RS

Cristiane Franco Codevilla

Universidade Federal de Santa Maria,
Departamento de Tecnologia e Ciência dos
Alimentos
Santa Maria - RS

uma fruta rica em compostos bioativos. Esses compostos são instáveis a exposição de fatores químicos e físicos, além de possuírem baixa solubilidade em água. A associação de produtos naturais com sistemas nanoestruturados vem somando no desenvolvimento de pesquisas e aprimoramentos no controle da estabilidade, da solubilidade, da biodisponibilidade e da liberação dos bioativos. A nanoemulsão é um sistema constituído por uma fase dispersa e outra contínua, com boa estabilidade devido a faixa de tamanho de gota, entre 50 e 1000 nm. A sonicação aplicada no processo de nanoemulsificação é rápida e mais eficiente para diminuir o tamanho de gota e o índice de polidispersão. Otimizando parâmetros como tempo e frequência, foi possível observar uma influência positiva da energia ultrasônica sob a formulação de nanoemulsão. Neste trabalho, as análises de tamanho apontaram o banho de ultrassom com frequência de 37 kHz como tendo a melhor nanoemulsão com tamanho de gota inferior a 200 nm, com baixa polidispersão e sem a presença de micropartículas.

PALAVRAS-CHAVE: Nanoemulsão, ultrassom, *Physalis peruviana*

ABSTRACT: *Physalis peruviana* (goldenberry) is a fruit rich in bioactive compounds. These compounds are unstable to expose chemical and physical factors, in addition to having low

RESUMO: *Physalis peruviana* (goldenberry) é

solubility in water. The association of natural products with nanostructured systems has added to the development of research and improvements in the control of stability, solubility, bioavailability and bioactive release. The nanoemulsion is a system consisting of a dispersed and a continuous phase, with good stability due to the droplet size range, between 50 and 1000 nm. The sonication applied in the nanoemulsification process is quick and more efficient to decrease the droplet size and the polydispersity index. Optimizing parameters such as time and frequency, it was possible to observe a positive influence of the ultrasonic energy under the nanoemulsion formulation. In this work, the size analyzes pointed to the ultrasonic bath with a frequency of 37 kHz as having the best nanoemulsion with droplet size of less than 200 nm, with low polydispersion and without the presence of microparticles.

KEYWORDS: Nanoemulsion, ultrasound, *Physalis peruviana*

1 | INTRODUÇÃO

No gênero *Physalis* podem ser encontradas aproximadamente 120 espécies espalhadas nas zonas temperadas do planeta, principalmente no sul da América do Norte e na América do Sul (Nurit Silva; Agra, 2005). A *Physalis peruviana* é a espécie de *physalis* mais conhecida. É um fruto que varia da cor amarela até um laranja escuro, com forma e estrutura semelhante ao tomate, porém de tamanho menor que este (Alvarado et al., 2004). Os frutos podem ter até 300 sementes e pesar entre 4 e 10 g cada, além de serem envoltos por um cálice (Avila et al., 2006). A *Physalis peruviana* é rica em compostos bioativos, como vitamina A e C, fitoesteróis, β -caroteno, fisalinas, entre outros, que tem como propriedades a ação antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana e imunossupressora (Ramadan; Morsel, 2003; Briones-Labarca et al., 2013; Kuspka; Jélen, 2016).

Buscando amenizar os problemas que os compostos bioativos apresentam, tais como baixa solubilidade em água e a instabilidade frente a altas temperaturas, exposição a luz e oxigênio, tem-se procurado alternativas como micro e nanoencapsulação desses compostos, visando também a melhor absorção e aumento da biodisponibilidade dos mesmos (Codevilla et al., 2015; Schmaltz et al., 2005).

Compostos nanoestruturados conferem vantagens como direcionamento da substância ativa no sítio de ação, aumentando o efeito terapêutico e/ou diminuindo os efeitos adversos, além de melhorar a biodisponibilidade (Couvreur et al., 2002; Schaffazick et al., 2003). Dentre os principais nanocarreadores estudados estão as nanoemulsões, que são um sistema constituído por gotículas de óleo estabilizadas por tensoativos (Guterres et al., 2007; Anton et al., 2008). As nanoemulsões, ao contrário das microemulsões, não necessitam de grandes quantidades de tensoativos (entre 5 e 10%) e são sistemas estáveis por possuírem pequeno tamanho de glóbulo, que proporciona grande redução na força de gravidade superada pelo movimento browniano (Capék, 2004; Fernandez et al., 2004; Tadros et al., 2004). As nanoemulsões podem

ser do tipo água-em-óleo (A/O) ou óleo-em-água (O/A). O que definirá o tipo será a afinidade dos tensoativos pelas fases, aquosa e oleosa (Daudt et al., 2013). Quando a nanoemulsão for do tipo A/O, significa que a fase externa é a oleosa; quando for do tipo O/A, a fase externa é a aquosa (Pays et al., 2002).

Para que as nanoemulsões sejam formadas é necessário energia, geralmente de dispositivos mecânicos ou a partir do potencial químico dos componentes do sistema (Assis et al., 2012). As nanoemulsões podem ser preparadas usando os métodos de alta ou de baixa energia. Nos métodos de alta energia estão a homogeneização à alta pressão, a sonicação e a microfluidização. Nos de baixa energia, é utilizada a energia química armazenada nos componentes do nanosistema como, por exemplo, a emulsificação espontânea e a inversão de fases (Solans et al., 2005; Anton et al., 2008).

O ultrassom é usado em uma ampla gama de processos químicos, físicos e biológicos. Homogeneização, emulsificação, e dispersão são exemplos de processos físicos. A maioria das aplicações de ultrassom de alta intensidade são baseados em efeitos de cavitação. Os efeitos físicos da cavitação estão sendo usados em uma geração *top-down* de nanopartículas. Nesse caso, as partículas são reduzidas em tamanho pelas forças de cavitação, ou seja, a quebra de aglomerados e agregados (Hielscher, 2005). A sonicação é uma técnica rápida e eficiente para desenvolvimento de um sistema nanoemulsionado com boa estabilidade, tamanho de gota pequeno e baixo índice de polidispersão (Lin; Chen, 2008). O tamanho do diâmetro das gotículas pode ser controlado através de parâmetros do processo, tais como a concentração do óleo, a quantidade de tensoativo, a viscosidade da fase contínua e o tempo de emulsificação (Nakabayashi et al., 2011). A intensidade de sonicação é um dos parâmetros que tem grande influência no processo de emulsificação, visto que com o seu aumento, o tamanho das gotículas diminui (Almeida et al., 2008).

O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da sonicação no tamanho de gota de nanoemulsões do tipo óleo em água, usando diferentes frequências de banho e sonda de ultrassom.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Physalis peruviana foi obtida da empresa Italbraz[®] localizada na região de Vacaria-RS. Etanol, metanol e acetona foram adquiridos da Dinâmica (São Paulo, Brasil). Tween 80 foi adquirido de Synth (São Paulo, Brasil), Span 80 foi adquirido de Fluka (São Paulo, Brasil) e Triglicerídeos de Cadeia Média (TCM) foi adquirido de Delaware (Porto Alegre, Brasil).

2.2 Extrato de Physalis

O extrato hidroalcoólico na figura 1, foi preparado seguindo a metodologia de Codevilla et al. (2018). A fruta *Physalis* foi previamente pesada (15 g) e macerada com o auxílio de grau e pistilo, após, 25 mL de etanol 60% (v/v) foi adicionado, e a mistura foi submetida a agitação mecânica por 2 horas, protegida da luz. O extrato foi filtrado com um filtro de poliamida de 0,45 μm de porosidade (Sartorius Stedim Biotec) e armazenado em frasco âmbar sob refrigeração (4 °C) até sua utilização.

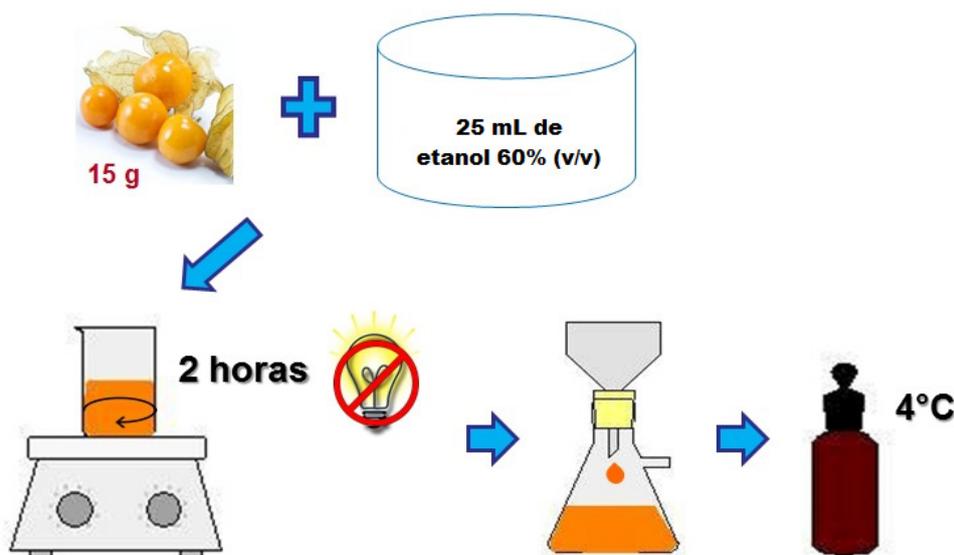


Figura 1. Esquema de obtenção do extrato hidroalcoólico de *Physalis peruviana*. Fonte: o autor.

2.3 Nanoemulsão

Um mapeamento prévio dos banhos de ultrassom (US) foi feito usando uma régua, caneta e papel alumínio. Três profundidades (fundo, meio e superfície do banho) foram avaliadas. As formulações foram preparadas de acordo com o método descrito por Bouchemal e colaboradores (2004), com algumas modificações. A fase orgânica consistiu de Span 80 (0,077 g), TCM (0,165 g), acetona (27 mL) e extrato de physalis (20 mg mL⁻¹), e a fase aquosa consistiu de água ultrapura (54 mL) e Tween 80 (0,077 g). A fase orgânica foi vertida sob a fase aquosa com auxílio de uma seringa sem agulha, sob sonicação em banhos de diferentes frequências (25, 35, 37, 45, 80 e 130 kHz) ou sonda ultrassônica com frequência de 20 kHz (ambos da Elma Ultrasonic, Singen, Alemanha) pelos tempos de 3 e 10 minutos, em temperatura ambiente. Após o término da nanoemulsificação, o solvente orgânico foi evaporado sob pressão reduzida em rotaevaporador (Rotavapor R-210, Buchi, Flawil, Suíça) e o volume final da formulação foi fixado em 10 mL (20 mg mL⁻¹ de extrato de *Physalis peruviana*). O mesmo procedimento foi realizado para preparação de nanoemulsão contendo extrato de *Physalis* usando um método de baixa energia, a emulsificação espontânea com agitação magnética ao invés da sonicação. As amostras foram armazenadas em

frasco âmbar sob refrigeração (4 °C) até sua utilização.

2.4 Análise do tamanho de gota

As análises de diâmetro médio e índice de polidispersão foram realizadas em espectrômetro de correlação de fótons (ZetaSizer Nanoseries, Malvern, United Kingdom). Foi retirada uma alíquota da nanoemulsão e feita uma diluição em água ultrapura (1:500). A análise de tamanho e verificação da ausência de gotas em escala micrométrica foi realizada através de difratômetro a laser (Master Sizer 3000 E, Malvern, United Kingdom).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo Bouchemal e colaboradores (2004), a emulsificação espontânea é produzida por diferentes mecanismos os quais parecem ser afetados pela composição do sistema e suas características físico-químicas. Para Martini e colaboradores (2007) e Santos Magalhães e colaboradores (2000), o tamanho e a distribuição das gotículas são fortemente afetados pela natureza do solvente usado durante o processo de emulsificação espontânea, concentração do soluto, viscosidade do óleo, do tensoativos e principalmente pela energia aplicada no sistema, nesse caso, agitação magnética.

A determinação do diâmetro médio de gotícula das nanoemulsões é uma análise fundamental, pois o tamanho está diretamente ligado à estabilidade do sistema (Bruxel et al., 2012). O diâmetro é influenciado pela composição quali e quantitativa das formulações e pelo método de preparo utilizado. (Benita; Levy, 1993). Outro parâmetro importante na avaliação de tamanho de gotícula é o índice e polidispersão. Esse índice fornece informações a respeito da homogeneidade da distribuição dos tamanhos de gotícula do sistema. Valores menores que 0,3 de índice de polidispersão (PDI) indicam que o sistema é monodisperso (Lemos-Senna, 2011).

As nanoemulsões obtidas com agitação magnética para os tempos de 3 e 10 minutos apresentaram, respectivamente, 431 nm e 258 nm de tamanho de gota e um índice de polidispersão maior que 0,3. Mezadri (2010) elaborou nanoemulsão contendo extrato etanólico da polpa dos frutos de *Syagrus romanzoffiana*, obtida por método de baixa energia, que apresentou tamanho de glóbulo inferior a 200 nm, porém o valor de índice de polidispersão foi maior que 0,3, o que não é desejável para um sistema homogêneo e estável. A inerente estabilidade das nanoemulsões está diretamente relacionada ao processo de preparo que confere estabilização estérica, quando se emprega tensoativos não-iônicos e/ou polímeros; e ao diminuto tamanho dos glóbulos, cujo movimento browniano diminui a atuação da força da gravidade, prevenindo assim fenômenos de instabilidade (Tadros et al., 2004; Fernandez et al., 2004).

O banho e o homogeneizador ultrassônico, conhecido como sonda de US, são os equipamentos mais comumente empregados em laboratórios. Ambos são constituídos por um quartzo piezoelétrico, que pode expandir e contrair em resposta a voltagens

elétricas alternadas, gerando ondas sonoras. Com a utilização das ondas sonoras, ocorrem vibrações mecânicas seguidas da formação de cavitação acústica. Cavitação é a formação, crescimento e o implosivo colapso de bolhas em um líquido. Colapso cavitacional produz aquecimento local intenso (~ 5000 K), altas pressões (~ 1000 atm), altas taxas de aquecimento e resfriamento ($> 10^9$ K seg^{-1}), além de correntes de jato líquido (~ 400 km h^{-1}). O colapso destas cavidades gera ondas de choque potentes, que quebram as gotículas em tamanho menores (Gosh et al., 2013; Suslick, 1998).

A frequência é diretamente proporcional a energia, ou seja, quanto maior a frequência maior a energia dissipada. A energia está ligada a intensidade, que é um parâmetro que tem grande influência no processo, pois com seu aumento, o tamanho de gota diminui. Mosavian e Hassani (2010) e Hielscher (2005) verificaram que a frequência e o tempo de sonicação, dentre outros parâmetros, influenciam diretamente no tamanho de gota de sistemas emulsionados. Na tabela 1, observam-se os resultados de tamanho de gota encontrados para as diferentes frequências dos banhos e sonda de US.

US/Frequência (kHz)	Tempo (min)	Difração a laser		Correlação de fótons	
		D [4:3] (μm)	Span	Diâm. Méd. (nm)	PDI
Banho / 25	3	0,494	0,610	186	0,093
Banho / 25	10	0,491	0,610	297	0,221
Banho / 35	3	0,495	0,607	250	0,262
Banho / 35	10	0,510	0,623	253	0,292
Banho / 37	3	0,490	0,607	169	0,141
Banho / 37	10	0,478	0,624	162	0,166
Banho / 45	3	0,862	0,977	308	0,292
Banho / 45	10	0,488	0,609	173	0,115
Banho / 80	3	0,505	0,612	198	0,128
Banho / 80	10	0,602	0,646	193	0,128
Banho / 130	3	0,529	0,645	225	0,184
Banho / 130	10	0,758	0,791	216	0,157
Sonda / 20	3	1,820	4,586	178	0,125
Sonda / 20	10	3,540	5,629	163	0,173

Tabela 1. Resultados de tamanho de gota das nanoemulsões para diferentes frequências nos tempos de 3 e 10 minutos.

