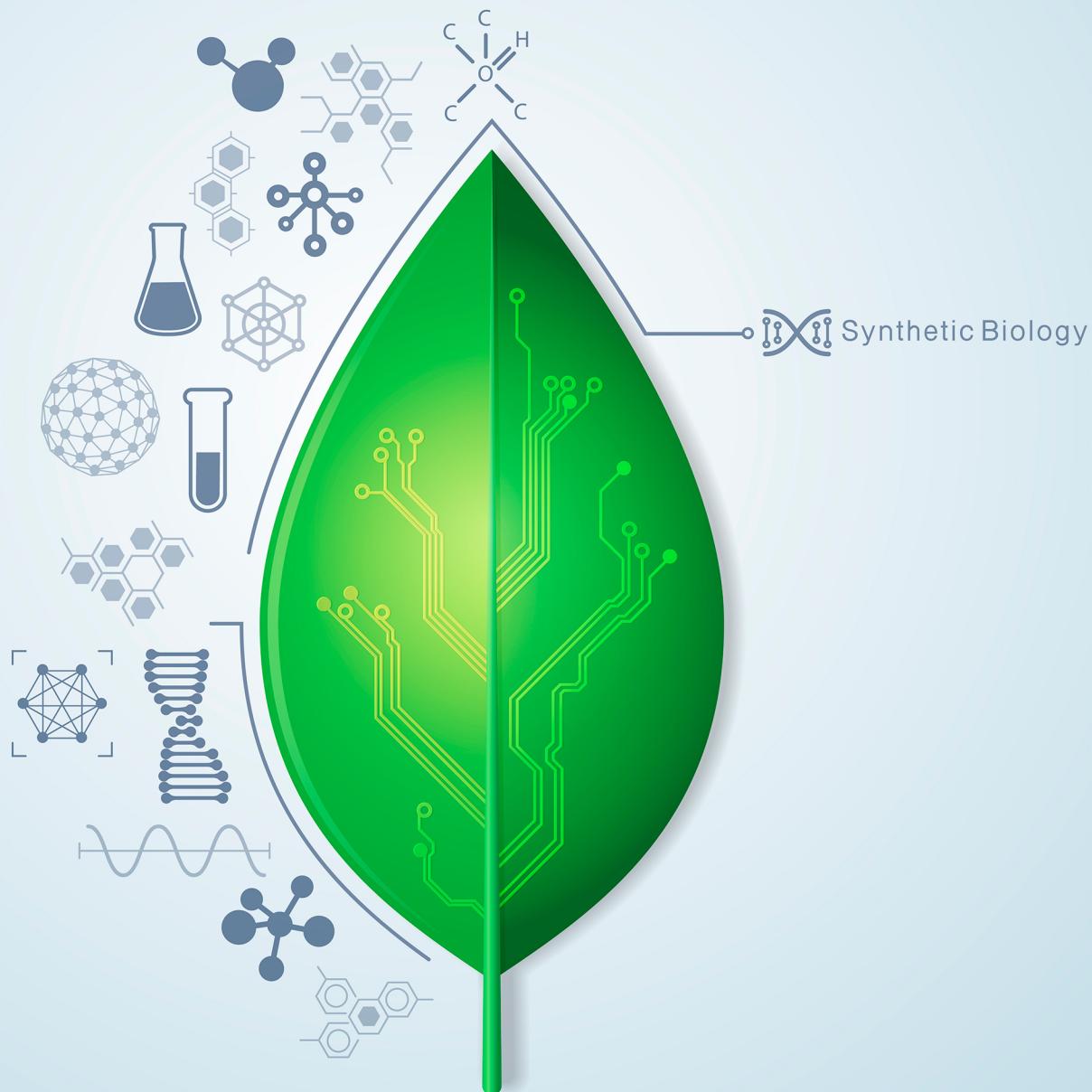


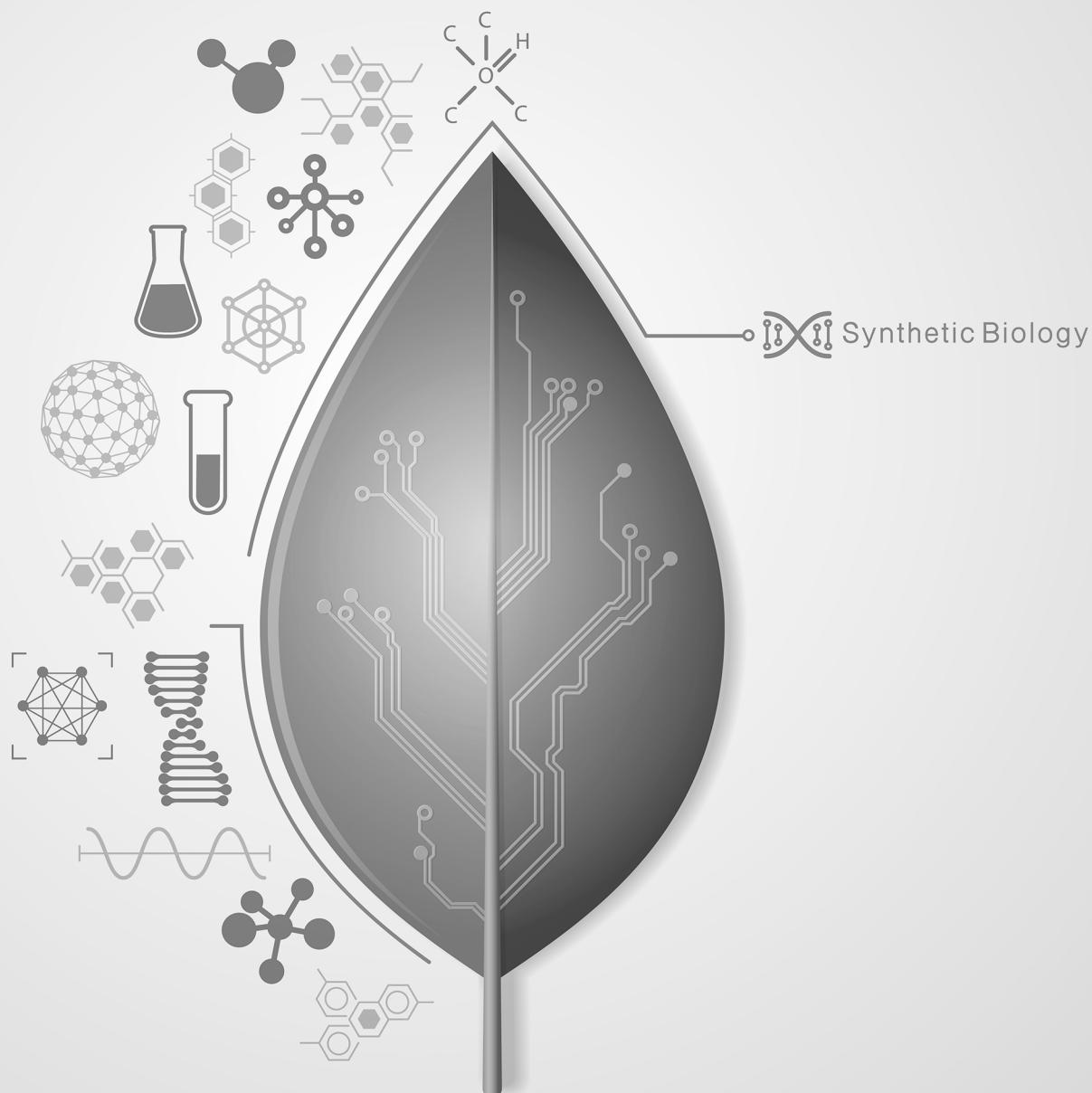
As Ciências Biológicas e a Construção de Novos Paradigmas de Conhecimento 2

Eleuza Rodrigues Machado
(Organizadora)



As Ciências Biológicas e a Construção de Novos Paradigmas de Conhecimento 2

Eleuza Rodrigues Machado
(Organizadora)



2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação: Natália Sandrini

Edição de Arte: Lorena Prestes

Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

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

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia

Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Fabiano Tadeu Graeli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie di Maria Ausiliatrice

Prof. Dr. Julio Cândido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão

Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará

Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste

Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador

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 Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano

Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná

Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Gílrene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
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. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
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. Abrão Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Msc. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Profª Msc. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Msc. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Msc. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Msc. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Msc. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof^a Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Msc. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Msc. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Prof^a Msc. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Prof^a Dr^a Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Msc. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Msc. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Msc. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^a Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof^a Msc. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
C569	As ciências biológicas e a construção de novos paradigmas de conhecimento 2 [recurso eletrônico] / Organizadora Eleuza Rodrigues Machado. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.
Formato:	PDF
Requisitos de sistema:	Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso:	World Wide Web
Inclui bibliografia	
ISBN	978-65-86002-10-2
DOI	10.22533/at.ed.102200503
1.	Biotecnologia – Pesquisa – Brasil. 2. Genética. I. Machado, Eleuza Rodrigues.
	CDD 660
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

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

APRESENTAÇÃO

A proposta da obra “As Ciências Biológicas e a Construção de Novos Paradigmas de Conhecimento 2” é uma e-book que tem como objetivo principal a apresentação de um conjunto de artigos científicos sobre diversos áreas do conhecimento em Ciências Biológicas, onde cada um dos artigos compõe um capítulo, sendo no total 32 capítulos, do volume 2 dessa obra. Essa coletânea de artigos foi organizada considerando uma sequência lógica de assuntos abordados nos trabalhos de pesquisas e revisão da literatura, mostrando a construção do pensamento e do conhecimento do homem nas diversas áreas das Ciências Biológicas.

O objetivo primário da obra consistiu em apresentar de forma clara as pesquisas realizadas em diferentes em instituições de ensino e pesquisa do país como: Centros de Ensino Técnico e Superior, Colégios, Escolas Técnicas de Ensino Superior, Centro Universitários, Fundação de Ensino Médio e Superior, Instituto Federal, Faculdades de Ensino Superior Privado e Universidades Federais. Nos diferentes artigos foram apresentados aspectos relacionados a doenças causadas por Bactérias, Fungos, Parasitos, Virus, Genética, Farmacologia, Fitoterapia, Biotecnologia, Nutrição, Vetores biológicos, Educação e outras áreas correlatas.

Os temas são diversos e muito interessantes e foram elaborados com o intuito de fundamentar o conhecimento de discentes, docentes de ensino fundamental, médio, mestres, doutores, e as demais pessoas que em algum momento de suas vidas almejam obter conhecimentos sobre a saúde abrangendo agentes etiológicos das doenças, uso de substâncias para higienização bucal, aspectos nutricionais de alimentos, atividade de organismos na produção de alimentos, degradação de material orgânica e ciclo de nutrientes no meio ambiente, como capturar e controlar vetores de doenças, uso de plantas medicinais para cura de enfermidades, e sobre metodologias que podem ser usadas nas escolas para favorecer a aprendizagem dos estudantes.

Assim, essa obra “As Ciências Biológicas e a Construção de Novos Paradigmas de Conhecimento 2” apresenta teorias fundamentadas em dados obtidos de pesquisas e práticas realizados por professores e acadêmicos de diversas áreas do conhecimento biológico, e que realizaram seus trabalhos com muita força de vontade, às vezes, com muitos poucos recursos financeiros, e organizaram e apresentaram os resultados alcançados de maneira objetiva e didática. Todos nós sabemos o quanto é importante a pesquisa em um país e a divulgação científica dos resultados obtidos para a sociedade. Dessa forma, a Athena Editora oferece uma plataforma consolidada e confiável para os pesquisadores divulguem os resultados de suas pesquisas.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 1

INCIDÊNCIA E PREVALÊNCIA DE SÍFILIS, HEPATITES E HIV EM MORADORES DE RUA E ABRIGOS NO MUNICÍPIO DE CONTAGEM-MG

Marcela Marília Mayrink Pereira

Esdras Ananias Ferreira Santos

Jefferson Rodrigues

Rodrigo Lobo Leite

DOI 10.22533/at.ed.1022005031

CAPÍTULO 2 9

FREQUÊNCIA E SENSIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE *Candida* spp. ISOLADAS DE ÚLCERAS DE PÉ DIABÉTICO

Aristides Ávilo do Nascimento

Francisco Cesar Barroso Barbosa

Ana Jessyca Alves Moraes

Izabelly Linhares Ponte Brito

Ludimila Gomes Pinheiro

Maria Rosineida Paiva Rodrigues

Francisco Ruliglésio Rocha

Camila Gomes Virgílio Coelho

Weveley Ferreira da Silva

Marcela Paiva Bezerra

DOI 10.22533/at.ed.1022005032

CAPÍTULO 3 22

CULTIVO CELULAR COMO MÉTODO DE AVALIAÇÃO DA VIRULÊNCIA *in vitro* DE *Toxoplasma gondii*

Mohara Bruna Franco Carvalho

Murilo Barros Silveira

Hânsster Hällison Alves Rezende

DOI 10.22533/at.ed.1022005033

CAPÍTULO 4 28

INIBIÇÃO DE BACTÉRIAS PATOGÊNICAS POR EXTRATO CONTENDO PRODUTOS DO METABOLISMO DE *LACTOBACILLUS REUTERI* E APLICAÇÃO EM IOGURTE

Diana Melina Jované Garuz

Carolina Saori Ishii Mauro

Maria Thereza Carlos Fernandes

Fernanda Silva Farinazzo

Juliana Morilha Basso

Rayssa da Rocha Amancio

Débora Pinhatari Ferreira

Adriana Aparecida Bosso Tomal

Sandra Garcia

DOI 10.22533/at.ed.1022005034

CAPÍTULO 5 37

IDENTIFICAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM BANHEIROS DO FUNEC- CENTEC E SEUS RISCOS PARA TRANSMISSÃO DE INFECÇÕES URINÁRIAS

Camila Kathleen Aquino Silva

Júlia Gabriela Machado da Silva

Rodrigo Lobo Leite

CAPÍTULO 6 45

IDENTIFICAÇÃO DE DELEÇÕES E DUPLICAÇÕES NO GENE CYP2A6 NA POPULAÇÃO DE GOIÂNIA – GO POR MLPA

Lucas Carlos Gomes Pereira
Nádia Aparecida Bérgamo
Elisângela de Paula Silveira-Lacerda
Jalsi Tacon Arruda

DOI 10.22533/at.ed.1022005036

CAPÍTULO 7 50

ANÁLISE DA QUANTIDADE DE FLÚOR INGERIDA POR PRÉ- ESCOLARES DEVIDO A UTILIZAÇÃO DE DENTIFRÍCIOS E CONSUMO DE ÁGUA FLUORETADA

Júlia Dias Cruz
Rafael Duarte Nascimento
Adriana Mara Vasconcelos Fernandes de Oliveira
Juliana Patrícia Martins de Carvalho
Victor Rodrigues Ribeiro

DOI 10.22533/at.ed.1022005037

CAPÍTULO 8 62

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANTISSÉPTICAS DE SABONETE LÍQUIDO PARA AS MÃOS ACRESCIDO DE ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO

Angela Hitomi Kimura
Mariane Beatrice Fortin
Marcelly Chue Gonçalves
Bianca Cerqueira Dias
Victor Hugo Clébיס
Sara Scandorieiro
Audrey Alesandra Stinghen Garcia Llonni
Gerson Nakazato
Renata Katsuko Takayama Kobayashi

DOI 10.22533/at.ed.1022005038

CAPÍTULO 9 75

CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO SENSORIAL DO KEFIR TRADICIONAL E DERIVADOS

Ana Carolina Resende Rodrigues
Lucas Soares Bento
Rodrigo Lobo Leite
Jefferson Rodrigues

DOI 10.22533/at.ed.1022005039

CAPÍTULO 10 83

DESESTABILIZAÇÃO DA EMULSÃO FORMADA DURANTE A EXTRAÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO DE GIRASSOL

Denise Silva de Aquino
Dieny Fabian Romanholi
Camila da Silva

DOI 10.22533/at.ed.10220050310

CAPÍTULO 11 89

FEITO ALELOPÁTICO DO EXTRATO AQUOSO DE GIRASSOL SOBRE A GERMINAÇÃO DE

SEMENTES DE MILHO E CORDA DE VIOLA

Ana Carolina Perez de Carvalho dos Santos
Giselle Prado Brigante
Hebe Perez de Carvalho