Apesar da análise de espectroscopia de correlação de fótons ter apresentado tamanho de gota na faixa de nanômetros para as amostras elaboradas por sonda de US, os valores obtidos na análise por difração a laser, tanto para o tempo de 3 quanto para o de 10 minutos, mostraram a presença de micropartículas, além de um alto valor de dispersão, chamado de Span. De acordo com Washington e Davis (1988) o método com sonda de US, embora conveniente e de baixo custo, tem numerosas desvantagens, incluindo o excessivo aquecimento da amostra, a contaminação do

produto com resíduos de titânio provenientes da sonda e a ocorrência de ampla distribuição do tamanho de gotícula, que impede a reprodutibilidade do tamanho de gotícula nos produtos obtidos.

Segundo Avvaru e Pandit (2008), a posição da amostra em determinada profundidade e lado na cuba do banho de US também influencia no melhor aproveitamento da eficiência das bolhas de cavitação e, conseqüentemente no tamanho de gota. Foi realizado um mapeamento dos banhos em diferentes frequências, onde foi possível observar a localização ótima da amostra na cuba. Na figura 2, observa-se o mapeamento do banho de 37 kHz nas profundidades e diferentes áreas/lados de localização do recipiente da amostra. Como o recipiente de emulsificação era pequeno, devido ao volume de amostra, e o mapeamento da superfície mostrou a área central com maior incidência de ondas mecânicas, optou-se pelo uso dessa profundidade (2 cm) (figura 2A) nesse banho, dessa forma mantendo também a reprodutibilidade.

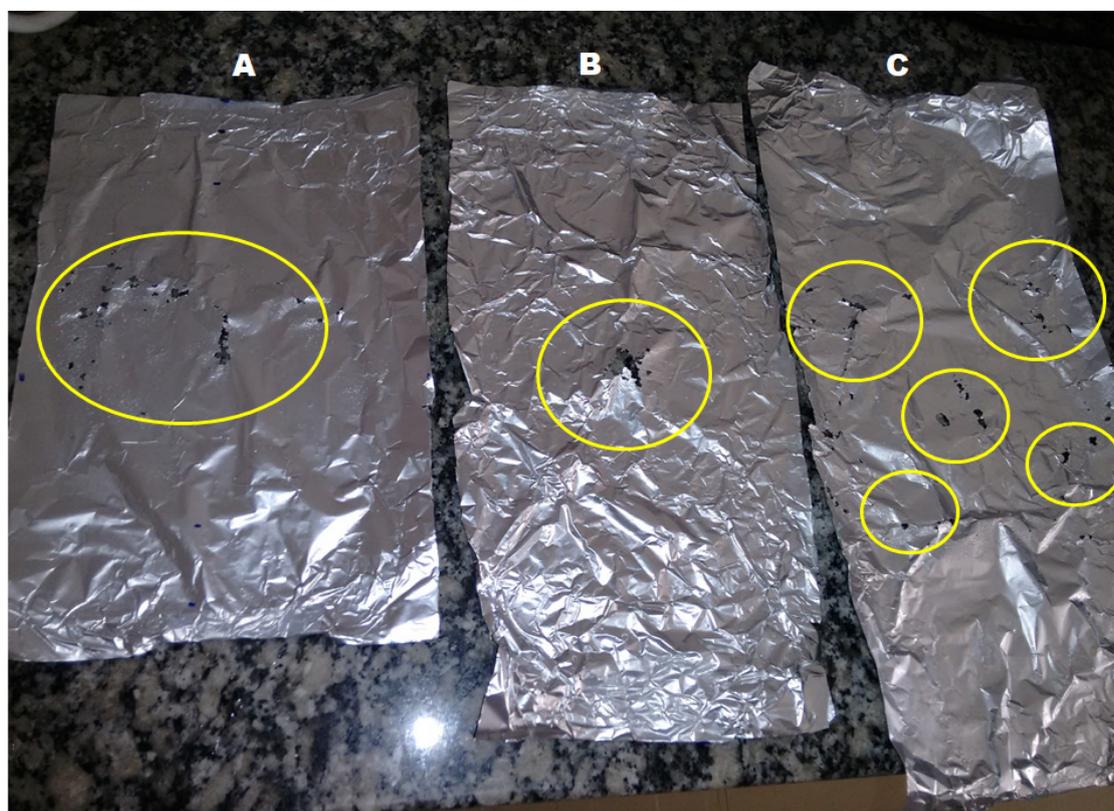


Figura 2. Mapeamento do banho de US de 37 kHz, onde A é mapeamento de maior concentração de energia na superfície do banho, B na altura média do banho e C no fundo da cuba do banho. Fonte: o autor.

As formulações elaboradas com banho de US na frequência de 37 kHz com tempos de 3 e 10 minutos tiveram melhor granulometria e distribuição de gotas (tabela 1 e figura 3) pela análise de difração a laser. É possível observar (figura 3) que não houve picos na faixa micrométrica no gráfico, indicando que não há presença de micropartículas em ambos tempos de sonicação. Essa também foi a condição que apresentou menor tamanho de gota e PDI, pela análise de espectroscopia de

correlação de fótons, quando comparados aos resultados de outras condições de frequência e tempo (tabela 1).

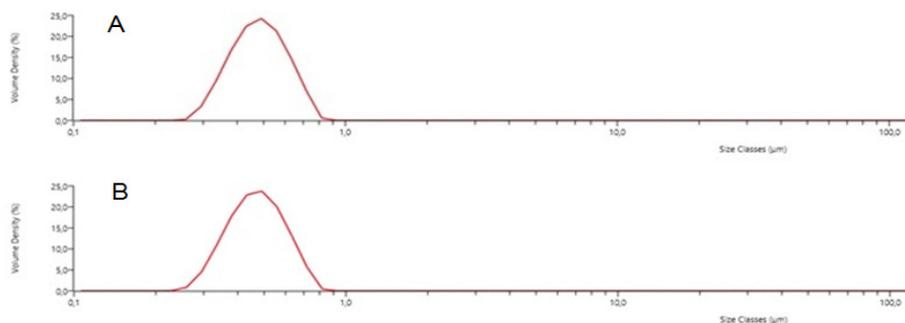


Figura 3. Gráfico da distribuição do tamanho de gota da nanoemulsão contendo extrato de *Physalis peruviana*, por análise de difração a laser. Banho de US, frequência de 37 kHz (A) 3 minutos e (B) 10 minutos.

4 | CONCLUSÃO

A sonicação é um eficiente método de nanoemulsificação, possibilitando um menor tamanho de gotícula e menor índice de polidispersão quando comparado ao método convencional com agitação magnética. Com isso, as duas análises de tamanho de gota apontaram o banho de US na frequência de 37 kHz como sendo a melhor opção para otimização do tamanho das gotículas em nanoemulsão de extrato de *Physalis peruviana*.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. E.; TEIXEIRA, E. F.; KOESTER, L. S. **Preparação de Emulsões Submicrométricas: Aspectos Teóricos sobre os Métodos Empregados na Atualidade.** Latin American Journal of Pharmacy, v. 27, p. 780-788, 2008.
- ALVARADO, P.A.; BERDUGO, C.A.; FISCHER, G. **Efecto de um tratamiento a 1,5 °C y dos humedades relativas sobre las características físico-químicas de fruto de uchuva *Physalis peruviana* L. durante el posterior transporte y almacenamiento.** Agronomía Colombiana, v. 22, p. 147-159, 2004.
- ANANDHARAMAKRISHNAN, C. **Techniques for Nanoencapsulation of Food Ingredients.** Springer, p. 1-89, 2014.
- ANTON, N.; BENOIT, J. P.; SAULNIER, P. **Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates- a review.** Journal of Controlled Release, v. 128, p. 185-199, 2008.
- ASSIS, L. M.; ZAVAREZE, E. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SOUZA-SOARES, L. A. **Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos.** Brazilian Journal of Food Technology, v. 15, n. 2, p. 99-109, 2012.

- AVILA, J. A.; MORENO, P.; FISCHER, G.; MIRANDA, D. **Influencia de la madurez del fruto y del secado del cáliz en uchuva (*Physalis peruviana* L.), almacenada a 18 °C.** Acta Agronomica (Colombia), v. 55, p. 29-38, 2006.
- AVVARU, B.; PANDIT, A. B. **Experimental investigation of cavitation bubble dynamics under multifrequency system.** Ultrasonics Sonochemistry, v. 15, p. 578-589, 2008.
- BENITA, S.; LEVY, M. Y. **Submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration: comprehensive physicochemical characterization.** Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 82, n. 11, p. 1069-1079, 1993.
- BRIONES-LABARCA, V.; GIOVAGNOLI-VICUÑA, C.; FIGUEROA-ALVAREZ, P.; QUISPE-FUENTES, I. E. PÉREZ-WON, M. **Extraction of β -carotene, vitamin C and antioxidant compounds from *Physalis peruviana* (Cape Gooseberry) assisted by high hydrostatic pressure.** Food and Nutrition Sciences, v. 4, p. 109-118, 2013.
- BRUXEL, F.; LAUX, M. WILD, L. B.; FRAGA, M.; KOESTER, L. S.; TEIXEIRA, H. F. **Nanoemulsões como sistemas de liberação parenteral de fármacos.** Quimica Nova, v. 35, n. 9, p. 1827-1840, 2012.
- BOUCHEMAL, K.; BRIANÇON, S.; PERRIER, E.; FESSI, H. **Nanoemulsion formulations using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimization.** International Journal of Pharmaceutics, v. 280, n° 1, p. 241-251, 2004.
- CAPEK, I. **Degradation of Kinetically-stable o/w emulsions.** Advances in Colloid Interfacial Science, Amsterdam, v. 107, p. 125-155, 2004.
- CODEVILLA, C. F.; BAZANA, M. T.; SILVA, C. B.; BARIN, J. S.; MENEZES, C. R. **Nanoestruturas contendo compostos bioativos extraídos de plantas.** Ciência e Natura, v. 37, p. 142-151, 2015.
- CODEVILLA, C. F.; TISCHER, B.; GINDRI, A. L.; NOGUEIRA-LIBRELOTTO, D. R.; BARIN, J. S.; SILVA, C. B.; ROLIM, C. M. B.; ZEPKA, L. Q.; MENEZES, C. R. **Cytotoxicity and antioxidante of goldenberry extracts obtained with high intensity ultrasound.** Ciência Rural, v. 48, n.2, e20170362, 2018.
- COUVREUR, P.; BARRATT, G.; FATTAL, E.; LEGRAND, P.; VAUTHIER, C. **Nanocapsule technology: a review.** Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier System, v. 19, p. 99-134, 2002.
- DAUDT, R. M.; EMANUELLI, J.; KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. **A nanotecnologia como estratégia para o desenvolvimento de cosméticos.** Ciência e Cultura, v. 65 n. 3, p. 28-31, 2013.
- FERNANDEZ, P.; ANDRE, V.; RIEGER, J.; KUHMLE, A. **Nano-emulsions formation by emulsions phase inversion.** Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, Amsterdam, v. 251, p. 53-58, 2004.
- GHOSH, V.; MUKHERJEE, A.; NATARAJAN, C. **Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity.** Ultrasonics Sonochemistry, v.20, p.338-344, 2013.
- GUTERRES, S. S.; ALVES, M. P.; POHLMANN, A. R. **Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules, for cutaneous applications.** Drug Target Insights, v. 2, p. 147-157, 2007.
- HIELSCHER, T. **Ultrasonic Production of Nano-Size Dispersions and Emulsions.** TIMA Editions, p. 138-143, 2005.
- KUSPKA, M.; JÉLEN, H.H. **In-tube extraction for the determination of the main volatile compounds in *Physalis peruviana* L.** Journal of Separation Science, v. 40, n. 2, p. 532-541, 2016.

- LEMOS-SENNA, E. N., DAIANE. **Preparação e caracterização de suspensões colodais de nanocarreadores lipídicos contendo resveratrol destinados à administração cutânea.** Química Nova, v. 34(3), p. 408-413, 2011.
- LIN, C.; CHEN, I. **Comparison of fuel properties and emission characteristics of two and three-phase emulsions prepared by ultrasonically vibrating and mechanically homogenizing emulsification methods.** Fuel, v. 87, p. 2154-2161, 2008.
- MARTINI, E.; CARVALHO, E.; TEIXEIRA, H.; LEÃO, F.; OLIVEIRA, M. C. **Adsorção de oligonucleotídeos em nanoemulsões obtidas por emulsificação espontânea.** Química Nova, v. 30, No. 4, 930-934, 2007.
- MEZADRI, H. **Desenvolvimento de nanoemulsões contendo extratos dos frutos de *Syagrus romanzoffiana*(Cham.) Glassman e estudo fitoquímico destes extratos.** 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Ouro Preto, 2010.
- MOSAVIAN, M. T. H.; HASSANI, A. **Making Oil-in-Water Emulsions by Ultrasound and Stability Evaluation Using Taguchi Method,** Journal of Dispersion Science and Technology, v. 31, n. 3, p. 293-298, 2010.
- NAKABAYASHI, K.; AMEMIYA, F.; FUCHIGAMI, T.; MACHIDA, K.; TAKEDA, S.; TAMAMITSUB, K.; Atobe, M. **High clear and transparent nanoemulsion preparation under surfactant-free conditions using tandem acoustic emulsification.** Chemical Communications, v. 47, p. 5765-5767, 2011.
- NURIT SILVA, K.; AGRA, M. F. **Estudo fármaco botânico comparativo entre *Nicandra physalodes* e *Physalis angulata* (Solanaceae).** Brazilian Journal of Pharmacognosy, v. 15 ,n. 4, p. 344-351, 2005.
- PAYS, K. MABILLE, C.; SCHMITT, V.; LEAL-CALDERON, F.; BIBETTE, J. **Understanding the stability and lifetime of emulsions.** Journal of Dispersion Science and Technology, v. 23, n. 1-3, p. 175-186, 2002.
- RAMADAN, M. F.; MÖRSEL, J. T. **Oil goldenberry (*Physalis peruviana* L.).** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, n. 4, p. 969-974, 2003.
- SANTOS-MAGALHÃES, N. S.; PONTES, A.; PEREIRA, V. M. W.; CAETANO, M. N. P. **Colloidal carriers for benzathine penicilina G: nanoemulsions e nanocapsules.** International Journal of Pharmaceutics, v. 208, p. 71-80, 2000.
- SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S. FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R. . **Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos.** Química Nova, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.
- SCHMALTZ, C., SANTOS, J. V., GUTERRES, S. S. **Nanocápsulas como uma tendência promissora na área cosmética: A imensa potencialidade deste pequeno grande recurso.** Infarma, v. 16, p. 13-14, 2005.
- SOLANS, C., IZQUIERDO, P., NOLLA, J., AZEMAR, N. **Nano-emulsions.** Current Opinion in Colloid & Interface Science, v. 10, p. 102-110, 2005.
- SUSLICK, K. S. **Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology;** 4th Ed. J. Wiley & Sons: New York, v. 26, p. 517-541, 1998.
- TADROS, T. F.; IZQUIERDO, P.; ESQUENA, J. **Formation and Stability of nano-emulsions.** Advances in Colloid Interfacial Science, v. 108-109, p. 227-258, 2004.
- WASHINGTON, C.; DAVIS, S.S. **The production of parenteral feeding emulsions by Microfluidizer.** International Journal of Pharmaceutics, v. 44, p. 169-176, 1988.