DOI 10.22533/at.ed.10220050311

CAPÍTULO 12 103

APLICAÇÃO DE ENTEROCINA EM FILME BIODEGRADÁVEL DE AMIDO

Bruno Seben de Almeida
Luciana Furlaneto-Maia

DOI 10.22533/at.ed.10220050312

CAPÍTULO 13 112

BECA: ARMADILHA PARA CAPTURA DO MOSQUITO *Aedes aegypti*

Isadora Brandão Reis
Maria Luísa Silva Amancio
Maira Neves Carvalho
Rosiane Resende Leite

DOI 10.22533/at.ed.10220050313

CAPÍTULO 14 122

DETERMINAÇÃO DOS PADRÕES MORFOMÉTRICOS DA CABEÇA DOS ESPERMATOZÓIDES DE PIRAPITINGA (*PIARACTUS BRACHYPOMUS*)

Mônica Aline Parente Melo Maciel
Felipe Silva Maciel
Joao Paulo Silva Pinheiro
José Ferreira Nunes
Carminda Sandra Brito Salmito Vanderley

DOI 10.22533/at.ed.10220050314

CAPÍTULO 15 130

EFFECTOS DE LA FRAGMENTACION EN LA MORFOLOGIA DE LOS ORGANISMOS: VARIACION EN LOS PATRONES DE COLORACION DE ABEJAS Y AVISPAS (INSECTA: HYMENOPTERA) EN UN PAISAJE ALTAMENTE FRAGMENTADO DEL OESTE DE PARANÁ

Antony Daniel Muñiz Bravo
Luis Roberto Ribeiro Faria

DOI 10.22533/at.ed.10220050315

CAPÍTULO 16 138

EFEITO DO pH E DA TEMPERATURA NA BIOSSORÇÃO DE LARANJA SAFRANINA POR *AIIPHANES ACULEATA*

Lennon Alonso de Araujo
Laiza Bergamasco Beltran
Eduarda Freitas Diogo Januário
Yasmin Jaqueline Fachina
Gabriela Maria Matos Demiti
Angélica Marquetotti Salcedo Vieira
Raquel Guttierres Gomes
Rosângela Bergamasco

DOI 10.22533/at.ed.10220050316

CAPÍTULO 17 144

EFEITO DA TEMPERATURA NO DESEMPENHO DE *Macrobrachium amazonicum* EM SISTEMA DE RECIRCULAÇÃO E EXTRAÇÃO DA QUITOSANA A PARTIR DO CEFALOTÓRAX PARA

PRODUÇÃO DE BIOMEMBRANA

João Pedro Silvestre Armani
Carlise Desbastiani
Eduardo Luis Cupertino Ballester

DOI 10.22533/at.ed.10220050317

CAPÍTULO 18 156

PRODUÇÃO DE BISCOITOS COM FARINHA DA SEMENTE DE *Leucaena Leucocephala* (LAM.) DE WIT. (FABACEAE)

Rosiane Resende Leite
Anna julia Oliveira
Maria Fernanda Santos Marins
Rubia Souza de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.10220050318

CAPÍTULO 19 168

ETNOVARIEDADES DE MANDIOCA CULTIVADAS NO ESTADO DE MATO GROSSO: CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA POR MEIO DE DESCRIPTORES DE FLORES E FRUTOS

Eliane Cristina Moreno de Pedri
Elisa dos Santos Cardoso
Auana Vicente Tiago
Kelli Évelin Müller Zortéa
Mariéllen Schmith Wolf
Larissa Lemes dos Santos
Joameson Antunes Lima
Angelo Gabriel Mendes Cordeiro
Edimilson Leonardo Ferreira
Ana Paula Roveda
Patrícia Ana de Souza Fagundes
Ana Aparecida Bandini Rossi

DOI 10.22533/at.ed.10220050319

CAPÍTULO 20 180

ESTUDO FITOQUÍMICO E POTENCIAL BIOLÓGICO DE FOLHAS DE *Schinus molle* L. (ANACARDIACEAE)

Rosi Zanoni da Silva
Camila Dias Machado
Juliane Nadal Dias Swiech
Traudi Klein
Luciane Mendes Monteiro
Wagner Alexander Groenwold
Daniela Gaspardo Folquitto
Vanessa Lima Gonçalves Torres
Adalci Leite Torres
Vitoldo Antonio Kozlowski Junior
Jane Manfron Budel
Lorene Armstrong

DOI 10.22533/at.ed.10220050320

CAPÍTULO 21 190

PREScriÇÃO DE FITOTERÁPICOS POR NUTRICIONISTAS – DE ACORDO COM ASBRAN

Vanderlene Brasil Lucena
Whandra Braga Pinheiro de Abreu
Karuane Sartunino da Silva Araujo
Diana Augusta Guimarães de Lima

CAPÍTULO 22 208

POTENCIAL INSETICIDA E REPELÊNCIA PARA ALIMENTAÇÃO DE *Schinus molle*L. (Anacardiaceae) SOBRE *CHINAVIA IMPICTICORNIS* (STÅL, 1872) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

Vanessa Lima Gonçalves Torres
Rosi Zanoni da Silva
Camila Dias Machado
Juliane Nadal Dias Swiech
Traudi Klein
Luciane Mendes Monteiro
Wagner Alexander Groenwold
Daniela Gaspardo Folquitto
Adalci Leite Torres
Vitoldo Antonio Kozlowski Junior
Jane Manfron Budel
Lorene Armstrong

DOI 10.22533/at.ed.10220050322

CAPÍTULO 23 217

RISCOS DE ALIMENTOS GENETICAMENTE MODIFICADOS PARA O MEIO AMBIENTE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DE LITERATURA

Isadora Farinacio Camillo
Ana Vitória de Brito Heler
Dorine Marcelino de Santana

DOI 10.22533/at.ed.10220050323

CAPÍTULO 24 222

OCORRÊNCIA DE BORBOLETAS FRUGÍVORAS (NYMPHALIDAE: LEPIDOPERA) EM FRAGMENTOS DE MATA ATLÂNTICA NA RESERVA BIOLÓGICA GUARIBAS, MAMANGUAPE-PB

Janderson James Barbosa
Rafael Petrucci Marques Pinto
David Lucas Amorim Lopes
Afonso Henrique Leal
Getúlio Luis de Freitas

DOI 10.22533/at.ed.10220050324

CAPÍTULO 25 231

PSEUDOTRIMEZIA SPECIOSA (*Iridaceae*, *Trimezieae*), NOVA COMBINAÇÃO DE PSEUDOTRIMEZIA DOS CAMPOS RUPESTRES DE MINAS GERAIS

Nadia Said Chukr
DOI 10.22533/at.ed.10220050325

CAPÍTULO 26 243

OBSERVAÇÃO DE HERBIVORIA EM MANACÁ-DE-CHEIRO (*BRUNFELSIA UNIFLORA*) NAS REGIÕES DE BORDA E INTERIOR DA MATA

Fernanda Marinho Sarturi
Juliana Tunnermann
Paola Cristiane Vidor
Vidica Bianchi
DOI 10.22533/at.ed.10220050326

CAPÍTULO 27 248

COMPORTAMENTO DA REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E NITROGÊNIO EM REATOR DE LEITO ESTRUTURADO OPERADO COM E SEM RECIRCULAÇÃO

Edgar Augusto Aliberti
Janaina Casado Rodrigues da Silva
Alex da Cunha Molina
Kátia Valéria Marques Cardoso Prates
Camila Zoe Correa
Deize Dias Lopes

DOI 10.22533/at.ed.10220050327

CAPÍTULO 28 253

DISPOSITIVO PARA CAPTURA E PROCESSAMENTO DE IMAGENS TÉRMICAS PARA DETECÇÃO DE ESTRESSE HÍDRICO

Júlio Anderson de Oliveira Júnior
Marcelo Gonçalves Narciso

DOI 10.22533/at.ed.10220050328

CAPÍTULO 29 262

CONTRIBUIÇÕES DAS ATIVIDADES INVESTIGATIVAS: A LUDICIDADE A FAVOR DO EXPERIMENTAL E NA FORMAÇÃO DOS PROFESSORES

Marcos de Oliveira Rocha
Eliane de Oliveira Ferreira

DOI 10.22533/at.ed.10220050329

CAPÍTULO 30 281

INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: A EXPERIMENTAÇÃO COMO FERRAMENTA PEDAGÓGICA EM BIOQUÍMICA APLICADA

Alcione Silva Soares
Dieisy Martins Alves

DOI 10.22533/at.ed.10220050330

CAPÍTULO 31 289

UMA EXPERIÊNCIA EM EDUCAÇÃO AMBIENTAL NO ENSINO FUNDAMENTAL DE BRASÍLIA, DF
AN EXPERIENCE IN ENVIRONMENTAL EDUCATION IN BRASILIA, DF

Andréa Ferreira Souto
DOI 10.22533/at.ed.10220050331

CAPÍTULO 32 296

TRANSPASSANDO AS PAREDES DA SALA DE AULA: USO DE PROJETO PARA O ENSINO DE BIOLOGIA NUMA ESCOLA PÚBLICA, PIMENTA BUENO-RO

Priscila Cofani Costa Pomini
Eunice Silveira Martello Lobo
Maria Rosangela Soares

DOI 10.22533/at.ed.10220050332

CAPÍTULO 33 303

CONHECIMENTO TECNOLÓGICO PEDAGÓGICO DE CONTEÚDO NA PRÁTICA DOCENTE NO ENSINO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: POTENCIALIDADES E COMPETÊNCIAS

Joseval Freitas dos Santos
Erica Pinheiro de Almeida
Aliane da Fe Silva
DOI 10.22533/at.ed.10220050333

CAPÍTULO 34 316**ASPECTOS BIOLÓGICOS-MOLECULARES DO ENVELHECIMENTO CUTÂNEO**

Moisés H. Mastella

Neida L.K. Pellenz

Liana Marques dos Santos

Jéssica de Rosso Motta

Thamara Graziela Flores

Nathália Cardoso de Afonso Bonotto

Ednea Aguiar Maia- Ribeiro

Ivana B. M. da Cruz

Fernanda Barbisan

DOI 10.22533/at.ed.10220050334

SOBRE O ORGANIZADORA 332**ÍNDICE REMISSIVO 333**

CAPÍTULO 1

INCIDÊNCIA E PREVALÊNCIA DE SÍFILIS, HEPATITES E HIV EM MORADORES DE RUA E ABRIGOS NO MUNICÍPIO DE CONTAGEM-MG

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 1/12/2019

Marcela Marísia Mayrink Pereira

Fundação de Ensino de Contagem – Unidade
CENTEC

Belo Horizonte – Minas Gerais

<http://lattes.cnpq.br/6373191819238533>

Esdras Ananias Ferreira Santos

Fundação de Ensino de Contagem – Unidade
CENTEC

Contagem – Minas Gerais

<http://lattes.cnpq.br/5901003776631435>

Jefferson Rodrigues

Centro Universitário Metodista Izabela Hendrix
Contagem – Minas Gerais

<http://lattes.cnpq.br/4868677249759460>

Rodrigo Lobo Leite

Universidade Federal de Lavras - UFLA
Contagem – Minas Gerais

<http://lattes.cnpq.br/5215971781478751>

relacionadas às condições de saneamento básico, nível socioeconômico da população, grau de educação sanitária, condições de higiene, situações de rua, práticas e atitudes dessa população, que favorecem a contaminação dos mesmos com o agente infeccioso. O projeto, feito em parceria com o Centro de Referência Especializado para População em Situação de Rua em Contagem (CENTRO-POP), contou com a participação de 41 moradores de rua e foram realizados testes imunocromatográficos rápidos para determinação qualitativa de抗ígenos de superfície e de anticorpos totais em amostras de soro. Do total de moradores coletados, 34,1% dos exames realizados deram resultado reagente. Verifica-se então a importância de informar à população de rua sobre os modos de contrair HIV, Hepatite B, Hepatite C e, principalmente, Sífilis, e a necessidade de medidas que visem à inserção destas pessoas nos serviços de saúde e campanhas de vacinação contra a Hepatite B.

PALAVRAS-CHAVE: Moradores de rua; Abrigos; Sífilis; HIV.

RESUMO: Os moradores de rua e de abrigos, que devido à enorme desigualdade, são invisíveis para alguns e considerados estorvos para outros, são mais vulneráveis a doenças como a Sífilis, Hepatites e HIV, em razão ao menor acesso à saúde. Estas doenças estão

INCIDENCE AND PREVALENCE OF
SYPHILIS, HEPATITIS AND HIV IN
HOMELESS AND SHELTERS IN THE

ABSTRACT: The homeless people and those who leaves in shelters, which owing the vast inequality, are invisible to some and considered as hindrances to others, they are more vulnerable to diseases like syphilis, hepatitis and HIV, owing their less access to health. Those diseases are related to the conditions of basic sanitation, socioeconomic level of population, the degree of sanitary education, hygiene conditions, street situations, practices and attitudes of this population that favor the contamination of the same with the infectious agent. The project, carried with the partnership with the Specialized Reference Center for Population in Situation of Street in Contagem (CENTRO-POP), counted with the participation of 41 homeless people and it was fulfilled fast immunochromatographic tests to the qualitative determination of surface antigens and total antibodies in serum samples. By the total of street dwellers examined, 34,1% of the exams showed reagent results. It is ensured the importance of informing the street population about the methodes of contracting HIV, Hepatitis B, Hepatitis C and, mainly, Syphilis. There is a necessity of improving ways to insert these people into health programs and campaigns of vaccination against Hepatitis B.

KEYWORDS: Homeless; Shelters; Syphilis, HIV.

1 | INTRODUÇÃO

O trabalho teve como objetivos: comprovar a incidência e a prevalência de Sífilis, HIV e Hepatites B e C em moradores de rua e abrigos no município de Contagem-MG; informar a população de rua acerca dos modos de se prevenir destas doenças; possibilitar mais visibilidade às necessidades de saúde desta população, acolhendo-a e inserindo-a ao Sistema Único de Saúde (SUS), onde será encaminhada a um centro especializado para atendimento por uma equipe multidisciplinar, visando uma melhora na sobrevida desta população e consequentemente a minimização dos riscos de morbidade e mortalidade.

O estudo da prevalência e incidência de doenças fornece meios importantes para decidir quais medidas de controle e prevenção são as mais indicadas, além de também avaliar se as estratégias usadas foram suficientes para diminuir ou controlar a ocorrência de uma determinada doença.

A pesquisa teve como foco a averiguação de diagnósticos positivos para as respectivas infecções sexualmente transmissíveis investigadas, na população em estudo, baseando-se em artigos de Wagner, Doutor em Epidemiologia e médico, VARELLA & JARDIM (2009) e outros, possibilitando um maior contato dos moradores de rua com atendimento de pesquisa e instrução preventiva.

2 | METODOLOGIA

No dia 13 de Agosto de 2018, foi realizada uma palestra para os moradores de rua e abrigos, no Centro de Referência Especializado para População em Situação de Rua em Contagem (CENTRO-POP), acerca dos modos de transmissão das doenças e de como seria realizada a coleta e o exame. Em seguida, foram realizadas as coletas em 41 moradores de rua, usando materiais de coleta descartáveis (agulha, adaptador de coleta, luvas) e equipamentos de proteção individual (jaleco, touca, óculos). Foi feita a punção venosa e usado tubo para coleta de tampa vermelha (soro), contendo ativador de coágulo para análise sorológico. Durante esse procedimento, os tubos contendo sangue foram devidamente identificados e armazenados em recipiente refrigerado de 2 a 8°C e encaminhados ao laboratório de Análises Clínicas do Centro de Educação Tecnológica de Contagem (CENTEC). No laboratório, as amostras, devidamente identificadas, foram centrifugadas e armazenadas na geladeira em uma temperatura de 2 a 8°C.