PRODUÇÃO DA ALGA *Scenedesmus subspicatus* UTILIZANDO EFLUENTE BRUTO DE ABATEDOURO DE AVES COMO MEIO ALTERNATIVO DE CULTIVO

Elizabeth Venialgo Hotz da Silva

Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina
Palotina - PR

Luis Fernando Souza Gomes

Departamento de Engenharias e Exatas,
Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina
Palotina – PR

Raquel Stroher

Departamento de Engenharias e Exatas,
Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina
Palotina – PR

Francielli Fernandes de Assis

Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina
Palotina - PR

RESUMO: O uso de resíduos agroindustriais é considerado como alternativa aos meios de cultivo convencionais, pois apresentam uma composição rica em nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, além de terem de baixo custo. A produção de biomassa algal para aplicações biotecnológicas é uma alternativa promissora, e a utilização de águas residuárias é uma estratégia para a redução do custo de produção por meio do aproveitamento de nutrientes disponíveis nestes resíduos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a produção de biomassa algal por meio das velocidades específicas de crescimento e da produtividade de biomassa, utilizando água

residuária como meio alternativo de cultivo. Neste trabalho foi utilizada a microalga *Scenedesmus subspicatus* que apresentou produtividade de biomassa elevada quando comparada aos dados obtidos na literatura. O meio alternativo utilizado para o cultivo foi o efluente bruto proveniente de um abatedouro de aves da região Oeste do Paraná, sendo os cultivos conduzidos com duas concentrações diferentes do meio alternativo, autoclavado e sem autoclavar, mais o meio MC, que é um dos meios convencionais descritos para esta alga, utilizado como testemunha. Ao total foram 5 tratamentos com quatro repetições cada, sendo: tratamento 100% SA (efluente sem diluição, sem autoclavar), 50% SA (efluente diluído a 50%, sem autoclavar), 100% A (efluente sem diluição, autoclavado), 50% A (efluente diluído a 50%, autoclavado) e o meio de cultivo MC. Os cultivos em fotobiorreatores foram mantidos sob agitação utilizando-se bomba de ar, iluminação de 2.000 lux, sem fotoperíodo, num intervalo de 7 dias. Os dados foram submetidos à análise de variância a 5% de significância, apresentando diferença significativa entre os tratamentos propostos. Para as velocidades específicas de crescimento os melhores resultados obtidos foram 0,6907 d⁻¹ e 0,6827 d⁻¹ obtidos com os tratamentos 100% A e 50% A, respectivamente, seguidos de 0,5085 d⁻¹ e 0,4868 d⁻¹, para os tratamentos 100% SA e 50% SA, todos

superiores ao meio MC que resultou em $0,4270\text{ d}^{-1}$. A produtividade de biomassa no período de 7 dias apresentou os melhores resultados de $0,97\text{ gL}^{-1}$, obtida pelo tratamento 50% SA, o qual foi estatisticamente igual ao meio MC que produziu $0,86\text{ gL}^{-1}$, e superior ao 100% A, que apresentou produtividade de $0,60\text{ gL}^{-1}$. Os outros dois tratamentos, 100% SA e 50% A foram também estatisticamente iguais ao meio MC, com produtividades de $0,7525\text{ gL}^{-1}$ e $0,7275\text{ gL}^{-1}$, respectivamente. Demonstrou-se desta maneira um grande potencial de para uso desta água residuária em substituição aos meios convencionais, diminuindo significativamente os custos de cultivo, além da redução dos nutrientes nestes resíduos, por meio da biorremediação.

PALAVRAS-CHAVE: fotobiorreator; velocidades específicas; biotecnologia.

PRODUCTION OF ALGA *Scenedesmus subspicatus* USING POULTRY

SLAUGHTERHOUSE WASTEWATER AS AN ALTERNATIVE CULTURE MEDIUM

ABSTRACT: The use of agroindustrial residues is considered as an alternative to the conventional culture medium, because they have a composition rich in nutrients, mainly nitrogen and phosphorus, besides having low cost. The production of algal biomass for biotechnological applications is a promising alternative, and the use of wastewater is a strategy to reduce the cost of production through the use of nutrients available in this waste. The objective of the present work was to evaluate the algal biomass production through specific growth rates and biomass productivity using wastewater as an alternative culture medium. In this work, the microalga *Scenedesmus subspicatus* was used, which presented high biomass productivity when compared with values obtained in the literature. The alternative culture medium used for the cultivation was the poultry slaughterhouse effluent from the western region of Paraná, with the cultures being conducted with two different concentrations of the alternative medium, autoclaved and without autoclaving, besides MC medium, which is one of the means described for this alga, used as a control. A total of 5 treatments with four replicates that were: 100% WA (effluent without dilution, without autoclaving), 50% WA (effluent diluted to 50%, without autoclaving), 100% 50% A (effluent diluted to 50%, autoclaved) and the MC culture medium. The photobioreactor cultures were kept under stirring using an air pump, illumination of 2,000 lux, without photoperiod, within 7 days. The results obtained were submitted to analysis of variance at 5% of significance, presenting significant difference between the proposed treatments. For the specific growth rates the best results were 0.6907 d^{-1} and 0.6827 d^{-1} obtained with 100% A and 50% A treatments, respectively, followed by 0.5085 d^{-1} and 0.4868 d^{-1} , for the 100% WA and 50% WA treatments, all them higher than the MC medium that resulted in 0.4270 d^{-1} . The biomass yield in the 7-day period presented the best results of 0.97 gL^{-1} , obtained by the 50% WA treatment, which was statistically equal to the MC medium that produced 0.86 gL^{-1} and higher than 100% A, which presented productivity of 0.60 gL^{-1} . The other two treatments, 100% WA and 50% A, were also statistically equal to MC medium, with yields of 0.7525 gL^{-1} and 0.7275 gL^{-1} , respectively. This demonstrated a great potential for the use of this waste

water instead of conventional media, significantly reducing the costs of cultivation, as well as it can reduce the nutrients in these residues through bioremediation.

KEYWORDS: photobioreactor; specific growth rates; biotechnology.

NANOTUBOS DE CARBONO – UMA REVISÃO SOBRE PROPRIEDADES, APLICAÇÕES E ASPECTOS TOXICOLÓGICOS

Carolina Alvarenga Turini

Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM),
Universidade Federal de Uberlândia Uberlândia -
MG

Paula Cristina Batista de Faria

Instituto de Biotecnologia (IBTEC), Universidade
Federal de Uberlândia Uberlândia - MG

RESUMO: O interesse em nanomateriais especializados e sistemas de nanopartículas funcionalizadas é crescente. Concretizar, porém, todo o potencial da nanotecnologia não é uma tarefa fácil. Os nanotubos de carbono são similares, em tamanho, a muitas espécies biológicas. Estas espécies compreendem uma variedade de estruturas básicas como polímeros, açúcares, lipídios e proteínas. Além disso, propriedades como uma grande área interfacial com membranas celulares, capacidade única para funcionalização múltipla, bem como possibilidade de transporte em fluidos biológicos fazem dos nanotubos de carbono importantes ferramentas para aplicações médicas e farmacêuticas, incluindo biossensores e veículos de entrega de drogas. Contudo, existem questões relevantes acerca da segurança da utilização desses nanomateriais em meios biológicos que não estão completamente esclarecidas, e que, portanto, merecem especial atenção. Sendo

assim, o objetivo desta revisão é apresentar algumas propriedades e potenciais aplicações biotecnológicas dessas nanopartículas, bem como descrever aspectos importantes envolvendo sua toxicidade.

PALAVRAS-CHAVE: Nanobiotecnologia, Nanotubos de carbono, Biodistribuição, Toxicidade

ABSTRACT: The interest in specialized nanomaterials and functionalized nanoparticle systems is increasing. However, materializing the full potential of nanotechnology is not an easy task. Carbon nanotubes are similar in size to many biological species. These species comprehend a variety of basic structures such as polymers, sugars, lipids and proteins. In addition, properties such as a large interfacial area with cell membranes, unique ability for multiple functionalization as well as the possibility of transport in biological fluids make carbon nanotubes important tools for medical and pharmaceutical applications, including biosensors and drug delivery vehicles. However, there are relevant questions about the safety of the use of these nanomaterials in biological media that are not fully understood and therefore deserve special attention. Thus, the objective of this review is to present some properties and potential biotechnological applications of these nanoparticles, as well as describe important

aspects involving their toxicity.

KEYWORDS: Nanobiotechnology, Carbon nanotubes, Biodistribution, Toxicity

1 | INTRODUÇÃO

A tecnologia de manipulação a nível molecular, embora seja uma área de muita importância atualmente e já esteja inserida no nosso cotidiano, é uma ciência extremamente recente. A nanotecnologia pode ser definida como a habilidade de manipulação de átomos e moléculas em escala nanométrica, entre 0,1 e 100nm, para criar estruturas diferentes com uma nova organização molecular (MOGHIMI et al., 2005). Nesse nível, as estruturas formadas exibem propriedades e fenômenos físicos, químicos e biológicos únicos e diferentes do material original, devido à sua escala nanométrica, como maior resistência, maior grau de pureza, e até novas propriedades catalíticas e magnéticas (RAWAT et al., 2016). Dessa forma, as nanopartículas que possuem ao menos uma de suas dimensões menores que 100nm, tornam-se interessantes para fins comerciais e também para o campo de aplicações biomédicas. Elas oferecem novas possibilidades de interação com complexos biológicos funcionais, uma vez que operam em mesma escala que biomoléculas. Atualmente, as nanopartículas foram adaptadas para o emprego no desenvolvimento de drogas, sendo utilizadas como carreadores de diferentes agentes terapêuticos, incluindo pequenas moléculas, peptídeos, proteínas e ácidos nucleicos (PIEROTTI et al., 2008).

Existem vários tipos de nanopartículas como os dendrímeros, nanopartículas de ouro, *quantum dots*, fulerenos e lipossomos. Dentre os nanomateriais mais utilizados atualmente encontram-se os nanotubos de carbono ou *carbon nanotubes* (CNTs) (SMART et al., 2006).

Considerando as amplas aplicações e propriedades dos CNTs como um nanomaterial de considerável relevância, o objetivo principal desta revisão é descrever as principais propriedades dessas nanopartículas constituídas exclusivamente de átomos de carbono, bem como suas potenciais aplicações, levando em consideração a importância de uma avaliação sistemática e rigorosa de seus efeitos tóxicos em sistemas biológicos.

2 | NANOTUBOS DE CARBONO

Os nanotubos de carbono representam a terceira forma alotrópica do carbono, juntamente com o grafite e o diamante (LACERDA et al., 2006). São estruturas formadas por átomos de carbono em arranjos hexagonais. Diversos arranjos, combinados, constituem uma folha de grafeno que, quando enrolada, forma um cilindro e dá origem ao nanotubo. Dessa forma, CNTs nada mais são que estruturas cilíndricas nanométricas constituídas exclusivamente de átomos de carbono ligados entre si (AILLON et al., 2009).

Existem dois tipos de CNTs, classificados de acordo com o número de camadas de grafeno em sua composição. Os nanotubos de carbono de parede simples ou *single-walled carbon nanotubes* (SWCNTs) são formados a partir de uma folha única de grafeno, com diâmetro variável entre 0.4 e 3.0nm. Já os nanotubos de carbono de paredes múltiplas ou *multi-walled carbon nanotubes* (MWCNTs) são formados a partir de duas ou mais folhas de grafeno, enroladas de forma concêntrica. Possuem diâmetro variável entre 1.4 e 100nm (AILLON et al., 2009; VIDU et al., 2014).

Ambos os tipos de CNTs podem ser produzidos através dos métodos de descarga por arco, ablação a laser e deposição química de vapor ou *chemical vapor deposition* (CVD). O último é o mais utilizado atualmente na produção de nanotubos, e possibilita a síntese em larga escala com o menor custo de produção. O processo de CVD consiste na decomposição de um vapor ou gás precursor, geralmente um hidrocarboneto. Os átomos de carbono provenientes do precursor entram em contato com um catalisador metálico, que pode ser gerado *in situ* durante o processo ou ser colocado sobre um substrato. Os átomos são então excitados e passam a nuclear e crescer, formando os nanotubos (EATEMADI et al., 2014). Esse tipo de método apresenta alta pureza e maior controle sobre o alinhamento e ângulo dos átomos de carbono da estrutura construída. No entanto, a capacidade de reprodução do produto formado ainda é baixa, devido à dificuldade de controlar todos os parâmetros desse processo (KUNZMANN et al., 2011).

Desde sua descoberta em 1991 (IJIMA, 1991), os nanotubos de carbono têm atraído atenção em vários campos, que abrangem desde a área de diagnósticos por imagem e biossensores a sistemas de entrega de drogas e veículos vacinais (DENG et al., 2007).

2.1 Propriedades e Aplicações dos Nanotubos de Carbono

Os CNTs possuem como característica uma alta força tensora, são ultraleves, têm estabilidade térmica e química excelentes, e ainda propriedades eletrônicas condutoras e semicondutoras dependendo da geometria de seus arranjos hexagonais (SMART et al., 2006).

Além disso, tanto SWCNTs quanto MWCNTs possuem uma razão comprimento/diâmetro relativamente grande, e uma área de superfície muito ampla, o que torna os nanotubos aptos à alta sensibilidade molecular para detecção ou reconhecimento. Consequentemente, uma grande fração da superfície dessas estruturas pode ser modificada com uma variedade de grupamentos funcionais, alterando o comportamento tanto *in vitro* quanto *in vivo* dos CNTs (FIRME, BANDARU, 2010).

Os nanotubos de carbono puros são inerentemente hidrofóbicos, portanto o principal obstáculo na utilização em química biológica e medicinal é sua carência de solubilidade em muitos solventes compatíveis com fluidos biológicos (aquosos) (JIA et al., 2005). A funcionalização de nanotubos tem sido utilizada para administrar o

problema da insolubilidade em meio aquoso e, em muitos casos, foi permitido a ligação de peptídeos biologicamente ativados e drogas medicinais ao longo de suas paredes. Por outro lado, a hidrofobicidade dos nanotubos pode fazer com que moléculas interajam mais fortemente com os CNTs do que com as moléculas solventes, como no caso da água. Estas propriedades suscitam o interesse de usar os nanotubos como veículos para entrega de fármacos, fazendo com que diversos estudos sejam conduzidos no sentido da utilização dessas nanopartículas associados a moléculas para fins diagnósticos ou terapêuticos (SMART et al., 2006).

Em recente trabalho publicado pelo nosso grupo de colaboradores, sintetizamos, funcionalizamos e caracterizamos nanotubos de carbono de paredes múltiplas que foram altamente eficazes como veículos vacinais em modelos animais. O complexo vacinal desenvolvido caracterizou-se pela entrega eficiente do antígeno proteico, no caso um antígeno tumoral, por meio dos nanotubos de carbono. Tal fato demonstra a versatilidade do sistema proposto, que de maneira relativamente simples e barata, permite o acoplamento simultâneo de dois ou mais tipos de biomoléculas à superfície desta nanopartícula, sendo até mesmo de naturezas distintas como, por exemplo, uma proteína e um fragmento de DNA (FARIA et al., 2014).

É sabido que os nanotubos, quando utilizados como carreadores vacinais, são capazes de proteger as moléculas a eles acopladas contra a degradação enzimática (WU et al., 2008) e, além disso, de atuar como um tipo de “depósito intracelular” (VILLA et al., 2011) permitindo assim, com que a resposta imune seja ainda mais duradoura. Associado também ao fato de que são moléculas biocompatíveis, biodegradáveis e de fácil produção, suas propriedades melhoram a biodisponibilidade de um antígeno *in vivo*, estimulando a resposta imune inata e adaptativa e promovendo a geração de células de memória, que garantem o sucesso de uma vacina (SULCZEWSKI et al., 2018).

Baseados nesses princípios, diversos outros trabalhos testaram os nanotubos de carbono como carreadores em formulações vacinais tanto para cânceres, mais amplamente estudadas, bem como para doenças infecciosas, um campo ainda emergente. Alguns estudos obtiveram sucesso em aumentar a eficácia de imunoterapias prévias, constituídas por células cancerosas inativadas, células dendríticas expostas ao antígeno tumoral, ou por citocinas moduladoras da função imune através de sua associação aos nanotubos de carbono, melhorando a resposta imune antitumoral (VILLA et al., 2011) ou ainda a taxa de cura (MENG et al., 2008, HASSAN et al., 2016). Outro trabalho utilizou ainda uma abordagem diferente, associando CNTs a células tronco embrionárias. O método provou-se eficaz para a ativação da imunidade antitumoral e consequente supressão da proliferação e crescimento tumorais (MOCAN, IANCU, 2011).

Mais recentemente, o planejamento de nanovacinas alternativas para doenças infecciosas também se encontra em evidência. Por exemplo, avanços foram feitos quanto a formulações de nanovacinas contra o vírus da dengue. Estudos mostraram

que a associação de antígenos do envelope viral a CNTs aumenta a capacidade antigênica da vacina, a resposta promovida por células imunológicas específicas e a resposta neutralizadora através de anticorpos (VERSIANI et al., 2017). Similarmente, a conjugação de CNTs a um peptídeo imunogênico isolado de um dos protozoários causadores da malária, *Plasmodium vivax*, controlou e atrasou a parasitemia em animais desafiados, mostrando capacidade protetora contra a infecção (YANDAR et al., 2008).

No âmbito agropecuário, os benefícios da nanotecnologia também estimularam a avaliação de formulações vacinais para a febre aftosa e a anaplasnose, doenças que afetam bastante o mercado bovino e causam grandes perdas econômicas. Com relação à primeira, estudos realizaram com sucesso a ligação covalente entre CNTs e epítomos antigênicos do vírus da febre aftosa, e o produto foi capaz de estimular forte resposta monoclonal, sem causar reatividade cruzada aos nanotubos (PANTAROTTO et al., 2003a; PANTAROTTO et al., 2003b). Quanto à anaplasnose, causada pela bactéria *Anaplasma marginale*, importantes avanços foram feitos na busca por uma vacina eficaz para a doença. Um estudo associando um fragmento recombinante de uma proteína de superfície da bactéria a MWCNTs demonstrou que a imunização induziu forte resposta imune celular e humoral em camundongos (SILVESTRE et al., 2014). Em prosseguimento, a mesma formulação foi testada em bezerros, e o resultado de estimulação da resposta imune obtido foi o mesmo, sem haver alterações no perfil bioquímico dos animais, indicando que não houve toxicidade causada pelo nanotubo (SILVESTRE et al., 2018).

Outras aplicações biomédicas para os nanotubos de carbono vêm sendo bastante exploradas atualmente. No campo de engenharia de tecidos, por exemplo, quando usados como arcabouços para o crescimento de células e tecidos, os nanotubos de carbono mostram grande efeito regenerativo. Estudos conduzidos em tecidos ósseos, cartilagosos, neurais, dérmicos e cardíacos com esse material oferecem grandes possibilidades de terapias para o reparo de tecidos danificados, principalmente aqueles que requerem estímulo elétrico, como axônios e nervos, podendo promover efeitos na transmissão nervosa de sinal (AHN et al., 2015; ZDROJEWICZ et al., 2015; SIMON et al., 2019). Os nanotubos também foram utilizados para o desenvolvimento de novos biossensores, mais rápidos e sensíveis, facilitando a detecção e triagem de diversas doenças, como diabetes, infecções bacterianas (SIMON et al., 2019) e até para detecção de anticorpos contra a dengue na saliva (WASIK et al., 2018). O campo de imagenologia também foi beneficiado pela versatilidade dos nanotubos de carbono. Estudos mostram a eficácia da obtenção de imagem através da fotoluminescência, que utiliza da capacidade de fluorescência de nanotubos de carbono de paredes simples quando expostos a certas ondas de comprimento, nas quais os tecidos e a água são quase transparentes. Sendo assim é possível fazer imagens de grandes profundidades e até mesmo acompanhar a biodistribuição de SWCNTs quando injetados em tecidos ou veias de animais experimentais (WELSHER et al., 2009; WELSHER et al., 2011;

2.2 Biodistribuição de Nanotubos de Carbono

A biodistribuição de nanopartículas é bastante diversificada, e depende principalmente do tipo, diâmetro e comprimento de cada nanomaterial. Tais fatores definem ainda a velocidade desse processo.

Os mecanismos de internalização de nanomateriais são diversos. Especificamente para CNTs, pesquisas mostraram que a maioria dos nanotubos são capazes de atravessar a membrana de uma grande variedade de tipos celulares, independentemente de sua funcionalização. Devido à seu formato cilíndrico e sua grande proporção de área de superfície, os nanotubos funcionam como ‘nanoagulhas’, penetrando a membrana celular com facilidade, através de um mecanismo não-dependente de energia (KOSTARELOS et al., 2007; KUNZMANN et al., 2011).

Outros mecanismos podem ocorrer para a internalização dessas nanopartículas, dependendo do tamanho do nanotubo e do tipo celular. Estudos mostram que CNTs de tamanhos bem pequenos interagem com receptores presentes na membrana plasmática de macrófagos, e são captados eficientemente por essas células através da fagocitose (HIRANO et al., 2008). Pesquisas adicionais mostram que certos tipos de CNTs podem também sofrer endocitose, geralmente mediada por clatrina, em um processo dependente de energia (KAM et al., 2006; KUNZMANN et al., 2011).

Com relação à distribuição sistêmica, diversos estudos *in vivo* demonstraram que o caminho dos CNTs depende da via de administração. Existem três vias de exposição natural a essas nanopartículas, que acontecem no ambiente externo: através da pele, trato intestinal e vias aéreas. Quando em contato com a pele, apenas os nanotubos de menor diâmetro conseguiriam ultrapassar a barreira epitelial e chegar à circulação. Sendo assim, essa via de exposição só seria preocupante em casos de cortes ou ferimentos na pele. O trato intestinal possui uma constituição bem diferente da pele, facilitando a absorção das nanopartículas. No entanto, essa absorção depende do tamanho da partícula e de sua carga elétrica. Partículas positivamente carregadas ficam presas no muco negativamente carregado, enquanto as negativas sofrem difusão para a circulação (LANONE, BOCZKOWSKI, 2006).

A via respiratória é a mais estudada uma vez que, atualmente, é a principal via de exposição do público geral através da poluição do ar e de trabalhadores envolvidos no processo de manufatura e manejo dessas partículas (SMART et al., 2006). Após a entrada pelas vias respiratórias, os CNTs podem ficar presos no muco respiratório e posteriormente serem evacuados em direção à boca, ou ainda, se atingirem regiões mais profundas do aparelho respiratório, como os pulmões e alvéolos, os nanotubos são captados pelos macrófagos alveolares e degradados (LANONE, BOCZKOWSKI, 2006).

Uma vez na circulação sanguínea, seja através das vias de exposição naturais ou através de injeções intravenosas, subcutâneas ou intraperitoneais, CNTs tendem à

acumulação principalmente no fígado, baço e pulmões (AILLON et al., 2009).

2.3 Toxicidade dos nanotubos de carbono

A rápida expansão do uso dos CNTs trouxe consigo uma crescente preocupação com os possíveis efeitos desses nanomateriais nos sistemas biológicos. Pouco se sabe sobre a toxicidade dos CNTs após a introdução na circulação sanguínea, o que é vital para suas aplicações biomédicas. Vários estudos mostraram que há um alto grau de complexidade no entendimento do metabolismo e formas de interação celular de nanopartículas em sistemas *in vivo*, devido à singularidade de sua biodistribuição, *clearance* e resposta imune (HUANG et al., 2010; RAWAT et al., 2016).

O estudo da toxicidade de nanopartículas é bastante complexo, devido à singularidade de cada nanopartícula fabricada e das propriedades diferenciadas que todas elas possuem. Sendo assim, a maioria dos resultados obtidos a partir de avaliações de toxicidade, tanto *in vitro* quanto *in vivo* são bastante discrepantes (JI et al., 2009). Devido a essas peculiaridades, alguns ensaios toxicológicos tradicionais e bem estabelecidos *in vitro* tornam-se obsoletos, como o próprio MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio), que já apresentou resultados falso-negativos para a citotoxicidade de CNTs (WÖRLE-KNIRSCH et al., 2006).

Para a avaliação da toxicidade de uma nanopartícula é indispensável conhecer suas formas de absorção, distribuição, metabolismo e excreção. Dessa forma, um estudo toxicológico deve focar nos principais órgãos responsáveis por essas funções no organismo, pois além de processarem os nanomateriais são os mais expostos aos mesmos por possuírem maior fluxo sanguíneo. São eles: pulmões, fígado, rins e baço (AILLON et al., 2009).

Existem seis fatores principais que determinam o potencial de uma nanopartícula de causar danos, sendo que eles interagem e influenciam uns aos outros (LANONE, BOCZKOWSKI, 2006). São eles:

1. Composição química,
2. Tamanho da partícula,
3. Área de superfície e sua reatividade,
4. Funcionalização da superfície,
5. Capacidade de aglomeração/ agregação,
6. Formato da partícula e/ ou potencial de atração eletrostática.

A composição química dos CNTs representa um papel muito importante para a determinação do tamanho da partícula, e pode incluir metais de transição e revestimentos. Tais arranjos podem deixar o nanotubo propenso a reagir com mais facilidade e liberar maior quantidade de radicais livres. Ela também influencia bastante no tamanho da nanopartícula. Por sua vez, esse fator pode ser determinante para a modulação da biodisponibilidade a nível celular e sistêmico, afetando a deposição das

nanopartículas nos mesmos (SMART et al., 2006).

Com relação à área de superfície temos que, para CNTs, há uma razão área/massa muito aumentada, fornecendo uma enorme área de contato com as membranas biológicas e aumentando a capacidade de absorção e transporte dessas substâncias (SMART et al., 2006).

A funcionalização da superfície é um fator decisivo para a determinação da solubilidade do nanotubo, definindo o grau de hidrofobicidade da partícula e a capacidade de solubilização em meios biológicos (TANG et al., 2012). Nanotubos de carbono do tipo 'pristine' possuem como característica a não-funcionalização de sua estrutura. Estudos observaram que esse tipo de nanotubo é inerentemente hidrofóbico e altamente citotóxico, levando à uma preferência pela funcionalização na comunidade científica (YANG et al., 2008).

O tipo de funcionalização de um CNT afeta diretamente a capacidade de agregação da nanopartícula, de acordo com sua interação com o meio. Em geral, nanotubos de carbono possuem uma tendência à agregação em diversos tipos de meio, o que direciona os CNTs à acumulação tecidual (LANONE, BOCZKOWSKI, 2006).

A tendência à aglomeração pode variar também com o formato da nanopartícula. Os nanomateriais podem assumir diversas formas, como esferas, fibras, tubos, anéis, e formas planas. Apesar de possuírem forma bem definida, os nanotubos podem apresentar defeitos estruturais que alteram seu formato e tamanho usuais e mudam seu comportamento, causando toxicidade. Além disso, há outros defeitos como o formato da extremidade do CNT, resíduos da catálise do nanotubo que podem levar à formação de radicais livres e o defeito de Stone-Wales que consiste no pareamento de arranjos hexagonais e pentagonais dos átomos de carbono, podendo potencializar possíveis efeitos tóxicos (FIRME, BANDARU, 2010).

Fatores adicionais para a determinação da toxicidade incluem a taxa de degradabilidade, que é dependente do tipo de funcionalização do nanotubo, e a concentração de partículas inseridas no organismo ou célula. O efeito toxicológico de CNTs apresenta comportamento dose-dependente, devido à alteração do padrão de absorção celular e acumulação do nanotubo. Quando o nanotubo apresenta menor padrão de degradação tecidual, pode dificultar seu *clearance*, levando à um maior depósito celular do nanomaterial (LANONE, BOCZKOWSKI, 2006). Estudos mostraram ainda que o padrão de biodistribuição, e conseqüentemente de toxicidade, se altera de acordo com a via de administração do nanotubo *in vivo* (AILLON et al., 2009).

2.3.1 Mecanismos da toxicidade de nanotubos de carbono

A etiologia dos efeitos tóxicos de nanotubos de carbono no organismo ainda não foi totalmente elucidada. Acredita-se que, uma vez internalizados, os CNTs exerçam a citotoxicidade através de três mecanismos principais: o nuclear, o citoplasmático e o

mitocondrial (FIRME, BANDARU, 2010).

Após entrada na célula, independentemente da via, CNTs podem atravessar a membrana nuclear e causar citotoxicidade por meio de danos no DNA, como por exemplo provocar o aprisionamento da célula em certas fases do ciclo celular, afetar sua proliferação e causar efeitos mutagênicos. Essas nanopartículas podem ainda permanecer no citoplasma e atuarem como RNA de interferência. Sendo assim, podem levar ao silenciamento gênico, regulando a expressão de genes decodificadores de proteínas e alterando o metabolismo celular. Tal alteração também pode levar à geração de sinais apoptóticos e à perda de viabilidade celular (FIRME, BANDARU, 2010; KUNZMANN et al., 2011).

O estresse oxidativo é tido como o principal mecanismo molecular de citotoxicidade mediada por CNTs e ocorre quando o equilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidantes sofre perturbações. Essa perturbação pode ocorrer quando, por exemplo, a formação de radicais livres excede as defesas antioxidantes disponíveis na célula ou organismo. Como resultado, temos um aumento nas concentrações de lipídios, proteínas e ácidos nucleicos oxidados, e muitas dessas moléculas tornam-se inativas e incapazes de exercer suas funções básicas (BARBOSA et al., 2010).

Estudos prévios comprovaram que os nanomateriais possuem uma capacidade intrínseca de gerar espécies reativas de oxigênio (ROS), tanto *in vitro* quanto *in vivo*, especialmente na presença de luz UV ou metais de transição. Essa produção pode estar relacionada às propriedades físico-químicas únicas das nanopartículas. Além disso, os CNTs uma vez internalizados, podem se mobilizar nas mitocôndrias. Essas organelas possuem um papel importante não somente no fornecimento de energia à célula, mas também no controle da proliferação e apoptose, por meio de mecanismos dependentes da via redox. Assim, a mobilização de CNTs nas mitocôndrias poderia alterar essa via causando perda de viabilidade celular. Vários resultados mostraram que essa acumulação leva a um aumento na geração de radicais livres e peróxido e à depleção total de reservas antioxidantes e glutatona, uma proteína que atua como um poderoso antioxidante (LANONE, BOCZKOWSKI, 2006; SMART et al., 2006; RAWAT et al., 2016).

Assim como a biodistribuição, a toxicidade de CNTs varia de acordo com a via de administração da nanopartícula. A maior parte dos estudos de toxicidade abordam principalmente a via de exposição pulmonar, já que é a via primária de exposição ocupacional aos nanotubos. Os resultados são bastante discrepantes, no entanto, a grande maioria reporta respostas inflamatórias agudas após sua captação pelos macrófagos, com expressão de citocinas como TNF e IL-1, acompanhadas de granulomas pulmonares ao redor dos aglomerados de nanotubo, fibrose intersticial difusa progressiva e espessamento da parede alveolar. Marcadores de estresse oxidativo como acumulação de peróxido e depleção de glutatona também foram encontrados no tecido pulmonar afetado, sugerindo esse mecanismo como o

responsável pela inflamação e toxicidade pulmonar (LANONE, BOCZKOWSKI, 2006; LIANG et al., 2010).

Quanto à via de exposição cutânea, alguns estudos demonstraram que, eventualmente, pode ocorrer a absorção de CNTs através da barreira cutânea levando ou não a efeitos nocivos. As manifestações de toxicidade cutânea incluem hiperplasia dérmica causada por citotoxicidade de queratinócitos, alopecia localizada e espessamento da pele (LIANG et al., 2010; RAWAT et al., 2016).