No dia 15 de Agosto, as amostras foram retiradas da geladeira para a realização dos exames sorológicos e foram utilizados kits para testes rápidos, Alere®, ABON® e SD BIOLINE HBsAg.

O teste rápido utilizado para triagem da infecção pelo *Treponema pallidum* (bactéria causadora da Sífilis) baseia-se na imunocromatografia, que permite detectar os anticorpos específicos anti-*T. Pallidum* no soro. Foram usadas as tiras de teste do Kit Abon® e o conta-gotas para transferir 2 gotas de soro (aproximadamente 50 μ L) sobre a almofada de amostra da tira de teste. Adicionou-se 1 gota de solução tampão (aproximadamente 40 μ L) e aguardou-se 10 minutos para a leitura da tira de teste. O teste positivo apresenta duas linhas vermelhas distintas, uma linha deve estar na região da linha do Controle© e outra linha deve estar na região da linha do Teste (T). Já no teste negativo, uma linha vermelha aparece na região da linha do Controle© e nenhuma linha vermelha ou rosa aparece na região da linha do Teste.

O teste rápido para detecção qualitativa de anticorpos do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) tipo 1, tipo 2 e Subtipo O em soro foi feito usando o Kit Abon®. O dispositivo de teste foi colocado em uma superfície limpa e nivelada e, com o conta-gotas na vertical, foi transferida 1 gota de soro (aproximadamente 25 μ L) para o poço de amostra (S) do dispositivo de teste. Depois, foi adicionada 1 gota de solução tampão (cerca de 40 μ L) e, decorridos 10 minutos, os resultados foram lidos. Consideram-se positivos os dispositivos com 2 ou 3 linhas coloridas e consideram-se negativos os dispositivos com apenas uma linha colorida na região de Controle©.

O ALERE HCV® é um teste rápido imunocromatográfico para detecção qualitativa de anticorpos específicos contra HCV (Hepatite C) em amostras de soro.

O dispositivo de teste foi retirado da embalagem e identificado, em seguida foi adicionado 10 μ L de soro (usando uma micropipeta) na cavidade da amostra (S) e 4 gotas de diluente de ensaio, na mesma cavidade. Após 15 minutos, os dispositivos foram lidos e interpretados, sendo resultado negativo a presença somente da linha de Controle \odot e resultado positivo a presença da linha de Teste (T) e da linha de Controle \odot .

O teste SD BIOLINE HBsAg \odot é também um teste imunocromatográfico, de único passo, designado para determinação qualitativa de HBsAg (vírus da Hepatite B) em soro. Para a realização do teste, o dispositivo foi retirado da bolsa de folha de alumínio e colocado em uma superfície plana e seca e foi adicionado 100 μ L da amostra de soro no poço de amostra (S). Após 20 minutos, o teste foi interpretado, sendo a presença de uma linha na janela do resultado considerado negativo e a presença de duas linhas indica um resultado positivo.

3 | RESULTADOS

De acordo com dados da Associação dos Moradores do Bairro Novo Progresso II (Amonp), equipe responsável pela abordagem de rua no município de Contagem-MG, em 2017, foram identificadas 1.022 pessoas em situação de rua. Durante a realização do projeto, foi efetuada a coleta em apenas 41 moradores de rua e abrigos, devido à falta de consciência sobre a importância e o cuidado com a própria saúde, além do receio por parte dos mesmos em realizar exames laboratoriais. A população total de rua coletada foi de 4% e, desta parcela de moradores de rua, 34,1% dos resultados laboratoriais foram reagentes, como demonstra a figura abaixo.



Figura 1 - Resultado geral dos exames realizados.

Fonte: acervo pessoal. Agosto de 2018.

A maior parte (46%) dos moradores de rua coletados estava na faixa etária entre 31 a 40 anos, como demostra o gráfico abaixo, e 80% eram do sexo masculino.

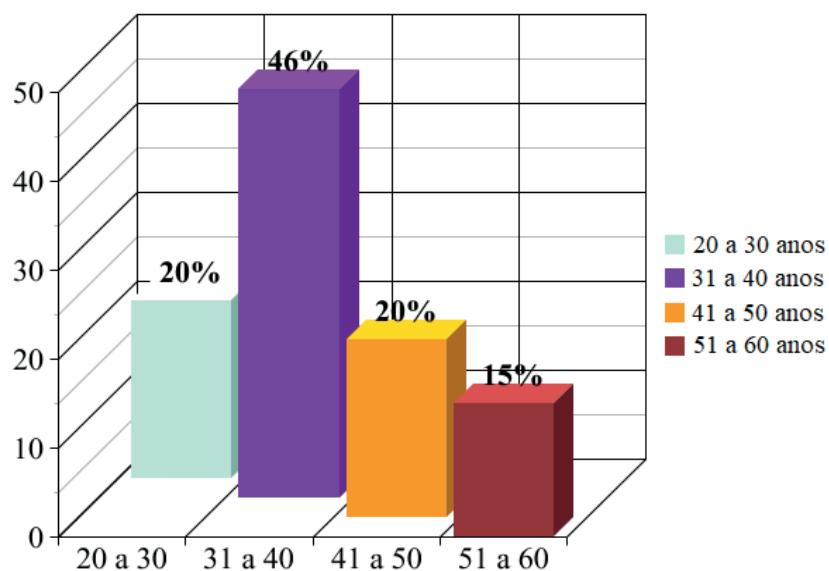


Figura 2 - Moradores de rua coletados, divididos por idade.

Fonte: acervo pessoal. Agosto de 2018.

Foram realizados 40 testes para detecção qualitativa de anticorpos do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), 25 testes para diagnosticar Hepatite C (anti-HCV), 30 testes para diagnosticar Hepatite B (anti-HBsAg) e 41 testes para detectar a presença de anticorpos específicos anti-Treponema pallidum (bactéria causadora da Sífilis).

Dos 41 testes feitos para utilizado para triagem da infecção pelo *Treponema pallidum*, 31,7% apresentaram resultado reagente. Dos 40 testes para detecção qualitativa de anticorpos do HIV, não houve resultados reagentes. Nos 30 testes feitos para diagnóstico de Hepatite B (anti-HBsAg), não houve nenhum resultado reagente e, dos 25 testes para diagnóstico de Hepatite C (anti-HCV), 8% apresentaram resultados reagentes.

Moradores de rua identificados com anticorpos específicos anti-*Treponema pallidum*.

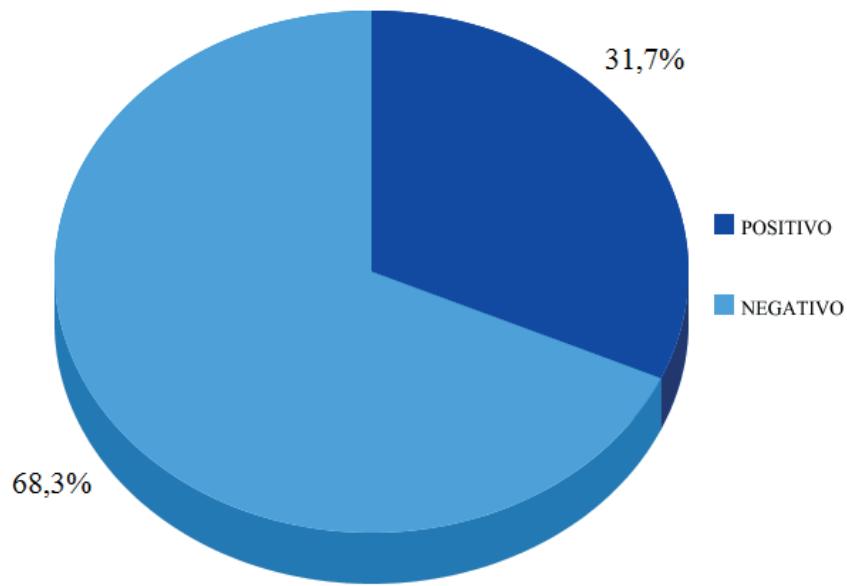


Figura 3 - Moradores de rua identificados com anticorpos específicos anti-*Treponema pallidum*.

Fonte: acervo pessoal. Agosto de 2018.

Segundo Wagner (1998, p. 158), Doutor em Epidemiologia e médico formado pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul,

A prevalência mede a proporção de indivíduos em uma população que estão acometidos [sic] da doença em um determinado momento. É, portanto, uma medida estatística (análoga a uma fotografia) relacionada a um ponto no tempo, mesmo que a coleta de dados ocorra durante dias, meses ou até anos. O numerador é composto de casos ativos no momento do estudo, sejam eles recentes ou antigos. A fórmula para o cálculo da prevalência (P) é:

$$P = \frac{\text{número de indivíduos afetados em um determinado momento}}{\text{total de indivíduos estudados}}$$

[...] A incidência refere-se ao número de novos eventos ou casos novos que ocorrem em uma população de indivíduos em risco durante um determinado período de tempo. [...]

$$I_c = \frac{\text{número de casos novos detectados durante um determinado período de tempo}}{\text{total de indivíduos em risco no início do período}}$$

Usando as fórmulas citadas acima, o cálculo da prevalência e da incidência de Sífilis, HIV, Hepatite B e Hepatite C em moradores de rua e abrigos no município de Contagem é igual a 0,341%.

4 | DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A transmissão do HIV se dá por via sexual (IST- Infecção Sexualmente Transmissível), pelo sangue e pelo aleitamento materno. O vírus da Aids não é transmitido por objetos de uso diário, pois se trata de um vírus muito sensível ao calor e à umidade e, fora do organismo, em contato com o ambiente, não sobrevive mais do que uma hora (VARELLA & JARDIM, 2009).

Sobre a Hepatite B, o Ministério da Saúde (BRASIL, 2005) indica que pode ser transmitida por relações sexuais desprotegidas (pois o vírus encontra-se no sêmen e secreções vaginais), por meio da realização de procedimentos sem esterilização adequada ou pela utilização de material descartável, uso de drogas com compartilhamento de seringas, agulhas ou outros equipamentos, pela transmissão vertical, aleitamento materno e acidentes com perfuro cortantes.

Já a Hepatite C, ainda de acordo com o Ministério da Saúde (BRASIL, 2005), é transmitida por meio de transfusão de sangue e uso de drogas injetáveis, uso de instrumentos sem devida esterilização e por relações sexuais desprotegidas.

A Sífilis é uma doença comumente diagnosticada em moradores de rua ou albergues. Isso acontece especialmente devido a situações de rua, práticas e atitudes dessa população, o que favorece a contaminação dos mesmos com a bactéria. Muitos moradores de rua ou abrigos regularmente praticam relações sexuais desprotegidas, às vezes com parceiros portadores de Sífilis e, consequentemente, adquirem a doença, sendo esta a forma mais comum de contaminação entre os indivíduos. Há casos de outros que se contaminam através de materiais perfuro cortantes infectados (descartados em lixos convencionais, local onde alguns membros dessa população obtêm alimento, objetos etc.).

De acordo com os resultados obtidos, pode-se observar o grande número de moradores identificados com a bactéria *Treponema pallidum*. Como os moradores convivem nos mesmos locais e alguns fazem uso de drogas injetáveis, aumenta-se a probabilidade de contaminação entre eles, visto que, de acordo com relatório de gestão do CENTRO-POP, de janeiro a abril foram atendidos 566 moradores de rua.

De acordo com dados da Associação dos Moradores do Bairro Novo Progresso II (Amonp), equipe responsável pela abordagem de rua no município de Contagem, em 2017, foram identificadas 1.022 pessoas em situação de rua. Destas, 86% são do sexo masculino e 14% do feminino. Em relação à faixa etária, 507 são adultos, entre 29 e 59 anos e 213 são jovens com idade produtiva, entre 18 e 29 anos. O levantamento também identificou que 715 pessoas desse total declararam ser usuários de drogas, o que mostra a maior susceptibilidade destes moradores a contraírem infecções sexualmente transmissíveis e por contato com sangue contaminado (CUNHA, 2018).

5 | CONCLUSÃO

Em vista dos resultados obtidos, pode-se verificar a importância de informar à população de rua sobre os modos de prevenção contra o HIV, Hepatite B, Hepatite C e, principalmente, Sífilis, e a necessidade de medidas que visem à inserção destas pessoas nos serviços de saúde e campanhas de vacinação contra a Hepatite B. O trabalho possibilitou mais visibilidade às necessidades de saúde desta população e, junto ao CENTRO-POP, conscientizou os indivíduos sobre as práticas e atitudes que favorecem a contaminação dos mesmos com agentes infecciosos, além da realização do diagnóstico de pessoas que não sabiam que portavam alguma doença. Estas foram acolhidas e encaminhadas à Unidade Básica de Saúde e ao Centro de Consultas Especializadas Iria Diniz para serem atendidas por uma equipe multidisciplinar (médicos, infectologistas, enfermeiros, psicólogos e assistentes sociais) que as auxiliará durante o tratamento.

REFERÊNCIAS

ABON®. Folheto Informativo. 2016. Bula.

ALERE HCV®. São Paulo: ALERE S/A, 2017. Bula.

ALERE SÍFILIS®. Belo Horizonte: Quantum Diagnósticos Ltda. Bula.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Hepatites virais: o Brasil está atento.** Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília, 2005. 2. ed. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/hepatites_virais_brasil_atento.pdf>. Acesso em: 5 maio 2018.

CUNHA, C. **Cidade debate política pública voltada ao morador em situação de rua.** Prefeitura de Contagem [Online]. Mar./2018. Disponível em: <<http://www.contagem.mg.gov.br/novoportal/2018/03/13/cidade-debate-politica-publica-voltada-ao-morador-em-situacao-de-rua/>>. Acesso em: 13 maio 2018.

SD BIOLINE HBsAg®. São Paulo: ALERE S/A, 2016. Bula.

VARELLA, D.; JARDIM, C. **Guia prático de saúde e bem-estar: Aids.** 1. ed. São Paulo: Editora Gold, 2009.

WAGNER, M. B. **Medindo a ocorrência da doença: prevalência ou incidência?** Jornal de Pediatria, 1998, n. 74, p. 157-162. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/54350/000164480.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 6 jan. 2018.

CAPÍTULO 2

FREQUÊNCIA E SENSIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE *Candida* spp. ISOLADAS DE ÚLCERAS DE PÉ DIABÉTICO

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 21/11/2019

Aristides Ávilo do Nascimento

Universidade Federal do Ceará - UFC/Campus Sobral, Laboratório de Microbiologia (FAMED), Avenida Comandante Maurocelio Rocha Pontes, 100 - Derby, Sobral - CE, 62042-280.
<http://lattes.cnpq.br/5224320527891220>

Francisco Cesar Barroso Barbosa

Universidade Federal do Ceará - UFC/Campus Sobral, Laboratório de Microbiologia (FAMED), Avenida Comandante Maurocelio Rocha Pontes, 100 - Derby, Sobral - CE, 62042-280.
<http://lattes.cnpq.br/3251670003132829>

Ana Jessyca Alves Moraes

Universidade Federal do Ceará - UFC/Campus Sobral, Laboratório de Microbiologia (FAMED), Avenida Comandante Maurocelio Rocha Pontes, 100 - Derby, Sobral - CE, 62042-280.
<http://lattes.cnpq.br/8443514319342005>

Izabelly Linhares Ponte Brito

Santa Casa de Misericórdia de Sobral – SCMS/CE, Laboratório de Microbiologia, Rua Antônio Crisóstomo de Melo, 919 - Centro, Sobral - CE, 62010-550.
Universidade Federal do Ceará - UFC/Campus Sobral, Laboratório de Microbiologia (FAMED), Avenida Comandante Maurocelio Rocha Pontes, 100 - Derby, Sobral - CE, 62042-280.
<http://lattes.cnpq.br/2419019992888082>

Ludimila Gomes Pinheiro

Universidade Federal do Ceará - UFC/Campus Sobral, Laboratório de Microbiologia (FAMED), Avenida Comandante Maurocelio Rocha Pontes, 100 - Derby, Sobral - CE, 62042-280.
<http://lattes.cnpq.br/8737416947152482>

Maria Rosineida Paiva Rodrigues

Universidade Federal do Ceará - UFC/Campus Sobral, Laboratório de Microbiologia (FAMED), Avenida Comandante Maurocelio Rocha Pontes, 100 - Derby, Sobral - CE, 62042-280.
<http://lattes.cnpq.br/9484646568455763>

Francisco Ruliglésio Rocha

Universidade Federal do Ceará, Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Comissão Interna de Biossegurança (CIBio). Avenida Mister Hull, 2965 – Pici, Fortaleza – CE, 60440-900.
<http://lattes.cnpq.br/6926716863618375>

Camila Gomes Virgínia Coelho

Universidade Federal do Ceará - UFC/Campus Sobral, Laboratório de Microbiologia (FAMED), Avenida Comandante Maurocelio Rocha Pontes, 100 - Derby, Sobral - CE, 62042-280.
<http://lattes.cnpq.br/1919485932614048>

Weveley Ferreira da Silva

Universidade Federal do Ceará - UFC/Campus Sobral, Laboratório de Microbiologia (FAMED), Avenida Comandante Maurocelio Rocha Pontes, 100 - Derby, Sobral - CE, 62042-280.
<http://lattes.cnpq.br/7393601404594049>

Marcela Paiva Bezerra

Universidade Federal do Ceará - UFC/Campus

RESUMO: Pacientes com diabetes *mellitus* representam um grupo único de indivíduos que parecem ser mais propensos a desenvolver infecções. Os problemas com os pés representam uma das mais importantes complicações crônicas desta doença. O risco de amputação de membros inferiores pode ser aumentado se a ulceração é seguida por infecções bacterianas associadas a infecções fúngicas. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi verificar a frequência e o perfil de sensibilidade de *Candida* spp. isoladas de úlceras dos pés de pacientes diabéticos. Foram coletadas 154 amostras de 77 pacientes, entre setembro de 2015 e setembro de 2016, no Hospital Regional Norte em Sobral – CE. Destes, 50,65% eram do gênero feminino e 49,35% do gênero masculino. Do total de pacientes, 59,74% foram diagnosticados com diabetes *mellitus* tipo 2, sendo hipertensão a comorbidade de maior prevalência. Além disso, 70,13% tinham amputação local ou generalizada. As espécies fúngicas que cresceram em cultivo foram identificadas através da metodologia micológica convencional. Espécies de *Candida* não *albicans* foram mais frequentes, sendo a maioria dos espécimes identificados como *C. tropicalis* (44,33%). Todas as isoladas de *C. albicans* foram consideradas sensíveis ao teste de sensibilidade, segundo a metodologia e referências do CLSI-M27A2. Foi preocupante a quantidade de óbitos dos pacientes relacionados ao pé diabético neste estudo (14,29%). Medidas preventivas e primárias devem ser tomadas para diminuir a elevada taxa de mortalidade em pacientes diabéticos com úlceras nos pés. O autocuidado é fator importante na prevenção de complicações em pés diabéticos e, para bom controle da doença, é preciso autogerenciamento efetivo. Portanto, esses resultados têm implicações importantes para a prevenção e reconhecimento sobre as infecções fúngicas no pé diabético e recomendamos que pacientes diabéticos com problemas nos pés devam ser examinados rotineiramente para avaliação micológica, pois os fungos possuem papel potencial na patogênese da ulceração.

PALAVRAS-CHAVE: Pé Diabético, Leveduras, *Candida* spp., Teste de Sensibilidade, *Candida albicans*.

FREQUENCY AND ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY OF *Candida* spp. ISOLATED FROM DIABETIC FOOT ULCERS

ABSTRACT: Diabetes mellitus patients represent a unique group of individuals who appear to be more likely to develop infections. Foot problems represent one of the most important chronic complications of this disease. The risk of lower limb amputation

may be increased if ulceration is followed by bacterial infections associated with fungal infections. Thus, the aim of this study was to verify the frequency and susceptibility profile of *Candida* spp. isolated from foot ulcers of diabetic patients. A total of 154 samples were collected from 77 patients between September 2015 and September 2016 at the Norte Regional Hospital in Sobral - CE. Of these, 50.65% were female and 49.35% male. Of the total patients, 59.74% were diagnosed with type 2 diabetes mellitus, with hypertension being the most prevalent comorbidity. In addition, 70.13% had local or generalized amputation. The fungal species that grew in cultivation were identified by conventional mycological methodology. Non-*albicans* *Candida* species were more frequent, with the majority of specimens identified as *C. tropicalis* (44.33%). All *C. albicans* isolates were considered sensitive to the sensitivity test according to CLSI-M27A2 methodology and references. The number of patients' deaths related to diabetic foot was worrying in this study (14.29%). Preventive and primary measures should be taken to decrease the high mortality rate in diabetic patients with foot ulcers. Self-care is an important factor in preventing complications in diabetic feet and effective self-management is required for good disease control. Therefore, these results have important implications for prevention and recognition of fungal infections in diabetic foot and we recommend that diabetic patients with foot problems should be routinely examined for mycological evaluation, as fungi play a potential role in the pathogenesis of ulceration.

KEYWORDS: Diabetic Foot, Yeasts, *Candida* spp., Susceptibility profile, *Candida albicans*.

1 | INTRODUÇÃO

Pacientes com diabetes representam um grupo único de indivíduos que parecem ser mais propensos a desenvolver infecções do que outros. O mecanismo pelo qual os microrganismos podem causar um atraso no processo de cicatrização não está completamente entendido. Uma das causas mais aceitas para este atraso é a produção de fatores de virulência por estes microrganismos, tais como proteínas aderentes, enzimas e toxinas. Além disso, alguns microrganismos, associados à doença vascular periférica, tornam-se mais virulentos em ambientes de alta glicose, ocasionando o chamado pé diabético (CARVALHO *et al.*, 2004; NAIR *et al.*, 2007; FATA *et al.*, 2010; HEFNI *et al.*, 2012).

O pé diabético é o resultado de uma diabetes descontrolada e falta de cuidados sanitários, que leva a lesões necróticas, osteomielite e, consequentemente, a amputação do membro afetado, causado pela neuropatia periférica, também conhecida como neuropatia diabética, quando acomete pacientes diabéticos, uma síndrome que acomete os nervos periféricos ocasionada pela glicemia aumentada de longa duração, levando à perda da sensação protetora. Esta perda, associada a

um ambiente de alta glicose, pode resultar em um aumento de infecções. O estado de hiperglicemia provoca um atraso no processo de quimiotaxia, fagocitose e apoptose das células polimorfonucleares, dificultando o aporte dessas células de defesa aos membros inferiores, agravando a doença vascular periférica (CARVALHO *et al.*, 2004; MLINARIC-MISSIONI *et al.*, 2005; CHELLAN *et al.*, 2010).

A patogênese do pé diabético é altamente complexa, incluindo polineuropatia, comprometimento da imunidade, cicatrização mais lenta de feridas, doença vascular periférica, trauma e infecção, sendo os três últimos citados o início do processo de ulceração. As ulcerações nos pés representam uma das mais importantes complicações crônicas do diabetes *mellitus* (CARVALHO *et al.*, 2004; FATA *et al.*, 2010; SIDRIM; ROCHA, 2012; CHADWICK, 2013; SINGH *et al.*, 2013).

As complicações associadas com o desenvolvimento da infecção e a síndrome do pé diabético são as principais causas de morbidade, hospitalização, amputações não traumáticas e mortalidade do paciente diabético. A ulceração, como consequência das infecções, é a causa mais comum de amputações. O risco de amputação de membros inferiores pode ser aumentado se a ulceração é seguida por infecções bacterianas, fúngicas e, em casos mais graves, sinergismo entre microrganismos. O sinergismo entre algumas espécies fúngicas, como espécies de *Candida* spp., com outros microrganismos, principalmente as enterobactérias, parecem aumentar o potencial patogênico e a habilidade de causar infecções em úlceras do pé diabético (CARVALHO *et al.*, 2004; MLINARIC-MISSIONI *et al.*, 2005; CHELLAN *et al.*, 2010; SIDRIM; ROCHA, 2012).

A bacteriologia das úlceras do pé diabético tem sido estudada por diversos pesquisadores, podendo ser de natureza monomicroiana ou polimicroiana, esta última ocorrendo na maioria dos pacientes e de natureza mais grave, tendo origem aeróbica e anaeróbica, as quais têm sido bem caracterizadas. As bactérias *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Escherichia coli* *Pseudomonas* spp. são os isolados aeróbicos mais comuns. Os anaeróbios *Bacteroides* spp. e *Peptostreptococcus* spp. são os isolados mais comuns em caso de necrose (CARVALHO *et al.*, 2004; MLINARIC-MISSIONI *et al.*, 2005; NAIR *et al.*, 2007; FATA *et al.*, 2010; CHELLAN *et al.*, 2010).

As infecções por fungos, associadas às infecções bacterianas, podem aumentar o risco de desenvolver a síndrome do pé diabético, entretanto, há escassez de relatos na literatura sobre a incidência de patógenos fúngicos em amostras de pé diabético. Poucos dados estão disponíveis em relação à incidência das infecções fúngicas nos pés de pacientes com diabetes, observando-se predomínio das leveduras. Entre os isolados leveduriformes, a predominância foi das espécies de *Candida* spp., seguido da espécie *Trichosporon* spp. Em relação às espécies de

Candida, C. albicans, C. parapsilosis, C. tropicalis, C. glabrata, C. guillermondi e C. krusei são as mais comumente encontradas em amostras de tecido profundo em pacientes diabéticos portadores de úlceras nos pés (MLINARIC-MISSIONI *et al.*, 2005; NAIR *et al.*, 2007; FATA *et al.*, 2010; CHELLAN *et al.*, 2010).

Em virtude de poucos relatos na literatura sobre a incidência de fungos nos membros inferiores, bem como da maioria dos relatos no pé diabético ser da incidência de bactérias, além de direcionar para uma terapia antimicrobiana racional, através da realização dos testes de sensibilidade, o presente estudo tem como objetivo descrever a frequência e o perfil de sensibilidade de *Candida* spp. isoladas de úlceras nos pés de pacientes diabéticos atendidos num hospital terciário da Zona Norte do Ceará.

2 | METODOLOGIA

O presente estudo foi desenvolvido no período de setembro de 2015 a setembro de 2016, sendo a coleta das amostras realizada no Centro Cirúrgico do Hospital Regional Norte (HRN) em Sobral - CE. A parte experimental da pesquisa, após a coleta das amostras, foi desenvolvida no Laboratório de Microbiologia e Parasitologia (LAMP) da Faculdade de Medicina (FAMED) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Para atender aos aspectos éticos da pesquisa envolvendo seres humanos e partindo da compreensão que para o desenvolvimento de estudos em saúde requer rigor metodológico e ético, este estudo foi orientado conforme a Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde (CNS), tendo sido submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará e obtido aprovação (Parecer Nº 1.219.760).

2.1 População Estudada

Os pacientes atendidos no referido hospital para manejo cirúrgico de úlceras relacionadas ao diabetes (tipo 1 e tipo 2), em um ou ambos os pés, foram incluídos nesse estudo. Foram excluídos pacientes em uso de antifúngicos pelo menos nas últimas 4 (quatro) semanas, ou que não deram seu consentimento ou do responsável legal.

2.2 Coleta e Transporte das Amostras

O procedimento realizado para a coleta da amostra foi através, primeiramente, da anestesia raquidiana (com bupivacaína 5 mg/mL + glicose 80 mg/mL, geralmente), seguido por lavagem com solução salina estéril 0,9 %, logo após isso, rigorosa

assepsia com solução degermante de clorexidina 2 % (geralmente) e, por fim, desbridamento do tecido necrosado superficial, para que, posteriormente, possam ser coletados os fragmentos de tecidos do pé diabético do paciente.

Os fragmentos coletados dos pacientes diabéticos com úlceras nos pés foram de diferentes tipos de tecidos tais como, tecido muscular, fragmento ósseo, medula óssea e tendão (0,5 x 0,5 cm de tamanho, aproximadamente), com instrumental cirúrgico estéril (lâmina de bisturi) e colocados em frascos plásticos estéreis com solução salina 0,9 %, em seguida, encaminhados, no prazo máximo de 24 horas, sob acondicionamento a frio, ao LAMP para processamento experimental.

2.3 Cultura Fúngica

Os fragmentos contidos em solução salina foram submetidos ao aparelho agitador tipo vortex para gerar uma suspensão da amostra biológica e, posteriormente, a amostra em suspensão, foi semeada diretamente com a alça microbiológica numa placa de Petri estéril, contendo o meio ágar Sabouraud com cloranfenicol, seletivo para crescimento fúngico. Estas foram incubadas à temperatura ambiente por até 02 (dois) dias. As culturas foram observadas diariamente para verificação do crescimento fúngico. Caso não houvesse crescimento fúngico em dois dias, a amostra seria descartada.

2.4 Isolamento e Identificação das Culturas

As espécies fúngicas que cresceram em cultivo seletivo foram identificadas através da metodologia micológica convencional. A colônia que cresceu foi transferida, com auxílio do garfo microbiológico, para tubos de ensaios contendo o meio inclinado de ágar batata dextrose, através de três cortes profundos e em paralelo no meio de cultura. Esperou-se o crescimento do (s) espécime (s) fúngico (s) por 02 (dois) dias no meio citado anteriormente. Caso a placa apresentasse mais de uma colônia leveduriforme diferente, cada colônia era transferida para um tubo separadamente. A detecção de fungos leveduriformes foi realizada com base na observação macroscópica de colônias brancas a levemente amareladas, lisas, glabrosas e mucoides.

Como o meio ágar batata dextrose não se configura como um meio seletivo, todas as amostras foram repicadas em tubos de ensaio contendo o meio inclinado de ágar Sabouraud com cloranfenicol.

2.5 Identificação das bactérias presentes em úlceras do pé diabético

Foram coletados os resultados das culturas, realizadas pelo laboratório terceirizado que presta serviços ao HRN, sobre a identificação das bactérias em

pacientes portadores de úlceras nos pés.

2.6 Teste de sensibilidade de *Candida albicans* aos antifúngicos

O teste de sensibilidade a antifúngicos foi realizado para as espécies de *Candida albicans* isoladas e identificadas neste estudo. As concentrações inibitórias mínimas (CIM) para *C. albicans* foram determinadas pelo método da microdiluição em caldo em placas estéreis de 96 poços, no formato em “U”, descrito pelo CLSI-M27A2 (2002). Os critérios de sensibilidade e resistência foram estabelecidos de acordo com o CLSI-M27A2 (2002) (QUADRO 01).

	SENSÍVEL ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	SENSIBILIDADE DOSE-DEPENDENTE ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RESISTENTE ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
ANFOTERICINA B	≤ 1	-	> 1
CETOCONAZOL	$\geq 0,03 \text{ e } \leq 16$	-	> 16
FLUCONAZOL	≤ 8	$\geq 16 \text{ e } \leq 32$	≥ 64
ITRACONAZOL	$\leq 0,125$	$\geq 0,25 \text{ e } \leq 0,5$	≥ 1

QUADRO 01 - Diretrizes de interpretação dos testes de sensibilidade *in vitro* das espécies de *Candida*.

Fonte: CLSI-M27A2 (2002).

Os testes foram realizados em duplicata, a fim de garantir maior confiabilidade dos resultados. As microplacas foram incubadas em estufa na temperatura 37°C e seus resultados observados após 24 horas.

2.7 Desfecho clínico dos pacientes

Os pacientes foram acompanhados periodicamente para descrever o desfecho clínico de cada um. Foram quantificados os pacientes que retornaram ao Centro Cirúrgico do HRN para a realização de novos procedimentos vasculares (desbridamentos e revascularizações). Quantificou-se também o número de pacientes que receberam alta hospitalar ou tiveram óbito relacionado ao pé diabético durante o período do estudo.