Os efeitos tóxicos causados através de administração de nanotubos via intraperitoneal, intravenosa e subcutânea são os mais preocupantes para suas possíveis aplicações biomédicas. Ainda há muitos resultados conflitantes nessa área, embora a maioria das pesquisas mostrem alta biocompatibilidade após injeções por essas vias. Geralmente, ocorre o acúmulo dos CNTs no fígado, pulmões, baço e rins poucas horas após a injeção. O tempo de degradação e *clearance* dos nanotubos injetados do organismo diferem bastante de acordo com o tipo de nanotubo. Grande parte é facilmente excretada via renal em um curto período de tempo. Em alguns casos, geralmente com nanotubos do tipo 'pristine', há a acumulação persistente nos órgãos supracitados, o que levanta uma certa preocupação com seus efeitos tóxicos a longo prazo (DENG et al., 2007; YANG et al., 2008; YANG et al., 2012; RAWAT et al., 2016).

É importante ressaltar a magnitude da interferência da funcionalização e caracterização do nanotubo injetado para os ensaios toxicológicos. Problemas de acumulação e *clearance* renal lento de nanopartículas são facilmente resolvidos com funcionalizações que diminuam a taxa de agregação de CNTs. Da mesma forma, CNTs com um tamanho muito grande podem resultar em fagocitose ineficiente e em consequente ruptura de membranas macrofágicas. A presença de impurezas ou inclusive a purificação excessiva de um nanotubo pode levar à maior formação de ROS (AILLON et al., 2009).

3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em se tratando de suas vastas aplicações biomédicas, a existência de tantos resultados discrepantes, obtidos através de estudos com metodologias tão divergentes quanto à síntese, funcionalização e via de administração dos nanotubos de carbono, torna indispensável a realização de ensaios toxicológicos sistemáticos tanto em modelos *in vitro* quanto *in vivo*. Contudo, a utilização dessas nanopartículas quando adequadamente sintetizadas, purificadas e funcionalizadas, tem se revelado compensadora considerando-se sua importante capacidade carreadora de drogas e antígenos.

REFERÊNCIAS

- AHN, H. S.; HWANG, J. Y.; KIM, M. S.; LEE, J. Y.; KIM, J. W.; KIM, H. S.; SHIN, U. S.; KNOWLES, J. C.; KIM, H. W.; HYUN, J. K. **Carbon-nanotube-interfaced glass fiber scaffold for regeneration of transected sciatic nerve**. *Acta Biomater.*, 13: 324 – 334, 2015.
- AILLON, K. L.; XIE, Y.; EL-GENDY, N.; BERKLAND, C. J.; FORREST, M. L. **Effects of nanomaterial physicochemical properties on in vivo toxicity**. *Adv Drug Deliv Rev*, 61(6): 457 - 466, 2009.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. **Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios**. *Rev. Nutr.*, 23(4): 629 - 643, 2010.
- DENG, X., G.; JIA, WANG, H.; SUN, H.; WANG, X.; YANG, S.; WANG, T.; LIU, Y. **Translocation and fate of multi-walled carbon nanotubes in vivo**. *Carbon*, 45(7): 1419 -1424, 2007.
- EATEMADI, A.; DARAEE, H.; KARIMKHANLOO, H.; KOUHI, M.; ZARGHAMI, N.; AKBARZADEH, A.; ABASI, M.; HANIFEHPOUR, Y.; JOO, S. W. **Carbon nanotubes: properties, synthesis, purification, and medical applications**. *Nanosc Res Let*, 9: 393, 2014.
- FARIA, P. C. B.; SANTOS, L. I.; COELHO, J. P.; RIBEIRO, J. B.; PIMENTA, M. A.; LADEIRA, L. O.; GOMES, D. A.; FURTADO, C. A.; GAZZINELLI, R. T. **Oxidized Multiwalled Carbon Nanotubes as Antigen Delivery System to Promote Superior CD8+ T Cell Response and Protection against Cancer**. *NANOLetters*, Belo Horizonte, v. 14, n. 9, p. 5458-5470, 2014.
- FIRME, C. P.; BANDARU, P. R. **Toxicity issues in the application of carbon nanotubes to biological systems**. *Nanomedicine*, 6(2): 245-256, 2010.
- HASSAN, H. A.; SMYTH, L.; WANG, J. T.; COSTA, P. M.; RATNASOTHY, K.; DIEBOLD, S. S.; LOMBARDI, G.; AL-JAMAL, K. T. **Dual stimulation of antigen presenting cells using carbon nanotube-based vaccine delivery system for cancer immunotherapy**. *Biomaterials*, 104:310-22, 2016.
- HIRANO, S.; KANNO, S.; FURUYAMA, A. **Multi-walled carbon nanotubes injure the plasma membrane of macrophages**. *Toxicol. Appl. Pharm.* 232 : 244 – 251, 2008.
- HUANG, X.; TENG, X.; CHEN, D.; TANG, F.; HE, J. **The effect of the shape of mesoporous silica nanoparticles on cellular uptake and cell function**. *Biomaterials*, 31(3): 438 - 448, 2010.
- IJIMA, S. **Helical microtubules of graphitic carbon**. *Nature*, 354: 6, 1991.
- JI, Z.; ZHANG, D.; LI, L.; SHEN, X.; DENG, X.; DONG, L.; WU, M.; LIU, Y. **The hepatotoxicity of multi-walled carbon nanotubes in mice**. *Nanotechnology*, 20: 445101, 2009.
- JIA, G.; WANG, H.; YAN, L.; WANG, X.; PEI, R.; YAN, T.; ZHAO, Y.; GUO, X. **Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene**. *Environ. Sci. Technol.* 39: 1378-1383; 2005.
- KAM, N. W. S.; LIU, Z.; DA, H. **Carbon nanotubes as Intracellular Transporters for Proteins and DNA: An Investigation of the Uptake Mechanism and Pathway**. *A new. Chem. Int. Ed.*, 45: 577 - 581, 2006.
- KOSTARELOS, K.; LACERDA, L.; PASTORIN, G.; WU, W.; WIECKOWSKI, S. B.; LUANGSIVILAY, J.; GODEFROY, S.; PANTAROTTO, D.; BRIAND, J. P.; MULLER, S.; PRATO, M.; BIANCO, A. **Cellular uptake of functionalized carbon nanotubes is independent of functional group and cell type**. *Nat Nanotechnol*, 2(2): 108 - 113, 2007.

KUNZMANN, A.; ANDERSSON, B.; THURNHER, T.; KRUG, H.; SCHEYNIUS, A.; FADEEL, B. **Toxicology of engineered nanomaterials: focus on biocompatibility, biodistribution and biodegradation.** *Biochim Biophys Acta*, 1810(3): 361 - 373, 2011.

LACERDA, L.; BIANCO, A.; PRATO, M.; KOSTARELOS, K. **Carbon nanotubes as nanomedicines: From toxicology to pharmacology.** *Adv Drug Deliv Rev*, 58: 1460 - 1470, 2006.

LANONE, S.; BOCZKOWSKI, J. **Biomedical applications and potential health risks of nanomaterials: molecular mechanisms.** *Current Mol. Med.*, 6: 651 - 663, 2006.

LIANG, G.; YIN, L.; ZHANG, J.; LIU, R.; ZHANG, T.; YE, B.; PU, Y. **Effects of subchronic exposure to multi-walled carbon nanotubes on mice.** *J Toxicol Env Heal*, 73 (A): 463 - 470, 2010.

MENG, J.; MENG, J.; DUAN, J.; KONG, H.; LI, L.; WANG, C.; XIE, S.; CHEN, S.; GU, N.; XU, H.; YANG, X. D. **Carbon nanotubes conjugated to tumor lysate protein enhance the efficacy of an antitumor immunotherapy.** *Small.*, 4(9) : 1364 – 70, 2008.

MOCAN, T.; IANCU, C. **Effective colon cancer prophylaxis in mice using embryonic stem cells and carbon nanotubes.** *Int J Nanomedicine*, 6: 1945 –1954, 2011.

MOGHIMI, S. M.; HUNTER, A. C.; MURRAY, J. C. **Nanomedicine: current status and future prospects.** *FASEB J*, 19(3): 311 – 330, 2005.

PANTAROTTO, D.; PARTIDOS, C. D.; GRAFF, R.; HOEBEKE, J.; BRIAND, J. P.; PRATO, M.; BIANCO, A. **Synthesis, structural characterization, and immunological properties of carbon nanotubes functionalized with peptides.** *J Am Chem Soc.*, 21; 125(20): 6160 – 4, 2003a.

PANTAROTTO, D.; PARTIDOS, C. D.; HOEBEKE, J.; BROWN, F.; KRAMER, E.; BRIAND, J. P.; MULLER, S.; PRATO, M.; BIANCO, A. **Immunization with peptide-functionalized carbon nanotubes enhances virus-specific neutralizing antibody responses.** *Chem Biol.*, 10(10): 961 – 6, 2003b.

PIEROTTI, M. A.; LOMBARDO, C.; ROSANO, C. **Nanotechnology: going small for a giant leap in cancer diagnostics and therapeutics.** *Tumori*, 94(2): 191 - 196, 2008.

RAWAT, N.; SANDHYA, K.; SUBAHARAN, M.; ESWARAMOORTHY, M.; KAUL, G. **Comparative in vivo toxicity assessment places multiwalled carbon nanotubes at a higher level than mesoporous silica nanoparticles.** *Toxicol Ind Health*, 33(2): 182-192, 2016.

SILVESTRE, B. T.; RABELO, É. M.; VERSIANI, A. F.; DA FONSECA, F. G.; SILVEIRA, J. A.; BUENO, L. L.; FUJIWARA, R. T.; RIBEIRO, M. F. **Evaluation of humoral and cellular immune response of BALB/c mice immunized with a recombinant fragment of MSP1a from Anaplasma marginale using carbon nanotubes as a carrier molecule.** *Vaccine*, 17;32(19): 2160 – 6, 2014.

SILVESTRE, B. T.; SILVEIRA, J. A. G. D.; FACURY-FILHO, E. J.; CARVALHO, A. Ú.; VERSIANI, A. F.; ESTEVAM, L. G. T. M.; ARAÚJO, M. S. S.; MARTINS-FILHO, O. A.; NEGRÃO-CORRÊA, D. A.; RIBEIRO, M. F. B. **Immune response and biochemistry of calves immunized with rMSP1a (Anaplasma marginale) using carbon nanotubes as carrier molecules.** *Rev Bras Parasitol Vet.*, 27(2): 191 – 202, 2018.

SIMON, J.; FLAHAUT, E.; GOLZIO, O. A. M. **Overview of Carbon Nanotubes for Biomedical Applications.** *Materials*, 12(4): 624, 2019.

SMART, S. K.; CASSADY, A. I.; LU, G. Q.; MARTIN, D. J. **The biocompatibility of carbon nanotubes.** *Carbon*, 44(6): 1034 - 1047, 2006.

SULCZEWSKI, F. B.; LISZBINSKI, R. B.; ROMÃO, P. R. T.; RODRIGUES JUNIOR, L. C. **Nanoparticle**

vaccines against viral infections. Arch Virol.163(9):2313-2325, 2018.

TANG, S.; TANG, Y.; ZHONG, L.; MURAT, K.; ASAN, G.; YU, J.; JIAN, R.; WANG, C.; ZHOU, P. **Short- and long-term toxicities of multi-walled carbon nanotubes in vivo and in vitro.** J. Appl. Toxicol, 32(11): 900 - 12, 2012.

VERSIANI, A. F.; ASTIGARRAGA, R. G.; ROCHA, E. S.; BARBOZA, A. P.; KROON, E. G.; RACHID, M. A.; SOUZA, D. G.; LADEIRA, L. O.; BARBOSA-STANCIOLI, E. F.; JORIO, A.; DA FONSECA, F. G. **Multi-walled carbon nanotubes functionalized with recombinant Dengue virus 3 envelope proteins induce significant and specific immune responses in mice.** J Nanobiotechnology, 4;15(1):26, 2017.

VIDU, R.; RAHMAN, M.; MAHMOUDI, M.; ENACHESCU, M.; POTECA, T. D.; OPRIS, I. **Nanostructures: a platform for brain repair and augmentation.** Front Syst Neurosci, 8: 91, 2014.

VILLA, C. H.; DAO, T.; AHEARN, I.; FEHRENBACHER, N.; CASEY, E.; REY, D. A.; KORONTSVIT, T.; ZAKHALEVA, V.; BATT, C. A.; PHILIPS, M. R.; SCHEINBERG, D. A. **Single-Walled Carbon Nanotubes Deliver Peptide Antigen into Dendritic Cells and Enhance IgG Responses to Tumor-Associated Antigens.** ACS Nano. 5:5300-5311, 2011.

WASIK, D.; MULCHANDANI, A.; YATES, M. V. **Salivary Detection of Dengue Virus NS1 Protein with a Label – Free Immunosensor for Early Dengue Diagnosis.** Sensors, 12; 18(8), 2018.

WELSHER, K.; LIU, Z.; SHERLOCK, S. P.; ROBINSON, J. T.; CHEN, Z.; DARANCIANG, D.; DAI, H. **A Route to Brightly Fluorescent Carbon Nanotubes for Near-Infrared Imaging in Mice.** Nat. Nanotechnol., 4: 773 –780, 2009.

WELSHER, K.; SHERLOCK, S.P.; DAI, H. **Deep-Tissue Anatomical Imaging of Mice Using Carbon Nanotube Fluorophores in the Second Near-Infrared Window.** Proc. Natl. Acad. Sci., 108: 8943 – 8948, 2011.

WÖRLE-KNIRSCH, J. M.; PULSKAMP, K.; KRUG, H. F. **Oops they did it again! Carbon nanotubes hoax scientists in viability assays.** Nano Lett, 6(6): 1261 – 8, 2006.

WU, Y.; PHILLIPS, J. A.; LIU, H.; YANG, R.; TAN, W. **Carbon nanotubes protect DNA strands during cellular delivery.** ACS Nano. 2: 2023 – 2028, 2008.

YANDAR, N.; PASTORIN, G.; PRATO, M.; BIANCO, A.; PATARROYO, M. E.; LOZANO, J. M. **Immunological profile of a Plasmodium vivax AMA-1 N-terminus peptide-carbon nanotube conjugate in an infected Plasmodium berghei mouse model.** Vaccine, 29; 26(46):5864-73, 2008.

YANG, S. T.; WANG, X.; JIA, G.; GUC, Y.; WANGD, T.; NIEA, H.; GEE, C.; WANG, H.; LIU, Y. **Long-term accumulation and low toxicity of single-walled carbon nanotubes in intravenously exposed mice.** Toxicology Letters, 181: 182 - 189, 2008.

YANG, S. T.; LUO, J.; ZHOU, Q.; WANG, H. **Pharmacokinetics, Metabolism and Toxicity of Carbon Nanotubes for Bio-medical Purposes.** Theranostics, 2(3): 271 - 282, 2012.

ZDROJEWICZ, Z.; WARACKI, M.; BUGAJ, B.; PYPNO, D.; CABAŁA, K. **Medical applications of nanotechnology.** Postepy Hig Med Dosw, 29; 69: 1196 – 204, 2015.