2.8 Análise Estatística dos Dados

Os dados coletados a partir do questionário estruturado foram inseridos e analisados em um banco de dados utilizando o programa computacional *Stata*® versão 12, um programa integrado, desenvolvido para uso por profissionais de saúde, usado para criar e analisar questionários de protocolos de pesquisa e aplicações em banco de dados e estatísticas gerais. Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) para verificar se houve significância estatística ($p < 0,05$) entre os dados obtidos

através do questionário aplicado.

3 | RESULTADOS

3.1 Informações clínicas sobre o paciente diabético portador de úlceras nos pés

No período de setembro de 2015 a setembro de 2016, foram coletadas 154 amostras, de tecidos diferentes (tecido muscular, fragmento ósseo, medula óssea e tendão), de 77 pacientes, sendo 39 (50,65 %) mulheres e 38 (49,35 %) homens, no Centro Cirúrgico do Hospital Regional Norte (HRN). Do total dos pacientes, (59,74 %) foram diagnosticados com diabetes *mellitus* tipo 2.

Os resultados das etapas de microcultivo e cromoágar realizados neste estudo demonstraram que as espécies de *Candida tropicalis*, foram mais prevalentes que *C. albicans* (Quadro 02).

ESPÉCIES DE <i>Candida</i>	QUANTIDADE DE AMOSTRAS (%)
<i>Candida albicans</i>	33 (34,02)
<i>Candida tropicalis</i>	43 (44,33)
<i>Candida parapsilosis</i>	20 (20,62)
<i>Candida krusei</i>	1 (1,03)

Quadro 02. Informações quantitativas dos resultados do microcultivo e cromoágar das espécies de *Candida* isoladas e identificadas neste estudo.

3.2 Identificação das bactérias presentes em úlceras do pé diabético

Dos 77 pacientes elencados para o presente estudo, foram realizadas 62 culturas pelo referido laboratório, sendo identificadas 155 espécies de microrganismos, dos quais 151 (97,41%) foram bactérias, havendo uma prevalência das Gram negativas (99/151 – 65,56 %) sobre as Gram positivas (52/151 – 34,44 %). As outras 04 amostras identificadas, pelo laboratório terceirizado, foram leveduras do gênero *Candida* spp., de 2 espécies diferentes, sendo três culturas de *C. tropicalis* e uma cultura de *C. albicans*, o resultado encontra-se no quadro 03.

Correlacionamos a presença de infecção bacteriana com a presença de infecção fúngica, e não observamos diferença significativa entre esses dois parâmetros analisados ($p > 0,05$).

ESPÉCIES DE BACTÉRIAS	QUANTIDADE DE AMOSTRAS (%)
GRAM NEGATIVAS	-
<i>P. aeruginosa</i>	21 (21,21)

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17 (17,17)
<i>Proteus mirabilis</i>	14 (14,14)
<i>Morganella morganii</i>	13 (13,13)
<i>E. coli</i>	13 (13,13)
<i>Acinetobacter baumanii</i>	7 (7,07)
<i>Enterobacter cloacae</i>	6 (6,06)
<i>Serratia</i> spp.	5 (5,05)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	2 (2,02)
<i>Citrobacter koseri</i>	1 (1,01)
GRAM POSITIVAS	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	22 (42,30)
<i>S. aureus</i>	24 (46,16)
<i>Streptococcus agalactiae</i> (grupo B)	(11,54)

Quadro 03– Informações quantitativas e percentuais da identificação das bactérias em úlceras do pé diabético.

O quadro 04 mostra as informações sobre o pé do paciente portador de diabetes. O diagnóstico do pé diabético é essencialmente clínico, baseado nas condições anatômicas do mesmo. Informações como a presença de edema (inchaço ou rubor), infecção (através da formação de pus) e áreas necrosadas são fundamentais para este diagnóstico. Foram incluídas como informações relacionadas aos pés de pacientes diabéticos: presença de edema, necrose e infecção, localizada ou generalizada, e amputação, tanto em nível dos pés (dedos e tecidos adjacentes), um pé ou ambos, e em nível da perna ou ambas as pernas, mostrando a gravidade do diabetes e suas complicações vasculares nos membros inferiores.

EDEMA	NECROSE	INFECÇÃO	AMPUTAÇÃO
NÃO – 33 (42,86 %)	NÃO – 02 (2,60 %)	NÃO – 02 (2,60 %)	NÃO – 23 (29,87 %)
SIM - 44 (57,14 %)	SIM – 75 (97,40 %)	SIM – 75 (97,40 %)	SIM – 54 (70,13 %)
DEDOS – 08 (18,18 %)	DEDOS – 14 (18,67 %)	DEDOS – 14 (18,67 %)	DEDOS – 23 (42,59 %)
PÉ – 23 (52,27 %)	PÉ – 44 (58,67 %)	PÉ – 44 (58,67 %)	PÉ – 13 (24,07 %)
AMBOS OS PÉS – 03 (6,82 %)	AMBOS OS PÉS – 03 (4,0 %)	AMBOS OS PÉS – 03 (4,0 %)	AMBOS OS PÉS – 02 (3,70 %)
PERNA – 08 (18,18 %)	PERNA – 13 (17,34 %)	PERNA – 13 (17,34 %)	PERNA – 12 (22,23 %)
AMBAS AS PERNAS – 02 (4,55 %)	AMBAS AS PERNAS – 01 (1,34 %)	AMBAS AS PERNAS – 01 (1,34 %)	AMBAS AS PERNAS – 04 (7,41 %)

Quadro 04 – Informações sobre o pé do paciente portador de diabetes.

3.3 Teste de sensibilidade de *Candida albicans* aos antifúngicos

Foi testada a sensibilidade de *C. albicans* frente aos antifúngicos anfotericina B, cetoconazol, fluconazol e o itraconazol. Embora tenhamos observado uma maior prevalência de *C. tropicalis* neste estudo, o teste de sensibilidade foi aplicado apenas para os isolados de *C. albicans*, devido estas serem mais estudadas que outras espécies de *Candida*. Os resultados do teste de sensibilidade aos antifúngicos para cepas de *C. albicans* isoladas e identificadas neste estudo estão descritas no quadro 05.

		CIM ($\mu\text{g/mL}$)			
<i>C. albicans</i>	ANFOTERICINA B	CETOCONAZOL	FLUCONAZOL	ITRACONAZOL	
	0,125 (1) ^a	0,03125 (5)	1 (6)	0,125 (6)	
		0,0078125 (11)	2 (8)	1 (6)	
	0,25 (5)	0,125 (4)	4 (7)	0,0625 (7)	
		0,015625 (3)	8 (2)		
	0,5 (14)	0,0039062 (7)	0,25 (2)	0,03125 (13)	
		0,25 (1)			
	1 (13)	0,0009765 (1)	0,5 (8)	0,5 (1)	
		0,0004883 (1)			
Cepa Padrão <i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	1 (1)	0,015625 (1)	16 (1)	0,125 (1)	

Quadro 05 - Concentração inibitória mínima (CIM) de Anfotericina B, Cetoconazol, Fluconazol, e Itraconazol, de *Candida albicans* isoladas de pacientes diabéticos.

^a número de isolados para a CIM indicada.

3.4 Desfecho clínico dos pacientes diabéticos portadores de úlceras nos pés

O quadro 06 mostra as informações sobre os exames de cultura, recidivas (desbridamentos), revascularizações, altas e óbitos dos pacientes portadores de diabetes.

Nesta pesquisa, dos 77 pacientes internados no Centro Cirúrgico do HRN, 62 exames de cultura foram realizados pelo hospital. Não foi encontrada uma justificativa plausível porque os outros 15 pacientes não foram solicitados exames de cultura, visto que, em todos eles tinham claro processo infeccioso e necrótico.

			DESFECHO CLÍNICO DO PACIENTE		
EXAMES DE CULTURA	DESBRIDAMENTOS	REVASCULARIZAÇÃO	ALTA	ÓBITO	NÃO INFORMADO
SIM – 62 (80, 52 %)	SIM – 75 (97,40 %)	SIM – 16 (20,78 %)	54 (70,13 %)	11 (14,29 %)	12 (15,58 %)
NÃO – 15 (19,48 %)	NÃO – 02 (2,60 %)	NÃO – 61 (79,22 %)			

Quadro 06 - Informações sobre os exames de cultura, recidivas, revascularizações, altas e óbitos dos pacientes portadores de diabetes.

Neste estudo, 75 (97,40 %) pacientes retornaram para sala de cirurgia para realização da cirurgia de desbridamento, sendo indicativo de falta de cuidados sanitários com os próprios pés (Quadro 06).

Em procedimentos de revascularização, o médico tenta aumentar o fluxo arterial na extremidade dos membros inferiores, onde este se encontra diminuído devido à doença vascular periférica, sendo uma medida de última escolha antes da amputação. Como pode ser observado no Quadro 06, em 16 pacientes (20,78 %), foi realizado o procedimento cirúrgico de revascularização.

Dos 77 pacientes elegíveis para o estudo, 54 (70,13 %) obtiveram alta hospitalar, 11 (14,29 %) foram a óbito, devido às complicações do pé diabético, e 12 (15,58 %) não continham a informação se alta ou óbito no prontuário (Quadro 06).

Correlacionamos a presença de infecção com os resultados dos exames de culturas dos pacientes do hospital; a realização de cirurgias de desbridamentos com a presença de infecção e a falta de controle glicêmico; a realização da cirurgia de revascularização com a presença de infecção e a falta de controle glicêmico; a alta hospitalar do paciente com a presença de infecção e a falta de controle glicêmico; o óbito do paciente com a presença de infecção e a falta de controle glicêmico, e não observamos diferença significativa entre esses parâmetros analisados ($p > 0,05$).

A falta de orientação e informações sobre o diabetes e suas complicações repercute diretamente na qualidade vida dos pacientes. No presente estudo, 35 pacientes (45,46 %) relataram que examinavam os pés diariamente, enquanto que 42 pacientes (54,54 %) não tinham esse hábito.

O autocuidado é fator fundamental na prevenção das complicações em pés diabéticos e, para bom controle da doença, é preciso autogerenciamento efetivo diário. Os profissionais da saúde devem conscientizar os pacientes de modo a modificar sua atitude quanto ao autocuidado e aderir às recomendações de como cuidar dos pés, visto que dessa forma reduz significativamente os casos de ulcerações e, consequentemente, as amputações.

Além disso, observou-se que 59,74 % e 54,54 % dos pacientes nunca receberam orientação para os cuidados ou fizeram autoexame diário dos pés, respectivamente; e 97,40 % tiveram suas feridas reinfectadas, sendo necessário realizar novos procedimentos vasculares.

4 | CONCLUSÃO

As infecções fúngicas dos pés em pessoas com diabetes não devem ser ignoradas, principalmente porque as espécies de *Candida* possuem potencial papel na patogênese da ulceração dos pés, e estas estavam presentes em todos os isolados fúngicos deste estudo, com maior prevalência da espécie *C. tropicalis*. Portanto, a avaliação clínica e laboratorial micológica, é extremamente necessária nos pacientes diabéticos portadores de úlceras nos pés.

Além disso, embora os isolados de *C. albicans* tenham se mostrado sensíveis aos antifúngicos testados neste estudo, não se pode negligenciar o uso racional desses medicamentos, afim de não sofrermos com a problemática da resistência antimicrobiana futura.

Ressaltamos ainda que as infecções nos pés de pacientes diabéticos requerem atenção cuidadosa e gestão coordenada por uma equipe multidisciplinar, reforçando ações preventivas e conscientizando os pacientes sobre a importância do controle glicêmico, uso de calçados adequados, prevenção de traumatismos e autoexame diário nos pés.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, C. B. M.; NETO, R. M.; ARAGÃO, L. P.; OLIVEIRA, M. M.; NOGUEIRA, M. B.; FORTI, A. C. Pé diabético: Análise Bacteriológica de 141 casos. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia & Metabologia**, v. 48, n.3, p. 203-210, 2004.

CHADWICK, P. Fungal infection of the diabetic foot: the often ignored complication. **Diabetic Foot Canada**, v. 1(2): n. 5, p. 20–24, 2013.

CHELLAN, G.; SHIVAPRAKASH, S.; RAMAIYAR, S. K.; VARMA, A. K.; VARMA, N.; SUKUMARAN, M. T.; VASUKUTTY, J. R.; BAL, A.; KUMAR, H. Spectrum and Prevalence of Fungi Infecting Deep Tissues of Lower-Limb Wounds in Patients with Type 2 Diabetes. **Journal of Clinical Microbiology**, v.48, n.6, p. 2097-2102, 2010.

FATA, S.; SAEED MODAGHEGH, M. H.; FAIZI, R.; NAJAFZADEH, M. J.; AFZALAGHAE, M.; GHASEMI, M.; MOHAMMADIAN, M.; NASERI, A.; MESHKAT, M.; FATA, A. Mycotic infections in diabetic foot ulcers in Emam Reza hospital, Mashhad, 2006-2008. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v.4, n.1, p.11-16, 2010.

HEFNI, A. A. H., IBRAHIM, A. M. R., ATTIA, K. M., MOAWAD, M. M., EL-RAMAH, A. F., SHAHIN, M. M., AL-MOLLA, M.; AL-SATAR, L. A. Bacteriological study of diabetic foot infection in Egypt. **Journal of the Arab Society for Medical Research**, v.2, p. 456-464, 2012.

MLINARIC-MISSIONI, E.; KALENIC, S.; VUKELIC, M.; SYO, D.; BELICZA, M.; VAZIC-BABIC, V. Candida infections of diabetic foot ulcers. **Diabetologia Croatica**; v. 34 n.1, p. 29-35, 2005.

NAIR, S.; PETER, S.; SASIDHARAN, A.; SISTLA, S.; UNNI, A. K. K. Incidence of mycotic infections in diabetic foot tissue. **Journal of Culture Collections**, v.5, n. 4, p. 85-89, 2007.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos**. 1^a Edição. Editora Guanabara Koogan, 2012.

SINGH S.; PAI D. R.; YUHHUI C. Diabetic Foot Ulcer – Diagnosis and Management. **Clinical Research on Foot & Ankle**, v. 1 n.3, p.100-120, 2013.

CULTIVO CELULAR COMO MÉTODO DE AVALIAÇÃO DA VIRULÊNCIA *IN VITRO* DE *Toxoplasma gondii*

Data de aceite: 14/02/2020

Data de Submissão: 30/01/2020

Mohara Bruna Franco Carvalho

Biomédica, Universidade Federal de Jataí, Jataí, Goiás, Brasil.

Murilo Barros Silveira

Biomédico, Especialista em Microbiologia, Mestrando em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Goiânia, Goiás.

Hânstter Hällison Alves Rezende

Biomédico, Doutor em Medicina Tropical e Saúde Pública, Docente do Curso de Biomedicina, Universidade Federal de Jataí, Goiás, Brasil.

RESUMO: O *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) é um protozoário intracelular obrigatório, de distribuição mundial que pode ser encontrado em uma grande variedade de hospedeiros vertebrados. Os camundongos são frequentemente usados como modelo experimental para determinar a virulência de *T. gondii*, pois os mesmos são sensíveis à infecção pelo parasito. A cultura de células se iniciou como um novo método de estudo para avaliar o comportamento de células animais *in vitro*. Portanto, o objetivo do presente estudo

é descrever os principais tipos de culturas de células como um método de avaliação de virulência *in vitro* do *T. gondii*. Trata-se de uma revisão bibliográfica através de artigos analisados no período de agosto a dezembro de 2018. Para a realização da pesquisa dos artigos nas bases de dados, utilizou-se descritores pesquisados em idiomas português e inglês: Cultivo *in vitro* *Toxoplasma gondii* e Culturas de célula virulência *Toxoplasma gondii* (*Cell culture virulence Toxoplasma gondii*). Foram incluídos artigos nos idiomas inglês e português, e artigos que relatassem de forma clara o efeito citopático causado pelo parasito em cultura celular (adesão, invasão e/ou lise celular). Muitos experimentos com o *T. gondii* inoculado em linhagens celulares são voltados para busca de novos tratamentos para a toxoplasmose, portanto a maioria dos trabalhos são realizados testando compostos farmacológicos. Sugere-se a realização de mais experimentos e estudos utilizando o cultivo celular como método alternativo ao uso de animais, pois além de ser de fácil manipulação, o cultivo celular oferece baixo risco de contaminação no momento de inocular as cepas em relação ao estudo *in vivo*.