MEMBRANA DE ULTRAFILTRAÇÃO MODIFICADA COM DIÓXIDO DE TITÂNIO PARA REMOÇÃO DE NITRATO PRESENTE EM SOLUÇÃO AQUOSA

Eduarda Freitas Diogo Januário

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia Química
Maringá – PR

Taynara Basso Vidovix

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia Química
Maringá – PR

Natália de Camargo Lima Beluci

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia Química
Maringá – PR

Nicole Novelli do Nascimento

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrária
Maringá - PR

Angélica Marquetotti Salcedo Vieira

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia de Alimentos
Maringá – PR

Rosângela Bergamasco

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia Química
Maringá – PR

RESUMO: Poluentes persistentes, como o nitrato (NO_3^-), estão cada vez mais presentes nos corpos hídricos devido, principalmente, a grande quantidade de descarte incorreto de efluentes industriais. Este composto químico

é o principal responsável pelo fenômeno denominado de eutrofização, que propicia a morte dos seres vivos presentes nos ambientes aquáticos. Além disso, a ingestão de nitrato, em altas concentrações, por seres humanos, pode desencadear câncer estomacal ou de esôfago. Já em bebês menores de seis meses, podem desenvolver a doença conhecida como síndrome do bebê azul. Os métodos convencionais de tratamento de água e efluentes, para retirada deste contaminante, não são satisfatórios, logo, técnicas avançadas estão sendo empregadas. Entre tais técnicas, se destaca os processos de separação por membranas (PSM), que apresentam diversas vantagens, como: alta eficiência, facilidade de operação e característica sustentável. Para aperfeiçoar suas propriedades, sugere-se a modificação de sua superfície, visando reduzir os efeitos de incrustação e melhorar a remoção do contaminante. Em função disso, o presente trabalho visou avaliar o uso de membrana de ultrafiltração (UF) de polietersulfona (PES) modificada com ácido sulfúrico (H_2SO_4) e dióxido de titânio (TiO_2) pelo método de imersão para remoção de nitrato, objetivando reduzir impactos ambientais e à saúde humana. Os resultados obtidos foram pouco satisfatórios, apenas 20% de remoção de nitrato foi alcançada. Contudo, o método de modificação, se aprimorado, pode ser mais eficaz na remoção deste poluente.

PALAVRAS-CHAVE: Membrana; Nitrato; Dióxido de titânio; Incrustação.

ULTRAFILTRATION MEMBRANE MODIFIED WITH TITANIUM DIOXIDE FOR REMOVAL OF NITRATE PRESENT IN AQUEOUS SOLUTION

ABSTRACT: Persistent pollutants such as nitrate (NO_3^-) have recently been found in our water products due mainly to the large amount of incorrect disposal of industrial effluents. This proposal is the main member of the document of eutrofization, that propitiates the death of the alive presents in the aquatic site. In addition, nitrate intake, in high doses, can be triggered by stomach or esophageal cancer. Have already been placed another six months, can develop a process known as blue baby syndrome. The conventional methods of treating water and effluents, for the removal of this contaminant, are not satisfactory, therefore, their information is being applied. These are the membrane separation processes (PSM), which have several advantages, such as: high efficiency, ease of operation and sustainable feature. To make its properties denser, an indicator of its surface is suggested, allowing to reduce the pollution and to improve the removal of the contaminant. As a result, the present work had the objective of using the ultrafiltration membrane (UF) of polyethersulfone (PES) modified with hydrogen sulphide (H_2SO_4) and titanium dioxide (TiO_2) by the immersion method for the removal of nitrogen, aiming oe to human health. The results obtained were unsatisfactory, only 20% of nitrate removal was followed. The modification method, if improved, may be more effective in removing this pollutant.

KEYWORDS: Membrane; Nitrate; Titanium dioxide; Fouling.

1 | INTRODUÇÃO

Os efluentes industriais podem impactar negativamente os meios aquáticos, por isso, as empresas devem se responsabilizar por seus efluentes gerados e buscar formas adequadas de tratá-los. De modo que, a escolha do método de tratamento utilizado seja compatível com o tipo de efluente e com a eficiência que se deseja (FREIRE et al., 2000).

Um dos elementos químicos encontrados em efluentes industriais é o nitrogênio, que pode estar disponível de várias formas, tais como nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônia (NH_3), íon amônio (NH_4^+), óxido nitroso (N_2O), nitrogênio molecular (N_2), nitrogênio orgânico dissolvido (peptídeos, purinas, aminas, aminoácidos, entre outros) e nitrogênio orgânico particulado (bactérias, fitoplâncton, zooplâncton e detritos). Suas principais fontes são chuva, material orgânico e inorgânico, como também a fixação de nitrogênio molecular dentro do próprio corpo hídrico (ESTEVES, 1998).

Em altas concentrações, o nitrogênio é responsável pelo fenômeno de eutrofização, o qual ocorre em ambientes aquáticos com pouca movimentação de água, como em lagos, promovendo o crescimento de plantas que reduzem o oxigênio

dissolvido para a transformação bioquímica, resultando assim na mortalidade dos seres vivos presentes (NAIME, 2015; VON SPERLLING, 1996).

O nitrato é a forma de nitrogênio mais encontrada nas águas contaminadas, devido principalmente às práticas agrícolas, como o uso de fertilizantes. Uma vez que estes apresentam em sua composição a amônia que, rapidamente, é transformada em amônio (NH_4^+) e, por conseguinte, se converte em nitrato, no processo de nitrificação, através de atividades microbianas (GARCIA et al., 2006). A lixiviação, ao decorrer do tempo, é responsável pelo aumento da concentração deste poluente em águas subterrâneas (RESENDE, 2002).

De acordo com o Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), a concentração máxima permitida de nitrato em água potável é de 44 mg.L^{-1} (BRASIL, 1986, 2001), sendo considerado prejudicial à saúde humana se ingerido em quantidades elevadas, podendo causar cânceres no estômago ou esôfago. Em crianças com menos de 6 meses de idade, a ingestão deste contaminante pode propiciar a doença conhecida como síndrome do bebê azul, na qual os sintomas principais são asfixia e regiões da pele azulada (ZUBLENA et al., 1990).

Existem métodos para remoção de nitrato considerados clássicos, como troca iônica, desnitrificação biológica e eletrodialise, entretanto, não são suficientemente bons para tratá-lo de forma efetiva, pois são considerados complexos e produzem grande volume de rejeitos. Dessa forma, tecnologias avançadas podem ser empregadas, entre elas a utilização de membranas se destaca em comparação aos métodos convencionais, em função de suas vantagens, como separação seletiva, facilidade do controle operacional, de fácil desenvolvimento e com menor ocupação de espaço. Os processos de filtração através de membranas apresentam-se como uma opção interessante, também porque propiciam uma menor geração de rejeitos, promovem melhor eficiência de remoção e possuem uma característica sustentável (BASILE et al., 2011; GARCIA et al., 2006; SONUNE; GHATE, 2004).

Em busca de melhorar as propriedades da membrana propõe-se a modificação da sua superfície, cuja finalidade é minimizar os efeitos de incrustação, além de outras interações indesejáveis, como adsorção e adesão, que são responsáveis pela redução da eficiência da membrana (SUSANTO; ULBRICHT, 2009). Além disso, permite que novos atributos sejam fornecidos a membrana, como resistência mecânica, química e morfológica (UPADHYAYA; QIAN; RANIL WICKRAMASINGHE, 2018).

A incrustação é causada pela deposição de partículas, moléculas, sais entre outros na superfície das membranas (MULDER, 1996). Trata-se de um fenômeno resultante de procedimentos químicos, físicos e biológicos, que pode acarretar um decréscimo irreversível do fluxo (SABLANI et al., 2001). Desta forma, a vida útil da membrana também é reduzida, já que para se obter o mesmo fluxo, seria necessário trabalhar com pressões maiores ou operações de limpeza teriam que ser realizadas com maior frequência (MADAENI; FANE; WILEY, 1999). A recuperação de fluxo não acontece completamente devido à incrustação da membrana, que é parcialmente

irreversível, com isso, apenas a lavagem não o remove (KIMURA et al., 2004).

A fim de evitar este fenômeno, algumas abordagens são recomendadas, entre elas a mistura com polímeros hidrofílicos, inserção de monômeros hidrofílicos e moléculas de cadeia curta, imersão em nanopartículas hidrofílicas, entre outras (PEYRAVI et al., 2012; VATANPOUR et al., 2012). Um dos polímeros mais empregados para fabricação de membranas de ultrafiltração e nanofiltração comerciais e laboratoriais é a poliétersulfona (PES), que possui característica pouco hidrofílica. Por esse motivo, se faz necessário a técnica de modificação da superfície da membrana, a fim de aumentar sua hidrofilicidade (VAN DER BRUGGEN, 2009).

A técnica de sulfonação é conhecida por promover a ligação de um grupo sulfônico na superfície da membrana, por meio da adição na espinha dorsal dos polímeros existentes na membrana, aumentando sua hidrofilicidade e seu desempenho (AYYAVOO et al., 2016). Em membranas de PES ocorrem a substituição aromática eletrofílica, em que o ácido sulfônico ocupa o lugar do átomo de nitrogênio presente, logo sua superfície é carregada com cargas negativas (AHMAD et al., 2013).

As nanopartículas de dióxido de titânio (TiO_2) têm sido amplamente utilizadas no tratamento de água, por meio das tecnologias de membranas, devido à sua estabilidade em condições adversas, disponibilidade comercial e facilidade de preparação (FUJISHIMA; RAO; TRYK, 2000; MOLINARI et al., 2000). Além destas vantagens, outras como baixo custo, alta capacidade fotocatalítica, fotoestabilidade notável e ser não-tóxico tornam o TiO_2 um material favorável para aplicações ambientais (ZHANG et al., 2016). As moléculas de TiO_2 apresentam ainda, cargas positivas que são capazes de se unirem com a superfície das membranas de PES por meio de pontes de hidrogênio ou interações de coordenação (LEONG et al., 2014).

O objetivo do presente trabalho, portanto, foi modificar membranas de ultrafiltração de polietersulfona pelo método de imersão em soluções de ácido sulfúrico e TiO_2 para, em seguida, avaliar a sua performance na remoção de nitrato presente em solução aquosa.

2 | METODOLOGIA

A parte experimental desta pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Gestão, Controle e Preservação Ambiental (LGCPA) do Departamento de Engenharia Química (DEQ), em parceria com o Complexo de Centrais de Apoio a Pesquisa (COMCAP) e com o Departamento de Química, da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

2.1 Modificação da superfície da membrana

A metodologia de modificação se baseou nos trabalhos publicados por BAE, KIM e TAK (2006), BAE e TAK (2005) e BORIBUTH, CHANACHAI e JIRARATANANON (2009). Foi utilizada uma membrana de ultrafiltração (UF) de polietersulfona (PES)

(com tamanho molecular de corte de 300 kDa da marca Sartorius) para a modificação da sua superfície pelo método de imersão (*dip-coating*) com soluções de ácido sulfúrico e TiO_2 .

Inicialmente, uma lavagem foi realizada para retirar a película protetora que é característica de membranas comerciais. A membrana foi colocada em um béquer contendo água deionizada e este foi disposto em um *shaker* (Incubadora Tecnal – Te 4200) sob rotação de 150 rpm pelo período de 1 hora (na metade do processo a água foi trocada). Posteriormente, preparou-se uma solução de ácido sulfúrico (Synth-PA) com concentração 10% (v/v) e uma solução 100 mg.L^{-1} de TiO_2 (Degussa – Evonik - P25), cujo pH foi ajustado com uma solução de ácido nítrico (Synth-PA) para 1,5. A solução de TiO_2 foi sonicada em um banho ultrassônico (Ultronique - QS.5/40A – Frequência 40KHz) durante 1 hora e 30 minutos para melhorar a dispersão das nanopartículas.

Após a lavagem, a membrana foi imersa em 50 mL da solução de ácido sulfúrico, mantendo-se o sistema sob agitação de 120 rpm por 1 hora. Depois, lavou sua superfície com água deionizada para retirada do excesso de ácido. Em sequência, a membrana foi imersa em 50 mL da solução de TiO_2 , nas mesmas condições operacionais de rotação e tempo que foram usadas na etapa da sulfonação. Por fim, a membrana foi seca em estufa de circulação de ar (Sterilifer-Digital time) a 40°C por 24 horas. Finalizada a modificação a membrana foi usada nos testes de filtração.

2.2 Desempenho da membrana modificada

Após a modificação da membrana, esta foi disposta em um módulo de filtração pressurizado com fluxo perpendicular e área disponível para filtração de $9,62 \text{ cm}^2$, para os testes de avaliação dos fluxos, incrustação e remoção do contaminante. O fluxo inicial de água (J_0) na membrana modificada foi avaliado sob pressão de 0,5 bar. Foram coletadas alíquotas com um intervalo de 10 minutos entre cada medida pelo período de 1 hora. As filtrações foram conduzidas à temperatura ambiente (25°C). Em seguida, os fluxos de nitrato (J_1) e final de água (J_2) também foram avaliados sob as mesmas condições descritas para J_0 . Os fluxos (J_x) podem ser calculados de acordo com a equação (1):

$$J_x = \frac{m}{\rho \cdot t \cdot A} \quad (1)$$

Em que (J_x) pode representar os fluxos médios de água inicial (J_0) de contaminante (J_1) e de água final (J_2) através da membrana ($\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$; onde m é a massa das alíquotas (kg); ρ é a massa específica da água (kg.m^{-3}); t é o tempo (h) e A é a área efetiva da membrana (m^2).

A permeabilidade da membrana foi avaliada logo após o fluxo inicial de água. Mediu-se o fluxo de água sob diferentes pressões (0,1 0,3, e 0,5 bar) e plotou-se um gráfico de fluxo *versus* pressão, cujo o coeficiente angular da reta obtida corresponde

matematicamente à permeabilidade da membrana. Adotou-se a pressão de 0,5 bar como a de trabalho, em função da sua estabilidade. Esta etapa é importante para a seletividade da membrana, uma vez que está relacionada com sua composição, morfologia e hidrofiliicidade/hidrofobicidade, já que analisa os poros existentes em sua superfície e também suas estruturas (HABERT, A.C., BORGES, C.P., NOBREGA, 2006)

Os parâmetros de percentual de incrustação (%*Fouling*) e de recuperação de fluxo (%RF) foram determinados de acordo com as equações 2 e 3, respectivamente.

$$\% \text{ Fouling} = \frac{J_0 - J_2}{J_0} \times 100 \quad (2)$$

$$\% \text{ RF} = \frac{J_2}{J_0} \times 100 \quad (3)$$

2.3 Rejeição de nitrato

Preparou-se uma solução de nitrato de sódio (Synth – PA) com concentração inicial de 100 mg.L⁻¹, de acordo com a metodologia proposta por ZENEON, PASCUET e TIGLEA (2008). Sua concentração foi determinada em espectrofotômetro (Hack – DR 5000) no comprimento de onda de 205 nm, segundo a metodologia de SOUTO et al. (2006) e de ZENEON, PASCUET e TIGLEA (2008).

O percentual do coeficiente de rejeição (%R) da amostra do contaminante foi calculado pela equação 4:

$$\% R = 1 - \frac{C_1}{C_0} \times 100 \quad (4)$$

No qual, C_0 (mg.L⁻¹) é concentração da espécie na alimentação e C_1 (mg.L⁻¹) é a concentração na corrente de permeado.

2.4 Caracterização da membrana

Para a caracterização da membrana foi utilizado a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Dispersão de Energia (EDS), Ângulo de contato e Espectroscopia na Faixa do Infravermelho por Transformada de Fourier (ATR-FTIR).

2.4.1 MEV e EDS

O MEV utiliza feixe de elétrons que bombardeia uma amostra que foi previamente revestida com ouro para conduzir eletricidade. As imagens formadas permitem que seja avaliada a morfologia das membranas, sendo possível a visualização de poros, rugas e toda superfície de maneira geral (DEDAVID; GOMES, MACHADO, 2007; GOLDSTEIN et al., 2017; TYLKOWSKI; TSIBRANSKA, 2015). Acoplado ao MEV,

tem-se o equipamento de espectroscópio de raio-X por energia dispersiva (EDS), que é capaz de determinar os átomos existentes na amostra (GOLDSTEIN et al., 2017; KUTCHKO; KIM, 2006).

A técnica MEV foi realizada por micrografias geradas por contraste topográfico, através de um microscópio eletrônico, Shimadzu SS-550 SuperScan Scanning Electron Microscope, acoplado a um sistema EDS (Espectroscopia de Dispersão de Energia) que forneceu um espectro dos elementos químicos presentes nas amostras analisadas.

2.4.2 Ângulo de contato

O ângulo de contato determina a hidrofiliicidade da membrana. Para ângulos inferiores a 90°, a superfície é dita como hidrofílica, o que contribui para diminuir a tendência à incrustação da membrana. Já com ângulos superiores a 90°, a membrana apresenta característica hidrofóbica (SCHÄFER et al., 2005).

O ângulo de contato foi medido em um goniômetro da marca Tantec, modelo CAM – Micro. Pelo menos três pontos diferentes da superfície da membrana foram avaliados para diminuir o erro associado às medidas.

2.4.3 ATR-FTIR

O ATR-FTIR é um equipamento que reconhece os grupos funcionais presentes na amostra, devido a vibração entre as moléculas. Nos processos de modificação de membranas, o emprego desta metodologia, proporciona a verificação das transformações e interferências em sua morfologia (RAHIMPOUR et al., 2008). Trata-se de uma análise qualitativa, onde parte da energia é absorvida ou propagada em determinado comprimento de onda, obtendo assim uma imagem (SMITH, 1979).

3 | RESULTADOS

3.1 Performance da membrana

O presente trabalho compreende, inicialmente, em uma etapa de compactação da membrana a fim de manter os fluxos de permeado uniformes. Depois disso, acompanhou-se o fluxo inicial de água em três pressões distintas, com a finalidade de determinar a permeabilidade da membrana em relação à água.

Conforme apresentado na Figura 2, o fluxo de água inicial apresentou certa estabilidade, indicando que a membrana foi compactada anteriormente à coleta das alíquotas para determinação do fluxo. Por conseguinte, o fluxo de contaminante e o fluxo final também atingem a estabilidade rapidamente devido a compactação, fenômeno responsável pela deformação mecânica da membrana, devido a pressão

exercida pela passagem do fluido, após um certo tempo, a membrana atinge o regime permanente e o fluxo fica constante (STADE et al., 2013, 2015).

A permeabilidade foi obtida através do coeficiente angular da equação da reta proveniente das medidas dos fluxos médios da água nas pressões de 0,1, 0,3 e 0,5 bar. De acordo com o gráfico, apresentado na Figura 1, o valor da permeabilidade da membrana modificada foi de $1133,7 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$. É possível verificar que a pressão está diretamente ligada ao fluxo do permeado, ou seja, quanto maior a pressão, maior também será o fluxo.

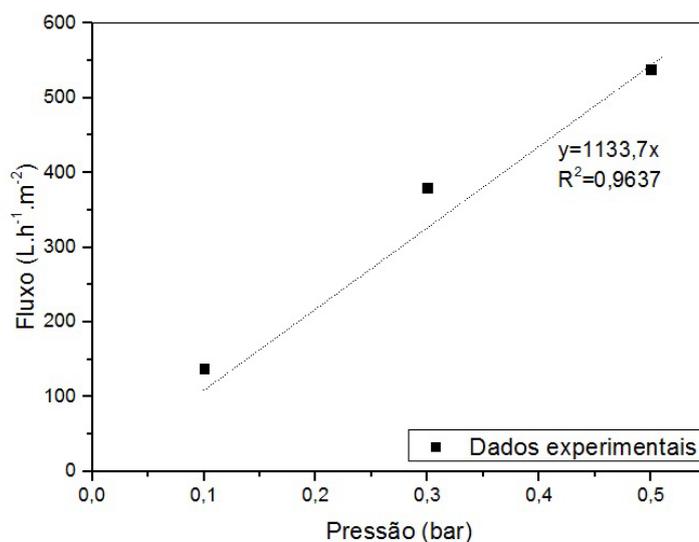


Figura 1: Acompanhamento do fluxo de água em relação a pressão.

Os fluxos de permeado foram acompanhados durante 60 minutos na pressão de 0,5 bar e estão representados na Figura 2.

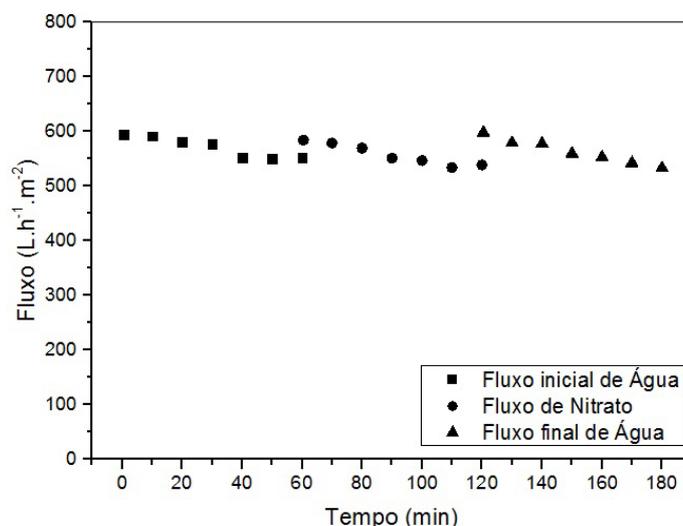


Figura 2: Acompanhamento dos fluxos de permeado na pressão de 0,5 bar.

Observando a Figura 2 observa-se que o fluxo de água inicial manteve-se praticamente estável ao decorrer dos testes, indicando que a membrana adequadamente compactada anteriormente à coleta das alíquotas para determinação dos fluxos. Por conseguinte, o fluxo de contaminante e o fluxo final também atingem a estabilidade rapidamente devido a compactação, fenômeno responsável pela deformação mecânica da membrana, devido a pressão exercida pela passagem do fluido, após um certo tempo, a membrana atinge o regime permanente e o fluxo fica constante (STADE et al., 2013, 2015).

A Tabela 1 apresenta os fluxos médios obtidos pelos três últimos valores de cada fluxo de permeado.

	Tipo de Fluxo	Fluxo Médio (L.h ⁻¹ .m ⁻²)
J ₀	Fluxo Inicial de Água	551,52 ± 2,57
J ₁	Fluxo de Contaminante	539,77 ± 3,75
J ₂	Fluxo Final de Água	542,73 ± 5,76

Tabela 1: Valores médios dos fluxos de permeado.

A partir da tabela acima, é possível observar que o fluxo de contaminante foi menor que o de água, isso porque o Nitrato de Sódio possui massa molecular maior, sendo 84,99 g.mol⁻¹ e 18,02 g.mol⁻¹ respectivamente, indicando uma possível remoção deste composto químico. A lavagem na superfície da membrana, após a passagem da solução de contaminante, teve como finalidade remover o nitrato retido na superfície da membrana, e sendo portanto, a responsável pelo aumento no fluxo final de água.

A partir dos dados apresentados da Tabela 1 e por meio da aplicação das equações 2 e 3, foi possível calcular a incrustação e o fator de recuperação de fluxo da membrana modificada (Figura 3). Vale salientar que, esta membrana apresentou um elevado fator de recuperação de fluxo e conseqüentemente, a incrustação representou uma pequena parcela.

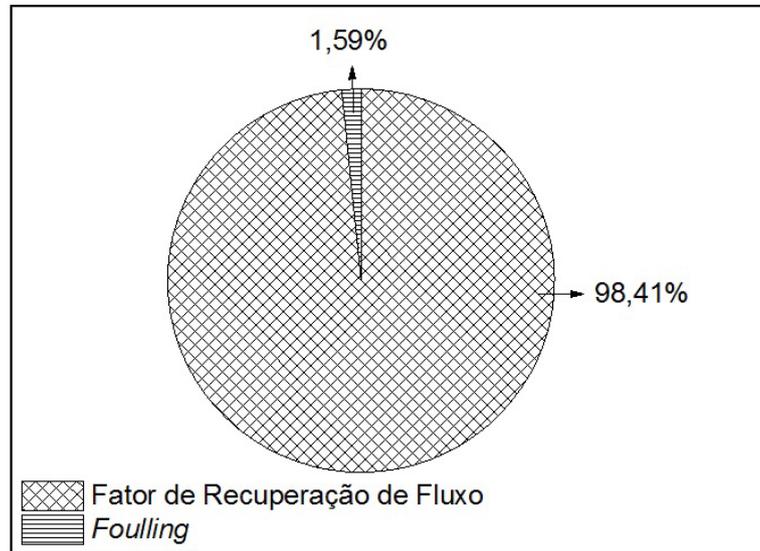


Figura 3: Valores Percentuais de Fouling e Fator de Recuperação de Fluxo para Membrana Modificada.

3.2 Remoção do contaminante

A remoção do nitrato foi acompanhada durante toda a filtração. A média de remoção do contaminante, considerando todo volume permeado, foi de 20%. A Figura 4, abaixo, demonstra o decaimento da concentração de nitrato no decorrer do tempo de filtração.

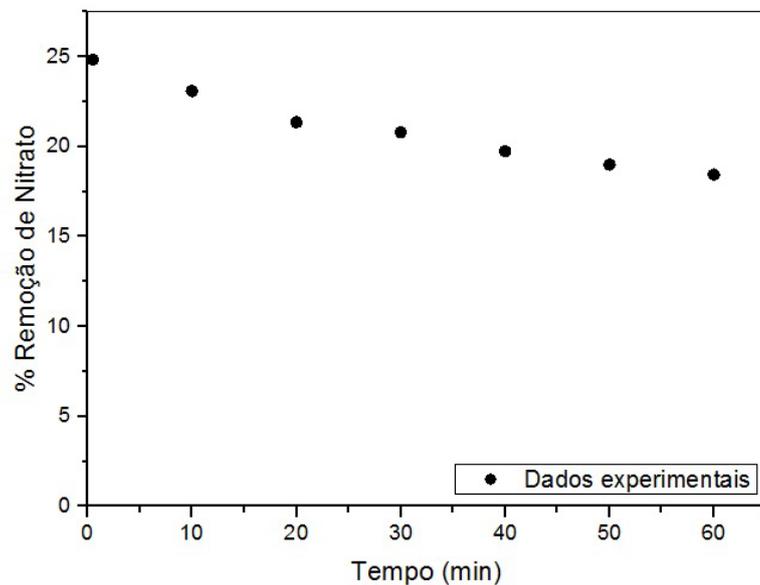


Figura 4: Acompanhamento da remoção de nitrato durante os 60 minutos de filtração.

Inicialmente, a primeira amostra coletada apresentou uma porcentagem de remoção de nitrato maior, sendo de 24,83%. Na figura 4, pode-se perceber que, a partir de 30 minutos, a remoção mantém-se praticamente estável, assim como o fluxo, o qual também se estabilizou em 30 minutos.

Acredita-se que esta remoção se tenha dado por adsorção entre a superfície

da membrana (positivamente carregada) e a molécula de nitrato (negativamente carregada). Isso porque, a solução de TiO_2 em pH 1,5 é responsável por carregar as nanopartículas positivamente, dessa forma, quando uma solução aniônica permeia na membrana, como exemplo o nitrato, ocorre atração eletrostática (BAE; KIM; TAK, 2006; BAE; TAK, 2005b).

Além disso, no presente trabalho, modificou-se uma membrana de ultrafiltração, isso explica o motivo da baixa remoção de nitrato. Uma vez que o procedimento mais indicado para a remoção deste contaminante é a nanofiltração, devido ao tamanho de sua molécula (GARCIA et al., 2006).

3.3 Caracterização da membrana

3.3.1 MEV e EDS

As figuras 5 e 6 apresentam as imagens obtidas a partir do MEV, para as membranas de ultrafiltração, modificada e pura, a título de comparação.

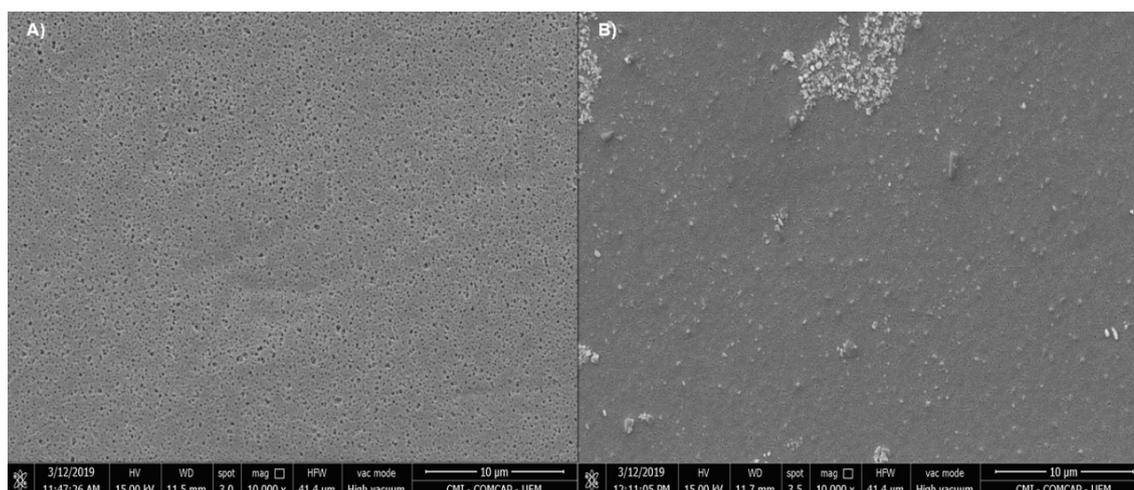


Figura 5: Imagens do MEV das membranas na magnitude 10000x ; A) membrana UF pura e B) membrana modificada.

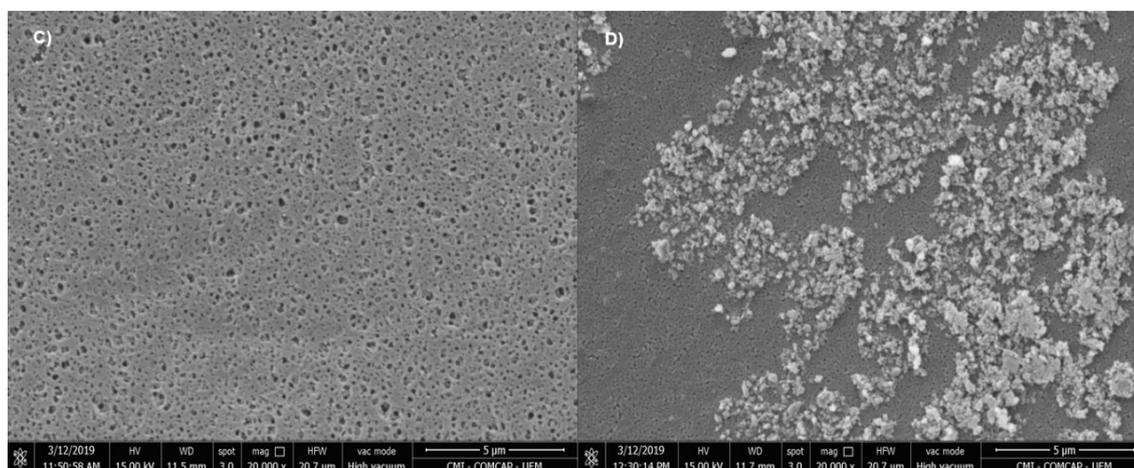


Figura 6: Imagens do MEV das membranas na magnitude 20000x ; C) membrana UF pura e D) membrana modificada

Comparando-se as membranas pura (A e C) e modificada (B e D) verifica-se uma diminuição no tamanho dos poros nas regiões cinzas, indicando que o TiO_2 se ligou quimicamente na superfície da membrana. Porém, com o aumento da magnitude, é possível observar a presença de pontos brancos aglomerados, que sugerem que em algumas regiões o TiO_2 está depositado de forma irregular, o que indica que o mesmo não está totalmente aderido à sua superfície (BELUCI et al., 2019). Isso ocorre possivelmente porque a lavagem superficial da membrana, após a imersão com H_2SO_4 , foi ineficiente, facilitando a permeação do nitrato nestas regiões, o que justifica a pequena remoção deste contaminante.