PALAVRAS-CHAVE: *Toxoplasma gondii*; Toxoplasmose; Técnicas de cultivo de células.

CELL CULTIVATION AS THE METHOD OF EVALUATING IN VIRULENCE *IN VITRO* OF *Toxoplasma gondii*

ABSTRACT: *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) is a mandatory intracellular protozoan, with worldwide distribution that can be found in a wide variety of vertebrate hosts. Mice are often used as an experimental model to determine the virulence of *T. gondii*, as they are sensitive to infection by the parasite. Cell culture started as a new study method to evaluate the behavior of animal cells in vitro. Therefore, the aim of the present study is to describe the main types of cell cultures as a method of evaluating the in vitro virulence of *T. gondii*. This is a bibliographic review through articles analyzed from August to December 2018. For the search of articles in the databases, descriptors used in Portuguese and English were used: In vitro cultivation *Toxoplasma gondii* and Cultures cell virulence *Toxoplasma gondii* (Cell culture virulence *Toxoplasma gondii*). Articles in English and Portuguese were included, and articles that clearly reported the cytopathic effect caused by the parasite in cell culture (adhesion, invasion and / or cell lysis). Many experiments with *T. gondii* inoculated in cell lines are aimed at finding new treatments for toxoplasmosis, so most of the work is done by testing pharmacological compounds. It is suggested to carry out further experiments and studies using cell culture as an alternative method to the use of animals, because besides being easy to handle, cell culture offers low risk of contamination when inoculating strains in relation to in vivo study.

KEYWORDS: *Toxoplasma gondii*; Toxoplasmosis; Cell cultivation techniques.

1 | INTRODUÇÃO

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório, de distribuição mundial que pode ser encontrado em uma grande variedade de hospedeiros vertebrados. Este parasita é o agente etiológico da toxoplasmose, uma protozoonose cosmopolita que em humanos a transmissão pode ocorrer através da ingestão de água e/ou alimentos contaminados com oocistos esporulados presentes no meio ambiente, ingestão carnes cruas ou malcozidas contendo cistos teciduais, ingestão de leite contaminado com taquizoítos, e por transmissão congênita na qual pode levar ao aborto (VAZ, 2006; REZENDE, 2018).

O diagnóstico laboratorial da toxoplasmose, pode ser feita através de sorologias como pesquisa de anticorpos IgG e IgM anti-*Toxoplasma gondii*, diagnóstico parasitológico através do sangue e outros fluídos corporais e através de técnicas de biologia molecular. O *T. gondii* apresenta fatores de virulência que são propriedades que geram uma perturbação da homeostase, que incluem adesão e invasão nas células do hospedeiro como a capacidade de evasão do sistema imune, o que favorece o protozoário estabelecer a infecção (DUBEY, 2008; REZENDE, 2018).

Os camundongos são frequentemente usados como modelo experimental para determinar a virulência de *T. gondii*, pois os mesmos são sensíveis à infecção pelo parasito (REZENDE, 2018). A cultura de células se iniciou como um novo método de estudo para avaliar o comportamento de células animais *in vitro*. Existem vários tipos de culturas de células como cultura de células primárias, linhagem celular contínua e cultura de células transformadas. O cultivo celular é um considerado bom recurso para pesquisas de diversas áreas, pois são modelos biológicos simples quando comparados com a utilização de animais de experimentação tais como os camundongos, inclusive para análise de virulência parasitária (PENG, 2011; VAZ, 2006). Portanto, o objetivo do presente estudo é descrever os principais tipos de culturas de células como um método de avaliação de virulência *in vitro* do *T. gondii*.

2 | METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão bibliográfica através de artigos analisados no período de agosto a dezembro de 2018. A base de dados utilizada foi o PubMed (Public Medline). Para a realização da pesquisa dos artigos nas bases de dados, utilizou-se descritores pesquisados em idiomas português e inglês: Cultivo *in vitro* *Toxoplasma gondii* e Culturas de célula virulência *Toxoplasma gondii* (*Cell culture virulence Toxoplasma gondii*). Foram incluídos artigos nos idiomas inglês e português, e artigos que relatassem de forma clara o efeito citopático causado pelo parasito em cultura celular (adesão, invasão e/ou lise celular).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A linhagem de células Vero são provenientes de rins de macaco-verde africano e possui padrão de crescimento característico na cultura. Em condições de estresse nutricional essa linhagem celular pode sofrer transformações irreversíveis em seu crescimento, síntese proteica e adesão. As células Vero são utilizadas como objeto de estudo por serem uma linhagem internacionalmente recomendada para estudos de citotoxicidade (FERREIRA et al., 2016). Alguns pesquisadores já realizaram estudos utilizando as células Vero para avaliar a virulência do *T. gondii* e obtiveram bons resultados com tais avaliações de interação célula/parasito, demonstrando o efeito citopático (Figura 1a) (VAZ, 2006).

A linhagem de células HeLa são derivadas de um adenocarcinoma cervical, conhecida popularmente como “célula imortal”, devido a sua durabilidade e capacidade de se dividir em um número ilimitado em placa de cultura sob condições adequadas para sobrevivência sem estar sob condições de estresse nutricional (SALIMI et al., 2016). Segundo Salimi (2016) e colaboradores, realizaram um

estudo onde induziram a conversão de taquizoítos da cepa RH considerada de alta virulência em bradizoítos no meio de cultura de células HeLa com mudança de pH, notaram que cerca de quatro dias após a invasão dos taquizoítos nas células, era possível observar estruturas semelhantes a cistos no microscópio, concluíram que a alcalinização do meio induziu a essa conversão, além de observarem invasão do parasito nas células, e a utilização da maquinaria celular para formação dos cistos (Figura 1b).

A linhagem de células BeWo é derivada de coriocarcinoma humano, um tumor trofoblástico gestacional (OLIVEIRA et al., 2006). Esta linhagem oferece uma alternativa no sistema de cultura devido ser estável e de fácil manutenção. De acordo com Oliveira (2006) e colaboradores realizaram um estudo utilizando a linhagem celular BeWo com a finalidade de investigar a capacidade da cepa RH considerada de alta virulência em invadir e crescer no interior das células, mesmo que este estudo foi realizado avaliando um composto farmacológico, foi relatado a capacidade de invasão do parasito antes de adicionar o composto na cultura de células, portanto foi avaliado a capacidade de virulência da cepa RH na linhagem celular BeWo, onde observou-se que o parasito foi capaz de se aderir e invadir as células, portanto avaliou-se indiretamente a virulência do mesmo em cultivo celular (Figura 1c).

A linhagem celular THP-1 são derivados a partir de blastos do sangue. É uma linhagem amplamente usada como modelo experimental em estudos *in vitro*, principalmente na busca de novos tratamentos para leucemia mielóide aguda, mas também pode ser utilizada para estudos com intuito de verificar a capacidade de disseminação do *T. gondii* em cultivo celular, porém apenas um estudo foi encontrado que avaliasse a capacidade do parasito em invadir essa linhagem celular (Figura 1d) (CUÉLLAR et al., 2012).

A linhagem celular RAW 264.7 é **oriunda** de camundongos BALB/c, machos adultos, a partir de tumor ascítico induzido pelo vírus da leucemia murina, sendo uma linhagem de macrófagos aderentes (OLIVEIRA et al., 2016). No estudo de Oliveira (2016) e colaboradores, analisou-se o efeito citopático provocado pelo *T. gondii* em células RAW 264.7. Um dos seus objetivos foi determinar o padrão de patogenicidade de dois isolados de galinhas de matadouros *in vitro*. Concluindo que a infecção da linhagem celular pelos isolados foi bem-sucedida, onde observou-se interação do parasito com as células (Figura 1e).

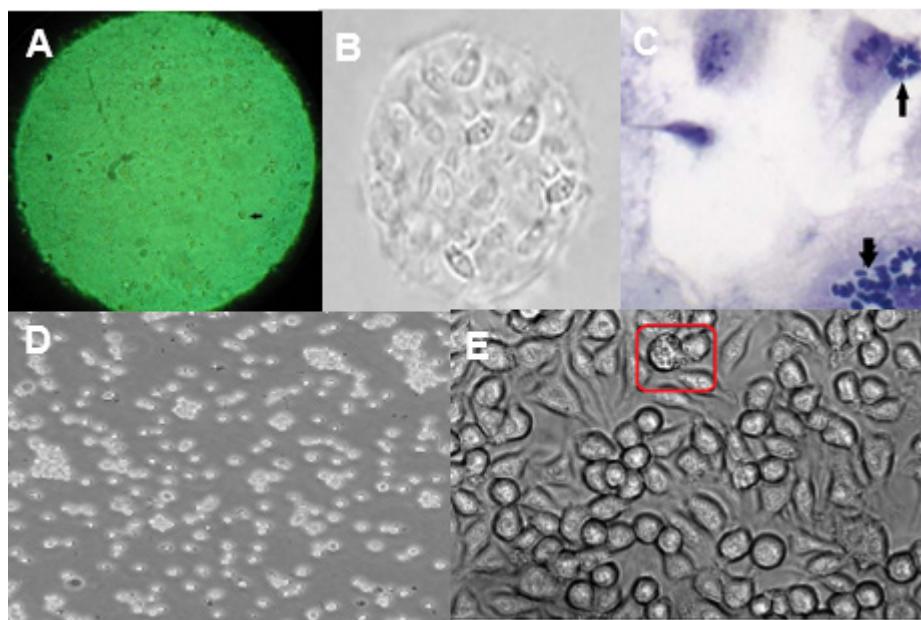


Figura 1: Cultivo Celular de *Toxoplasma gondii* em linhagens de células: (A) Células Vero. (B) Células HeLa. (C) Células BeWo. (D) Células THP-1. (E) Células Raw 264.7.

4 | CONCLUSÃO

É possível observar que a maioria dos estudos não são totalmente voltados para análise da virulência do parasito. Mesmo sabendo que a cultura de células é uma boa alternativa para a substituição dos animais de experimentação, os estudos para este fim ainda são realizados *in vivo* principalmente em camundongos, sendo a técnica de bioensaio uma das mais utilizadas.

Os estudos analisados não seguem uma mesma linha metodológica quanto à avaliação da virulência do *T. gondii* em culturas de células. Muitos experimentos com o *T. gondii* inoculado em linhagens celulares são voltados para busca de novos tratamentos para a toxoplasmose, portanto a maioria dos trabalhos são realizados testando compostos farmacológicos. Sugere-se a realização de mais experimentos e estudos utilizando o cultivo celular como método alternativo ao uso de animais, pois além de ser de fácil manipulação, o cultivo celular oferece baixo risco de contaminação no momento de inocular as cepas em relação ao estudo *in vivo*.

REFERÊNCIAS

CUÉLLAR, J. A.; HERNÁNDEZ, A.; VILLEGAS, E.; GÓMEZ, J. E. Efficiency of in vitro culture of *Toxoplasma gondii* in THP1 and Vero cell lines. **Biomédica**. v. 32, n. 3, p. 461-466, 2012.

DUBEY, J. P. The history of *Toxoplasma gondii*-the first 100 years. **The Journal of eukaryotic microbiology**. v. 55, n. 6, p. 467–75, 2008.

FERREIRA, B. L. S.; SILVA, D. T.; PITUCO, E. M.; RIBEIRO, P. C.; OKUDA, L. H.; VITÓRIA, C.; FANTOJA, J. C. F. Associação da ocorrência do ectíma contagioso (ORF vírus) em ovinos com os

cuidadores desses animais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** v. 68, n. 6, p. 1523-1530, 2016.

OLIVEIRA, C.; MEURER, Y. S. R.; ANDRADE, J. M. A.; COSTA, E. S. M. M.; SILVA, L. A.; et al. Pathogenicity and phenotypic sulfadiazine resistance of *Toxoplasma gondii* isolates obtained from livestock in northeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.** v. 111, n. 6, p. 391-398, 2016.

OLIVEIRA, J. G.; SILVA, N. M.; SANTOS, A. A.; SOUZA, M. A.; FERREIRA, G. L.; FERRO, E. A. BeWo trophoblasts are unable to control replication of *Toxoplasma gondii*, even in the presence of exogenous IFN- γ . **Placenta.** v. 27, n. 6-7, p. 691-698, 2006.

PENG, H.; CHEN, X.; LINDSAY, D. S. A Review: Competence, Compromise, and Concomitance—Reaction of the Host Cell To *Toxoplasma gondii* Infection and Development. **Journal of Parasitology.** v. 97, n. 4, p. 620-628, 2011.

REZENDE, H. H. A. **Epidemiologia molecular de isolados de *Toxoplasma gondii* na região metropolitana de Goiânia, Goiás, Brasil.** 2018. Universidade Federal de Goiás, 2018.

SALIMI, M.; KESHAVARZ, H.; MOHEBAL, M. Cyst formation from virulent RH strain of *Toxoplasma gondii* Tachyzoite: in vitro cultivation. **Iranian journal of parasitology.** v. 11, n. 1, p. 81, 2016.

VAZ, R. S. Diagnóstico sorológico, isolamento e caracterização molecular de *Toxoplasma gondii* (Nicole & Manceaux, 1909) em mulheres gestantes atendidas pelo serviço público na cidade de Curitiba. 2006. Universidade Federal do Paraná, 2006.

INIBIÇÃO DE BACTÉRIAS PATOGÊNICAS POR EXTRATO CONTENDO PRODUTOS DO METABOLISMO DE *LACTOBACILLUS REUTERI* E APLICAÇÃO EM IOGURTE

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 02/12/2019

Diana Melina Jované Garuz

Escuela Agrícola Panamericana Zamorano,
Departamento de Agroindustria Alimentaria
San Antonio de Oriente – Francisco Morazan,
Honduras.

Carolina Saori Ishii Mauro

Universidade Estadual de Londrina,
Departamento de Ciência e Tecnologia de
Alimentos
Londrina – Paraná.

<http://lattes.cnpq.br/3698870933676494>

Maria Thereza Carlos Fernandes

Universidade Estadual de Londrina, Departamento
de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Londrina – Paraná.

<http://lattes.cnpq.br/7471216955960860>

Fernanda Silva Farinazzo

Universidade Estadual de Londrina, Departamento
de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Londrina – Paraná.

<http://lattes.cnpq.br/5121162506247215>

Juliana Morilha Basso

Universidade Estadual de Londrina, Departamento
de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Londrina – Paraná.

<http://lattes.cnpq.br/1611642099481130>

Rayssa da Rocha Amancio

Universidade Estadual de Londrina, Departamento
de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Londrina – Paraná.

<http://lattes.cnpq.br/8302159046491172>

Débora Pinhatari Ferreira

Universidade Estadual de Londrina, Departamento
de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Londrina – Paraná.

<http://lattes.cnpq.br/3394235885043096>

Adriana Aparecida Bosso Tomal

Universidade Estadual de Londrina, Departamento
de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Londrina – Paraná.

<http://lattes.cnpq.br/1258039293440639>

Sandra Garcia

Universidade Estadual de Londrina, Departamento
de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Londrina – Paraná.