Os resultados de EDS corroboram com o MEV e estão ilustrados na Figura 7. Na membrana modificada (Figura 7 – B) há a presença do elemento químico Titânio (Ti), comprovando que, de fato, houve a modificação da superfície da membrana. Os demais elementos químicos, Carbono (C), Oxigênio (O) e Enxofre (S) apresentados, tanto para membrana pura (Figura 7 – A), quanto para a membrana modificada, são característicos de membranas de poliétersulfona. Destaca-se que, a presença de Ouro (Au) nas amostras é decorrente do processo de metalização.

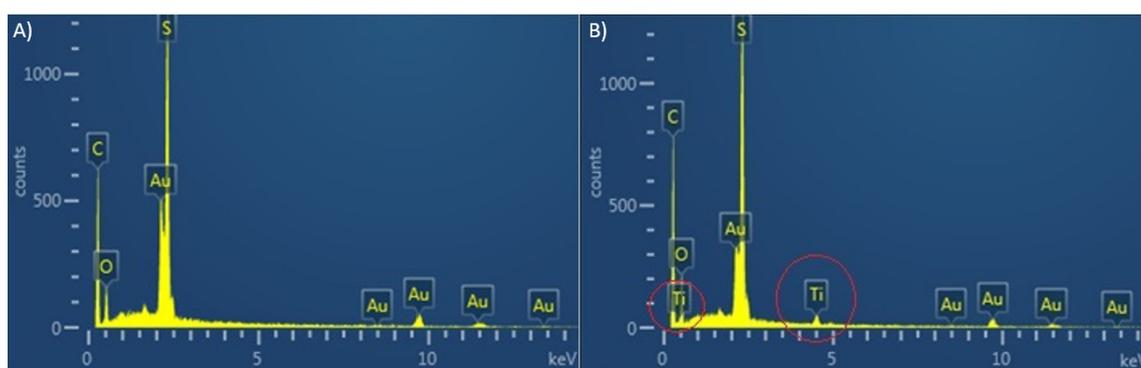


Figura 7: EDS das membranas; A) membrana UF pura e B) membrana modificada.

3.3.2 Ângulo de contato

Com a modificação, a membrana apresentou um ângulo de contato de $59,00 \pm 1,53^\circ$, tornando-se mais hidrofílica que a pura, pois, de acordo com BELUCI et al. (2019) a membrana de ultrafiltração comercial possui um ângulo de contato de $66,00 \pm 0,72^\circ$. Explica-se este aumento da hidrofilicidade na membrana modificada com a adição de TiO_2 na superfície da membrana pela presença dos grupos hidroxilas nesta solução que se interagem com a água, por meio das ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals (SAFFAR et al., 2014). Vale ressaltar que, neste caso, o aumento da hidrofilicidade da membrana fez com que houvesse uma melhora no desempenho da mesma, diminuindo assim a sua incrustação, porém, a remoção para o nitrato não foi muito eficiente pela pequena redução do tamanho dos poros, provavelmente a adição de outras soluções modificadoras possam aumentar a porcentagem de remoção do contaminante.

3.3.3 ATR-FTIR

Os espectros obtidos com o ATR-FTIR (Figura 8) confirmam a impregnação do TiO_2 na superfície da membrana, como sugerido anteriormente nas imagens do MEV. Tendo em vista que, é notável a diferença na intensidade dos picos nos comprimentos de onda entre 3000 a 2500 cm^{-1} e no intervalo de 1500 a 1250 cm^{-1} , em função da adesão do TiO_2 na superfície da membrana, o que conseqüentemente reduz a intensidade dos picos. Além disso, verifica-se um pico na faixa de 1000 a 500 cm^{-1} que pode ser atribuído a vibração das ligações de Ti-O-Ti, também observado por GAO et al. (2003). Vale lembrar que, a deposição superficial de TiO_2 não foi uniforme, podendo ocasionar erros na análise do FTIR, pois uma região da membrana com menor concentração desse elemento por ter sido utilizada para o teste.

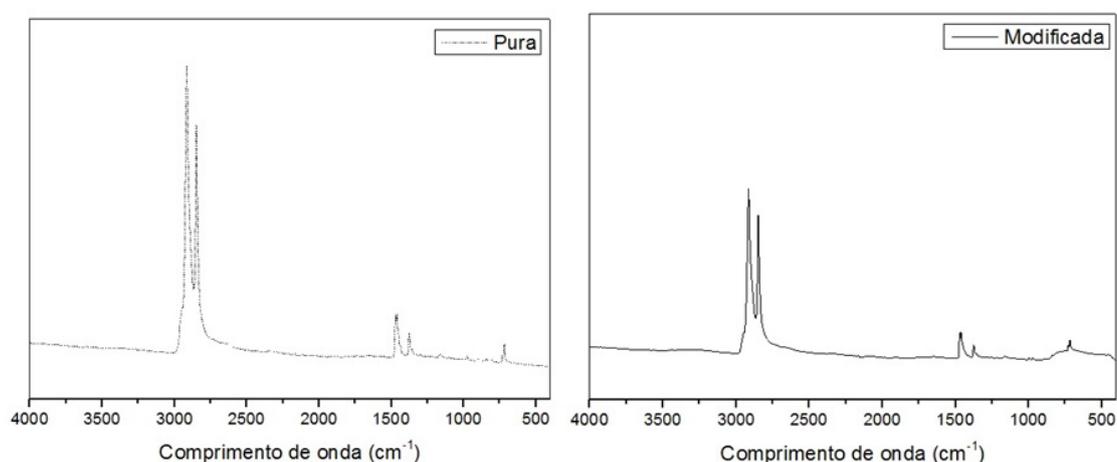


Figura 8 - ATR-FTIR das membranas pura e modificada.

4 | CONCLUSÕES

A partir do presente trabalho, pode-se verificar que a modificação proposta para a superfície de membrana de UF de PES, através do método de imersão em soluções de H_2SO_4 e TiO_2 , respectivamente, é promissora para remoção de nitrato em solução aquosa. Contudo, estudos futuros devem ser realizados, objetivando uma melhoria desta técnica de modificação e, por consequência, nos resultados de remoção deste contaminante. Para isso, sugere-se também, novas análises utilizando membranas de NF, uma vez que estas possuem poros menores, se comparado à membrana avaliada, o que possivelmente aperfeiçoará o desempenho do processo, tendo em vista que o peso molecular do nitrato é baixo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES e CNPq pelo apoio financeiro e pela bolsa de

REFERÊNCIAS

- AHMAD, A. L. et al. Recent development in additives modifications of polyethersulfone membrane for flux enhancement. **Chemical Engineering Journal**, v. 223, p. 246–267, 2013.
- AYYAVOO, J. et al. **Protection of polymeric membranes with antifouling surfacing via surface modifications**. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2016.
- BAE, T. H.; KIM, I. C.; TAK, T. M. Preparation and characterization of fouling-resistant TiO₂ self-assembled nanocomposite membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 275, n. 1–2, p. 1–5, 2006.
- BAE, T. H.; TAK, T. M. Effect of TiO₂ nanoparticles on fouling mitigation of ultrafiltration membranes for activated sludge filtration. **Journal of Membrane Science**, v. 249, n. 1–2, p. 1–8, 2005a.
- BAE, T. H.; TAK, T. M. Preparation of TiO₂ self-assembled polymeric nanocomposite membranes and examination of their fouling mitigation effects in a membrane bioreactor system. **Journal of Membrane Science**, v. 266, n. 1–2, p. 1–5, 2005b.
- BASILE, T. et al. **Review of endocrine-disrupting-compound removal technologies in water and wastewater treatment plants: An EU perspective** *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 2011.
- BELUCI, N. C. L. et al. Hybrid treatment of coagulation/flocculation process followed by ultrafiltration in TiO₂-modified membranes to improve the removal of reactive black 5 dye. **Science of The Total Environment**, v. 664, p. 222–229, 2019.
- BORIBUTH, S.; CHANACHAI, A.; JIRARATANANON, R. **Modification of PVDF membrane by chitosan solution for reducing protein fouling**. v. 342, p. 97–104, 2009.
- BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução nº 20, de 18 de junho de 1986. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF.
- BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Portaria nº 1469, de 29 de dezembro de 2000**. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2001. 32 p.
- DEDAVID, B. A.; GOMES, CMACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: Aplicações e preparação de amostras - Materiais Poliméricos, metálicos e semicondutores**. EdIPUCRS, 2007.
- ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Interciência LTDA. 1998.
- FREIRE, R. S. et al. **Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas** *Química Nova*, 2000.
- FUJISHIMA, A.; RAO, T. N.; TRYK, D. A. **Titanium dioxide photocatalysis** *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 2000.
- GAO, Y. et al. Room temperature deposition of a TiO₂ thin film from aqueous peroxotitanate solution. **Journal of Materials Chemistry**, 2003.
- GARCIA, F. et al. Nitrate ions elimination from drinking water by nanofiltration: Membrane choice. **Separation and Purification Technology**, 2006.

- GOLDSTEIN, Joseph I. et al. **Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis**. Springer, 2017.
- HABERT, Alberto Cláudio. **Processos de separação por membranas**. Vol. 3. Editora E-papers, 2006.
- KIMURA, K. et al. Irreversible membrane fouling during ultrafiltration of surface water. **Water Research**, 2004.
- KUTCHKO, B. G.; KIM, A. G. Fly ash characterization by SEM-EDS. **Fuel**, 2006.
- LEONG, S. et al. TiO₂ based photocatalytic membranes: A review. **Journal of Membrane Science**, v. 472, p. 167–184, 2014.
- MADAENI, S. S.; FANE, A. G.; WILEY, D. E. Factors influencing critical flux in membrane filtration of activated sludge. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 74, n. 6, p. 539–543, 1999.
- MOLINARI, R. et al. Study on a photocatalytic membrane reactor for water purification. **Catalysis Today**, 2000.
- MULDER, M. **Basic Principles of membrane technology**. 2 ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. 564 p.
- NAIME, R. **Eutrofização. Eco Debate**. Disponível em: <<https://www.ecodebate.com.br/2015/05/14/eutrofizacao-artigo-de-roberto-naime/%3E>. <https://www.ecodebate.com.br/2015/05/14/eutrofizacao-artigo-de-roberto-naime/>>. Acesso em: 13 out. 2018.
- PEYRAVI, M. et al. Tailoring the surface properties of PES ultrafiltration membranes to reduce the fouling resistance using synthesized hydrophilic copolymer. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 160, p. 114–125, 2012.
- RAHIMPOUR, A. et al. Coupling TiO₂ nanoparticles with UV irradiation for modification of polyethersulfone ultrafiltration membranes. **Journal of Membrane Science**, 2008.
- RESENDE, A. V. Agricultura e qualidade da água: contaminação da água por nitrato. **Embrapa Cerrados-Documentos (INFOTECA-E)**, p. 28, 2002.
- SABLANI, S. et al. Concentration polarization in ultrafiltration and reverse osmosis: A critical review. **Desalination**, 2001.
- SAFFAR, A. et al. Hydrophilic modification of polypropylene microporous membranes by grafting TiO₂ nanoparticles with acrylic acid groups on the surface. **Polymer**, 2014.
- SCHÄFER, A. I.; NGHIEM, L. D.; WAITE, T. D. Removal of the natural hormone estrone from aqueous solutions using nanofiltration and reverse osmosis. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 1, p. 182–188, 2003.
- SMITH, Albert Lee. Applied infrared spectroscopy. Fundamentals, techniques and analytical problem solving. **Applied infrared spectroscopy. Fundamentals, techniques and analytical problem solving., by Smith, AL. Chichester (UK): John Wiley & Sons, 11+ 322 p., 1979.**
- SONUNE, A.; GHATE, R. Developments in wastewater treatment methods. **Desalination**, v. 167, n. 1–3, p. 55–63, 2004.
- SOUTO, M. A. M. et al. A determinação de nitrato em águas por espectrofotometria UV: usos e precauções. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 65, n. 1, p. 66–70, 2006.

STADE, S. et al. Reversible and irreversible compaction of ultrafiltration membranes. **Separation and Purification Technology**, v. 118, p. 127–134, 2013.

STADE, S. et al. Compaction and its effect on retention of ultrafiltration membranes at different temperatures. **Separation and Purification Technology**, v. 151, p. 211–217, 2015.

SUSANTO, H.; ULBRICHT, M. Characteristics, performance and stability of polyethersulfone ultrafiltration membranes prepared by phase separation method using different macromolecular additives. **Journal of Membrane Science**, v. 327, n. 1–2, p. 125–135, 2009.

TYLKOWSKI, B.; TSIBRANSKA, I. Overview of main techniques used for membrane characterization. **Journal of Chemical Technology and Metallurgy**, 2015.

UPADHYAYA, L.; QIAN, X.; RANIL WICKRAMASINGHE, S. **Chemical modification of membrane surface – overview** *Current Opinion in Chemical Engineering*, 2018.

VAN DER BRUGGEN, B. Chemical modification of polyethersulfone nanofiltration membranes: A review. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 114, n. 1, p. 630–642, 2009.

VATANPOUR, V. et al. Boehmite nanoparticles as a new nanofiller for preparation of antifouling mixed matrix membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 401–402, p. 132–143, 2012.

VON SPERLING, Marcos. Lagoas de estabilização. v. 3. **Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 140p**, 1966.

ZENEBO, Odair; PASCUET, Neus Sadocco. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. In: **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 2005.

ZHANG, F. et al. Titanium Dioxide/Upconversion Nanoparticles/Cadmium Sulfide Nanofibers Enable Enhanced Full-Spectrum Absorption for Superior Solar Light Driven Photocatalysis. **ChemSusChem**, 2016.

ZUBLENA, Joseph Peter; COOK, Maurice G.; ST CLAIR, M. B. Pollutants in groundwater: health effects. **AG-North Carolina Agricultural Extension Service, North Carolina State University (USA)**, 1990.

SOBRE O ORGANIZADOR

DR. BENEDITO RODRIGUES DA SILVA NETO Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso (2005), com especialização na modalidade médica em Análises Clínicas e Microbiologia. Em 2006 se especializou em Educação no Instituto Araguaia de Pós graduação Pesquisa e Extensão. Obteve seu Mestrado em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas (2009) e o Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (2013) da Universidade Federal de Goiás. Pós-Doutorado em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática. Também possui seu segundo Pós doutoramento pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Estadual de Goiás (2015), trabalhando com Análise Global da Genômica Funcional e aperfeiçoamento no Institute of Transfusion Medicine at the Hospital Universitätsklinikum Essen, Germany. Palestrante internacional nas áreas de inovações em saúde com experiência nas áreas de Microbiologia, Micologia Médica, Biotecnologia aplicada a Genômica, Engenharia Genética e Proteômica, Bioinformática Funcional, Biologia Molecular, Genética de microrganismos. É Sócio fundador da “Sociedade Brasileira de Ciências aplicadas à Saúde” (SBCSaúde) onde exerce o cargo de Diretor Executivo, e idealizador do projeto “Congresso Nacional Multidisciplinar da Saúde” (CoNMSaúde) realizado anualmente no centro-oeste do país. Atua como Pesquisador consultor da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG. Coordenador do curso de Especialização em Medicina Genômica e do curso de Biotecnologia e Inovações em Saúde no Instituto Nacional de Cursos. Como pesquisador, ligado ao Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP-UFG), o autor tem se dedicado à medicina tropical desenvolvendo estudos na área da micologia médica com publicações relevantes em periódicos nacionais e internacionais.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-435-1



9 788572 474351