<http://lattes.cnpq.br/6040080684084312>

RESUMO: *Lactobacillus reuteri* é capaz de inibir bactérias patogênicas, com a ação atribuída a diferentes mecanismos, como a produção de ácido lático e reuterina. O objetivo deste estudo foi verificar a ação inibitória dos metabólitos produzidos por *L. reuteri* LR 92 sobre o crescimento in vitro de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp e *Staphylococcus aureus*. Além

disso, avaliar a capacidade inibitória destes metabólitos contra *S. aureus* em iogurte natural após 24 h de armazenamento refrigerado. Foram utilizados dois tratamentos: extrato bruto (EB) e extrato concentrado (EC), obtidos através da fermentação de *L. reuteri* em caldo MRS, sob anaerobiose com 200 mM de glicerol. Análises de reuterina, pH e a acidez titulável foram realizadas. Os ensaios de inibição foram realizados por difusão em ágar BHI pela técnica de poços. No ensaio de difusão em ágar, o tratamento EB não apresentou halos de inibição contra as bactérias patogênicas testadas. Em contraste, os resultados do tratamento EC mostraram diâmetros da zona de inibição de $18,7 \pm 0,6$ mm, $21,0 \pm 1,0$ mm e $19,3 \pm 1,2$ mm para *E. coli*, *Salmonella* spp. e *S. aureus*, respectivamente. A quantificação de reuterina foi $0,23 \pm 0,03$ mM e $2,76 \pm 0,30$ mM para EB e EC, respectivamente. A acidez titulável foi de $2,00 \pm 0,10\%$ para EB e $11,45 \pm 0,21\%$ para EC. Os valores de pH foram $4,16 \pm 0,10$ e $4,51 \pm 0,09$ para EB e EC, respectivamente. Na análise de capacidade inibitória em iogurte, a viabilidade do patógeno foi determinada no tempo 0 e 24 h de armazenamento a 4°C e os ensaios foram feitos com 2 tratamentos: EC e controle (caldo MRS). Houve redução significativa na viabilidade de *S. aureus* no tratamento EC comparado ao controle, com diminuição de 0,86 log UFC/mL. Portanto, o extrato obtido pode ter uma atividade antimicrobiana quando concentrado, tanto *in vitro* como quando aplicado em iogurte natural.

PALAVRAS-CHAVE: Bactéria ácido-láctica; difusão em ágar; inibição de patógeno; microrganismo patogênico; reuterina.

INHIBITION OF PATHOGENIC BACTERIA BY EXTRACT CONTAINING METABOLISM PRODUCTS OF *LACTOBACILLUS REUTERI* AND ITS APPLICATION IN YOGURT

ABSTRACT: *Lactobacillus reuteri* can inhibit pathogenic bacteria, with its action attributed to different mechanisms, such as the production of lactic acid and reuterin. The objective of this study was to verify the inhibitory action of metabolites produced by *L. reuteri* LR 92 on the *in vitro* growth of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp and *Staphylococcus aureus*. In addition, to evaluate the inhibitory capacity of these metabolites against *S. aureus* in natural yogurt after 24 h of refrigerated storage. Two treatments were used: crude extract (EB) and concentrated extract (EC), obtained by fermentation of *L. reuteri* in MRS broth, under anaerobiosis with 200 mM glycerol. Reuterin, pH and titratable acidity analysis were performed. Inhibition assays were performed by well diffusion using agar BHI. In the agar diffusion assay, the EB treatment showed no inhibition halos against the pathogenic bacteria tested. In contrast, EC treatment results showed inhibition zone diameters of 18.7 ± 0.6 mm, 21.0 ± 1.0 mm and 19.3 ± 1.2 mm for *E. coli*, *Salmonella* spp. and *S. aureus*, respectively. The reuterin quantification was 0.23 ± 0.03 mM and 2.76 ± 0.30 mM for EB and EC, respectively. The titratable acidity was $2.00 \pm 0.10\%$ for EB and $11.45 \pm 0.21\%$ for EC. The pH values were

4.16 \pm 0.10 and 4.51 \pm 0.09 for EB and EC, respectively. In the inhibitory capacity assay in yogurt, the pathogen viability was determined at time 0 and 24h after storage at 4 °C and the tests were conducted with 2 treatments: EC and control (MRS broth). There was a significant reduction in *S. aureus* viability with the EC treatment compared to the control, with a decrease of 0.86 log CFU/mL. Therefore, the extract developed may have antimicrobial activity when concentrated, both *in vitro* and when applied to natural yogurt.

KEYWORDS: Lactic acid bacteria; agar diffusion; pathogen inhibition; pathogenic microorganism; reuterin.

1 | INTRODUÇÃO

Os consumidores estão cada vez mais exigentes quanto ao risco que constitui a presença microrganismos patogênicos nos alimentos. Esta preocupação, em conjunto com a demanda crescente de alimentos industrializados com vida de prateleira prolongada, tem intensificado as pesquisas para o desenvolvimento de conservantes eficazes e naturais (BALCIUNAS et al., 2013). Uma promissora alternativa é a utilização de bactérias ácido-láticas (BAL), pois estas demonstram grande potencial através dos agentes bio-conservantes, mantendo alta qualidade e segurança (SCHMIDT et al., 2018).

Lactobacillus reuteri são BAL Gram-positivas, heterofermentativas (produzem além de ácido lático, etanol e CO₂), anaeróbias facultativas ou aerotolerantes, e utilizam diferentes fontes de carbono e energia para a fermentação. *L. reuteri* possui também a capacidade de exercer efeito inibitório sobre microrganismos patogênicos (HAMMES; HERTEL, 2006). Esta capacidade é atribuída a uma combinação de diversos mecanismos, principalmente pela produção de ácidos orgânicos como o ácido lático, peróxido de hidrogênio e reuterina (β -hydroxypropionaldeido; 3-HPA).

Os ácidos orgânicos são os conservadores mais relatados em estudos. São produzidos a partir da fermentação de BAL em matrizes de origem alimentar e, por isso, são os mais encontrados. O efeito antimicrobiano é atribuído ao baixo pH, menor que o apropriado para a maioria dos microrganismos contaminantes (JAY, 2005).

A reuterina é um antimicrobiano produzido por *L. reuteri* em condições de anaerobiose e na presença de excesso de glicerol. Este composto inibe o crescimento de muitas espécies Gram-positivas e Gram-negativas, como *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Clostridium* e também leveduras, bolores e protozoários (TALARICO; DOBROGOSZ, 1989). Devido ao seu amplo espectro de ação tem sido proposta para melhorar a segurança e a qualidade dos alimentos, reduzindo a adição de conservantes químicos (VOLLENWEIDER et al.,

2003).

Dentre o gênero *Staphylococcus*, *S. aureus* é a espécie contaminante de maior prevalência em leite e produtos lácteos. A presença deste microrganismo e suas toxinas em alimentos está frequentemente associada a surtos de intoxicação alimentar. As vias de contaminação podem ser a matéria prima (leite), o manipulador e o ambiente de processamento (BORGES et al., 2008). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar se os metabólitos produzidos por *L. reuteri* LR 92 podem inibir o crescimento *in vitro* de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp e *Staphylococcus aureus*. Além disso, avaliar a capacidade inibitória destes metabólitos contra *S. aureus* em iogurte natural após 24 h de armazenamento refrigerado.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Microrganismos e Determinações microbiológicas

Foram utilizadas as linhagens: *Lactobacillus reuteri* LR 92 (Sacco®, DSM 26866), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* spp. ATCC 13076 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (banco de culturas da Universidade Estadual de Londrina). As culturas patogênicas foram ativadas em caldo BHI. Para a contagem de *S. aureus*, foi realizada semeadura por superfície em ágar Baird Parker e incubação das placas a 37 °C por 48 horas. Os resultados foram expressos em log de unidades formadoras de colônia por mL (log UFC/mL).

2.2 Preparo do Extrato Bruto (EB) e Extrato Concentrado (EC)

Para produção do inóculo, 0,1% (m/v) do pó liofilizado contendo *L. reuteri* foi dissolvido em caldo MRS (Man, Rogosa e Sharpe) contendo 20% (v/v) de glicerol estéril. Foram feitas duas ativações a 37 °C por 24 horas em condições anaeróbias, para promover adaptação da bactéria e padronização do inóculo. A partir da cultura pré-ativada, 10 mL foram transferidos para um frasco contendo 50 mL de caldo MRS com 200 mM de glicerol e incubados a 37 °C por 24 horas em jarra com gerador de anaerobiose Anaerogen® (Silva et al. 2010). O fermentado obtido foi centrifugado (Eppendorf, 5804R) a 6300 x g, durante 10 minutos a 28 °C. O sobrenadante foi denominado EB e uma parte deste foi submetida a rotaevaporador a 50 °C até ser concentrado 10 vezes para obter EC.

2.3 Ensaios de inibição por difusão em ágar

Os ensaios de inibição em meio sólido foram realizados através do Método de Difusão em Ágar pela técnica de poços em ágar BHI, com diâmetros fixados e padronizados. Nos poços foram adicionados 50 µL de cada um dos tratamentos:

EB, EC, antimicrobiano gentamicina (controle positivo) ou caldo de MRS (controle negativo). Cada ensaio foi feito em triplicata e, após o período de incubação, procedeu-se a leitura e interpretação dos resultados, através da medida do diâmetro da zona de inibição da linhagem indicadora com paquímetro.

2.4 Análise da viabilidade de *S. aureus* em iogurte

O teste foi realizado em iogurte natural desnatado (Batavo®) para verificar a influência do tratamento EC na viabilidade celular do patógeno *S. aureus*. Os ensaios foram feitos com 2 tratamentos: EC e controle negativo, que consistiu em caldo MRS concentrado 10 vezes. Este controle negativo foi necessário para verificar se o meio de cultura exerceu influência na viabilidade de *S. aureus*. O tratamento EC e o caldo MRS concentrado foram filtrados em membrana de 0,22 µm previamente à análise, para evitar contaminação por microrganismos. O teste foi realizado em tubos falcon de 50 mL. A uma massa de 25 g de iogurte natural foram adicionados 3 mL da amostra EC ou controle e 1 mL de solução salina contendo *S. aureus* com viabilidade de 10^5 UFC/mL. O material foi homogeneizado e os ensaios foram conduzidos em triplicata. A viabilidade do patógeno foi determinada no tempo 0 e 24 h de armazenamento a 4 °C, temperatura comum de armazenagem do produto em geladeira.

2.5 Análise de reuterina

A análise de reuterina de EB e EC foi realizada de acordo com o método fotométrico descrito por TOBAJAS et al. (2007), em triplicata. O reagente acroleína, um análogo molecular da reuterina, foi utilizado como padrão para calibração em tampão fosfato 50 mM com pH 7,5. O volume de 1 mL da amostra foi adicionado a 0,75 mL de triptofano 10 mM dissolvido em 0,05 N HCl. Após adição de 3mL de HCl 37%, a mistura foi incubada a 37 °C por 20 minutos e a absorbância foi medida a 560 nm. A partir de uma resposta linear da acroleína em tampão fosfato (curva padrão obtida entre as concentrações 0,05 a 6 mM), foi possível a quantificação molar da reuterina. O resultado foi apresentado em milimolar (mM) de reuterina.

2.6 Determinação do pH e acidez titulável

A determinação de pH foi realizada por pHmetro digital (AOAC, 2006). As medidas de acidez foram feitas por titulação com uma solução de NaOH 0,1 M (AOAC, 2006), em triplicata. O resultado foi expresso em porcentagem do ácido predominante na amostra (% (m/v) de ácido lático).

2.7 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata sendo aplicada a Análise de

Variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p < 0,05$), para comparação de médias ao nível de 5% de significância. Os procedimentos estatísticos foram realizados com o auxílio do software Statistica 8. Os resultados encontram-se expressos em média \pm desvio padrão.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de caracterização do extrato bruto e extrato concentrado quanto ao valor de pH, acidez titulável e teor de reuterina estão apresentados na Tabela 1. Pode-se observar que EC apresentou teores maiores de todos os parâmetros analisados devido à retirada de água da amostra e concentração deste extrato.

Tratamento	pH	Acidez titulável (% (m/v) de ácido lático)	Reuterina (mM)
EB	$4,16^B \pm 0,10$	$2,00^B \pm 0,10$	$0,23^B \pm 0,03$
EC	$4,51^A \pm 0,09$	$11,45^A \pm 0,21$	$2,76^A \pm 0,30$

Tabela 1. Resultados de reuterina, acidez titulável e pH do extrato bruto (EB) e extrato concentrado (EC).

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna, de acordo com ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$).

O teor de reuterina encontrado foi menor que o descrito por Schmidt e colaboradores (2018) que encontraram após 24 horas de fermentação resultados entre $0,9 \pm 0,2$ a $1,3 \pm 0,2$ mM de reuterina produzida em meio MRS, utilizando glicerol 250 mM e 500 mM, respectivamente. O teor de glicose do meio utilizado foi similar ao descrito neste trabalho. Esta diferença pode ser justificada devido às diferentes concentrações de glicerol empregada nos estudos. Segundo Vu e colaboradores (2017), os tempos de incubação e a concentrações de glicerol afetam diretamente a produção de reuterina. Em uma concentração fixa de bactérias, um maior tempo de incubação e baixa concentração de glicerol causaram queda na produção de reuterina.

A Tabela 2 mostra o resultado do teste de inibição *in vitro* utilizando as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*. O tratamento EB não apresentou halo de inibição neste teste, provavelmente porque os compostos com capacidade antimicrobiana estavam em pouca quantidade.

Linhagens	Zona de inibição (mm)			
	EB	EC	Controle positivo	Controle negativo
<i>S. aureus</i>	-	19,3 ^{Ab} ±0,12	22,0 ^{Ba} ±0,03	-
<i>Salmonella</i> sp.	-	21,0 ^{Ab} ±0,10	23,0 ^{Aa} ±0,03	-
<i>E. coli</i>	-	18,7 ^{Aa} ±0,06	19,0 ^{Ca} ±0,03	-

Tabela 2. Resultados do teste de inibição contra *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*. EB: extrato bruto, EC: extrato concentrado, controle positivo: gentamicina, controle negativo: caldo MRS.

Dados apresentam o diâmetro do halo de inibição determinado por três medidas; *Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na coluna e minúscula na linha, de acordo com ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$).

No tratamento EC, o diâmetro médio da zona de inibição variou de 18,7 a 21,0 mm e não apresentou diferença significativa entre as bactérias patogênicas testadas. De acordo com Arqués et al. (2011), a reuterina tem um maior efeito contra bactérias Gram-negativas, como por exemplo, *E. coli* e *Salmonella* sp., comparado ao efeito contra bactérias Gram-positivas, como *S. aureus*. Entretanto, este efeito não foi observado devido à quantidade de reuterina presente e outros compostos inibitórios produzidos por *L. reuteri*, nas condições testadas. Silva e colaboradores (2010) ao testarem o efeito antimicrobiano do extrato de *L. reuteri* ATCC 1428 em MRS, também obtiveram inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, porém *Salmonella enterica* não foi sensível ao extrato utilizado.

Tendo em vista os resultados obtidos, prosseguiu-se a aplicação do extrato EC em iogurte para testar o efeito inibitório dos produtos da fermentação de *L. reuteri* em uma matriz contaminada pelo patógeno *S. aureus*. A Tabela 3 mostra os resultados da viabilidade de *S. aureus* em iogurte natural desnatado após 24 h de armazenamento refrigerado. A contagem inicial do patógeno no tratamento EC e no controle não diferiram entre si no tempo 0 h. Desta forma, a viabilidade pode ser comparada ao final de 24 h de armazenamento.

Tratamento	<i>S. aureus</i> (log UFC/mL)	
	0 h	24 h
EC	4,42 ^{Aa} ±0,07	3,56 ^{Bb} ±0,08
Controle	4,46 ^{Aa} ±0,14	3,99 ^{Ab} ±0,04

Tabela 3. Contagem de *S. aureus* em iogurte natural no tempo 0 h e após 24 horas de armazenamento a 4 ° C.

*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na coluna e minúscula na linha, de acordo com ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$).

Houve uma redução logarítmica significativa na contagem de *S. aureus* em

ambos os tratamentos após 24 h de armazenamento refrigerado. O tratamento EC teve diminuição de 0,86 log UFC/mL, enquanto o tratamento controle apresentou diminuição de 0,47 log UFC/mL. Desse modo, o tratamento EC apresentou maior diminuição comparada ao controle ($p<0,05$). Estes resultados indicam que EC apresenta metabólitos de *L. reuteri* que são capazes de inibir o patógeno *S. aureus*, nas condições testadas.

Arqués et al. (2011) investigaram o efeito combinado de reuterina e bacteriocinas na inativação de patógenos de origem alimentar no leite. O leite controle, que não continha bacteriocinas, apresentou contagem de *S. aureus* igual a 4,01 log UFC/mL no tempo 0 h e 3,83 log UFC/mL após 24 h, indicando uma diminuição da viabilidade do patógeno. Os tratamentos contendo reuterina, nisinina e suas combinações não apresentaram diferença significativa na contagem de *S. aureus* após 24 horas, quando comparados ao controle. Contudo, na temperatura de 8 °C a nisinina aumentou a atividade antimicrobiana da reuterina contra *S. aureus*. Com isso, os autores encontraram um sinergismo na atividade dos antimicrobianos em temperaturas de refrigeração, onde os patógenos estão inativados.

Como já demonstrado, o extrato concentrado utilizado no presente trabalho possui substâncias com efeitos antimicrobianos, tais como ácidos orgânicos e reuterina (Tabela 1). Além disso, o baixo pH do iogurte durante as 24 h de refrigeração também pode ter contribuído para a diminuição da contagem de *S. aureus*. A capacidade de bactérias lácticas produzirem rapidamente grande quantidade de ácidos, redução concomitante do pH e produção de outros metabólitos, como o peróxido de hidrogênio e o diacetil, também podem contribuir para a potencial ação antimicrobiana e preservativa geral desses produtos (LINDGREN; DOBRAGOSZ, 1990).

Para promover um maior entendimento sobre os efeitos de cada substância antimicrobiana, estas devem ser investigadas isoladamente em testes específicos de inibição, sendo necessários mais estudos sobre o tema.

4 | CONCLUSÃO

O trabalho demonstrou que o extrato concentrado contendo metabólitos produzidos por *L. reuteri* foi capaz de promover inibição do crescimento de bactérias patogênicas *in vitro* e diminuição de células viáveis do contaminante *S. aureus* em iogurte natural refrigerado. Assim, a adição desse extrato poderia ser investigada como uma forma de controlar ou eliminar patógenos indesejáveis em alimentos.

AGÊNCIAS DE FOMENTO

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES e a UEL pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- AOAC - Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis. 15^aed. Washington, 2006.
- ARQUÉS, J. L.; RODRÍGUEZ, E.; NUÑEZ, M.; MEDINA, M. Combined effect of reuterin and lactic acid bacteria bacteriocins on the inactivation of food-borne pathogens in milk. **Food Control**, v. 22(3-4), p. 457-461, 2011.
- BALCIUNAS, E. M.; CASTILLO MARTINEZ, F. A.; TODOROV, S. D.; FRANCO, B. D. G. M.; CONVERTI, A.; OLIVEIRA, R. P. S. Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. **Food Control**, v. 32(1), p. 134-142, 2013.
- BORGES, M.F.; ARCURI, E.F.; PEREIRA, J.L.; FEITOSA, T.; KUAYE, A. Y. *Staphylococcus* enterotoxigenicos em leite e produtos lácteos, suas enterotoxinas e genes associados: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 26, p. 71-86, 2008.
- HAMMES, W.; HERTEL, C. **The genera Lactobacillus and Carnobacterium**. In: **The Prokaryotes**, p. 320-403, 2006.
- JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- LINDGREN, S. E.; DOBROGOSZ, W. J. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 7(1-2), p. 149–163, 1990.
- SILVA, H. S.; RAMOS, R. J.; MIOTTO, M.; CIROLINI, A.; VIEIRA, C. R. W. Atividade antimicrobiana de *Lactobacillus reuteri* contra bactérias de interesse alimentar. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.69(4), p. 584-587, 2010.
- SCHMIDT, M.; LYNCH, K. M.; ZANNINI, E.; ARENDT, E. K. Fundamental study on the improvement of the antifungal activity of *Lactobacillus reuteri* R29 through increased production of phenyllactic acid and reuterin. **Food Control**, 88, p.139–148, 2018.
- TALARICO, T. L.; W. J. DOBROGOSZ. Chemical characterization of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus reuteri*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.3, p.674-679, 1989.
- TOBAJAS, M.; MOHEDANO, A. F.; CASAS, J. A.; RODRÍGUEZ, J. J. A kinetic study of reuterin production by *Lactobacillus reuteri* PRO 137 in resting cells. **Biochemical Engineering Journal**, v. 35(2), p. 218–225, 2007.
- VU K. D.; SALMIERI S.; ROSA A.; LACROIX M. Evaluation of bioconversion conditions on reuterin production using response surface methodology and *Listeria monocytogenes* as target bacteria. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**. v. 6(4), p. 1007-1011, 2017.
- VOLLENWEIDER, S.; GRASSI G., KÖNIG, I.; PUHAN Z. Purification and structural characterization of 3-hydroxypropionaldehyde and its derivatives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 3287-3293, 2003.

IDENTIFICAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM BANHEIROS DO FUNEC- CENTEC E SEUS RISCOS PARA TRANSMISSÃO DE INFECÇÕES URINÁRIAS

Data de aceite: 14/02/2020

Data Submissão: 02/12/2019

Camila Kathleen Aquino Silva

Fundação de Ensino de Contagem – Unidade
CENTEC
Contagem - MG

CV: <http://lattes.cnpq.br/6731793826912057>

Júlia Gabriela Machado da Silva

Fundação de Ensino de Contagem – Unidade
CENTEC
Contagem - MG

CV: <http://lattes.cnpq.br/7044528501778776>

Rodrigo Lobo Leite

Fundação de Ensino de Contagem – Unidade
CENTEC
Contagem – MG

CV: <http://lattes.cnpq.br/5215971781478751>

Helena Gadelto Lages dos Reis

Fundação de Ensino de Contagem – Unidade
CENTEC
Contagem - MG

CV: <http://lattes.cnpq.br/3280339975993365>

válvula de descarga, entre outros. Podem ser transmitidos de forma indireta ou direta, sendo as mãos consideradas importantes fontes de contaminação e transmissão. Os banheiros da escola são locais utilizados na sua maioria por alunos e funcionários que lá frequentam, sendo uma diversidade muito grande, e com isso existe a possibilidade da presença de diversos tipos de microrganismos nas superfícies, tais como vaso sanitário, pias, maçanetas que são prejudiciais e potencialmente responsáveis por infecções no trato urinário. Os agentes etiológicos, mais frequentemente envolvidos com ITU adquirida na comunidade, são em ordem de frequência: a *Escherichia coli*, o *Staphylococcus saprophyticus*, espécies de *Proteus sp* e de *Klebsiella sp* e o *Enterococcus faecalis*. A *E. coli* é responsável por 70% a 85% das infecções do trato urinário adquiridas na comunidade. As amostras foram colhidas de torneiras, vasos sanitários e maçanetas, com auxílio da Swab nos banheiros da escola e foram onde foi realizado as análise microbiológicas. Após os testes microbiológicos, a análise bioquímica para diferenciação das Enterobactérias e das espécies do gênero *Staphylococcus* foi feita e os resultados encontrados. Em relação aos bastonetes Gram – Negativos, os resultados encontrados foram: 30% de *Escherichia coli*,

RESUMO: Os banheiros são locais insalubres em que pode ocorrer a contaminação com microrganismos infecciosos, seja através das maçanetas, vasos sanitários, torneiras,

5% de *Enterobacter* e 5% de *Morganella morganii* e 60% de outros bastonetes gram negativos. Das 18 amostras apenas uma obteve resultado de coagulase positiva, indicando a possibilidade da presença de *Staphylococcus aureus* e as demais foram consideradas *Staphylococcus* sp, coagulase negativas. Conclui-se que os banheiros possuem em suas superfícies microrganismos causadores de ITU, sendo um grande risco de contaminação devido ao um grande número de pessoas utilizam esses banheiros e se tornam expostas à contaminação, havendo necessidade de melhor higienização/desinfecção dos banheiros como importante mecanismo de prevenção.

PALAVRAS-CHAVE: Banheiros, infecções trato urinário, higienização, desinfecção

MICROBIOLOGICAL IDENTIFICATION IN FUNEC - CENTEC BATHROOMS AND THEIR RISKS FOR TRANSMISSION OF URINARY INFECTIONS

ABSTRACT: Toilets are unhealthy places where contamination with infectious microorganisms can occurs. Whether through the door handles, toilets, taps, flush valve, among others. It can be transmitted indirectly or directly, and the hands are considered important sources of contamination and transmission. School toilets are places used mostly by students and staff with a huge diversity that increases the possibility of the presence of various types of microorganisms on the surfaces such as toilet, sinks and doorknobs that are harmful and potentially responsible for urinary tract infections. The etiologic agents, most often involved with community-acquired UTI, following a most recurring order of cases are : *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus* sp and *Klebsiella* sp species and *Enterococcus faecalis*. *E. coli* is responsible for 70% to 85% of community-acquired urinary tract infections. The samples were taken from taps, toilets and door handles with the help of swab in the school toilets where the microbiological analysis was performed. After microbiological tests, the biochemical analysis for differentiation of Enterobacteria and *Staphylococcus* species was made and the results were found. Regarding the Gram - Negative rods, the results were: 30% *Escherichia coli*, 5% *Enterobacter* and 5% *Morganella morganii* and 60% other Gram negative rods. From the 18 samples, only one obtained positive coagulase results, indicating the possibility of the presence of *Staphylococcus aureus* and the others were considered coagulase negative *Staphylococcus* sp. It is concluded that toilets have on their surfaces microorganisms that cause UTI, being a great risk of contamination due the large number of people who use these toilets and become exposed to. There is a need for better sanitation/ disinfection of the bathrooms as an important prevention mechanism.

KEYWORDS: Toilets, urinary tract infections, hygiene, disinfection

INTRODUÇÃO

Os banheiros são locais insalubres em que pode ocorrer a contaminação com microrganismos infecciosos, seja através das maçanetas, vasos sanitários, torneiras, válvula de descarga, entre outros(MEDEIROS et al, 2018). Podem ser transmitidos de forma indireta (mecanismo segundo o qual bioagentes patogênicos, montados ou não no substrato com qual são eliminados, necessitam de um suporte mediatizador, veículo ou hospedeiro intermediário, para percorrerem toda ou parte da distância que separa o indivíduo infectado do suscetível, onde deverão desenvolver-se ou multiplicar-se, estabelecendo a infecção) ou direta (mecanismo de transferência de um determinado agente causador (vírus, bactérias, protozoários, entre outros.) em que não há interferência de veículos [vetores]), sendo as mãos consideradas importantes fontes de contaminação e transmissão de microrganismos por estarem em contato com superfícies e pessoas(REZENDE, et al, 2018) Os banheiros da escola FUNEC unidade CENTEC são locais utilizados na sua maioria por alunos e funcionários que lá frequentam, sendo uma diversidade muito grande, e com isso pode existir a possibilidade da presença de diversos tipos de microrganismos nas superfícies, tais como vaso sanitário, pias, maçanetas que são prejudiciais e potencialmente responsáveis por infecções no trato urinário.

Os usuários, independente de sexo, raça, podem transferir os contaminantes que porventura possam estar em suas mãos ao abrir a torneira, onde ocorre a contaminação (MAZILI, JUNIOR, ALMEIRA, 2018)

Os agentes etiológicos, mais frequentemente envolvidos com ITU adquirida na comunidade, são em ordem de frequência: a *Escherichia coli*, o *Staphylococcus saprophyticus*, espécies de *Proteus* e de *Klebsiella* e o *Enterococcus faecalis*. A *E. coli*, sozinha, responsabiliza-se por 70% a 85% das infecções do trato urinário adquiridas na comunidade.(CARNEIRO, et al , 2017; FRANÇA, et al, 2017; NICÉSIO, KORB, 2018)

A maior suscetibilidade à infecção no sexo feminino é devida às condições anatômicas: uretra mais curta e sua maior proximidade com vagina e com ânus. Outros fatores que aumentam o risco de ITU nas mulheres incluem: episódios prévios de cistite, o ato sexual, o uso de certas geleias espermicidas, a gestação e o número de gestações, o diabetes (apenas no sexo feminino) e a higiene deficiente, mais frequente em pacientes com piores condições socioeconômicas e obesas(CMCISS, 2018).

No caso de banheiros públicos a higienização e principalmente a forma de uso aumentam essa frequência em mulheres.

OBJETIVO

A pesquisa teve como objetivo a realização da análise microbiológica de superfícies dos banheiros da Fundação de Ensino de Contagem (FUNEC) unidade CENTEC e identificar os microrganismos presentes nestes locais, e sua relação com os riscos de ocorrência de infecções urinárias. Além de promover uma melhor higienização e prevenção de contaminação dos usuários dos banheiros analisados, enfatizando que independente do sexo, existe igualdade tanto para ocorrer ou evitar uma contaminação.

METODOLOGIA

A metodologia consistiu em identificar a presença de bactérias que são responsáveis por causar infecções no trato urinário, nas superfícies (vasos sanitários, maçanetas e torneiras) dos banheiros da FUNEC/CENTEC, através de análises microbiológicas e bioquímicas. (BRASIL, 2004; BRASIL, 2017).

As amostras foram colhidas de três superfícies: vasos sanitários, maçanetas e torneiras. De maneira mais específica, coletaram-se duas amostras das maçanetas, duas amostras das torneiras e três amostras dos vasos sanitários (banheiro feminino); duas amostras das maçanetas, duas amostras das torneiras e duas amostras dos vasos sanitários (banheiro masculino).

Tais amostras foram semeadas em meios de cultura ágar Sal Manitol e ágar Teague (EMB). Os meios foram utilizados com o intuito de realizar uma pesquisa de *Staphylococcus spp.* e Enterobactérias, que são os dois principais grupos que podem causar uma infecção urinária. Os meios de cultura com as amostras semeadas foram incubados na estufa bacteriológica (37°C) por 48h.

Após a incubação, foi feito a apuração das colônias e a técnica de GRAM, realizada com o intuito de classificar bactérias com base no tamanho, morfologia celular e comportamento diante dos corantes.

Com os resultados do GRAM, foi feita uma repicagem em meio ágar PCA para a realização da coagulase dos cocos gram positivos encontrados, e da cultura em meio RUGAI dos bastonetes gram negativos encontrados.

O princípio da coagulase é a verificação da capacidade dos microrganismos reagirem com o plasma e formar coágulo, uma vez que a coagulase é uma proteína com atividade similar à protrombina, capaz de converter o fibrinogênio em fibrina, que resulta na formação de um coágulo visível. Essa técnica permite separar as espécies de *Staphylococcus* de importância clínica, *S. aureus* – coagulase positiva, das demais espécies – coagulase negativa. Foi realizada a coagulase de 18 amostras.

O RUGAI possibilita várias reações em um único tubo, verificando basicamente a presença de enzimas, emissão de gás e motilidade. As provas bioquímicas são: motilidade da bactéria pela turvação da lisina, lisina descarboxilase, fermentação da glicose, fermentação da sacarose, produção de gás sulfídrico (H_2S), produção de gás, utilização do aminoácido L-triptofano (desaminação), hidrólise da ureia e formação de indol. Esse meio permite identificar Enterobactérias, Vibrios e não fermentadores, como exemplo: *Escherichia coli*, *Shigella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Providencia spp.*, *Morganella morganii*, *Proteus spp.*, *Salmonella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Vibrio spp.*, e não fermentadores (NICÉSIO, 2018)

RESULTADOS ENCONTRADOS

A Tabela 01 e Tabela 02 demonstram as unidades formadoras de colônias (UFC) por cm^2 encontradas nos meios Ágar Teague e Ágar Hipertônico Manita.

Superfícies	Banheiro Feminino	Banheiro Masculino
Maçanetas	1 UFC/ cm^2	2 UFC/ cm^2
Torneiras	14 UFC/ cm^2	630 UFC/ cm^2
Vasos sanitários	11 UFC/ cm^2	1 UFC/ cm^2

Tabela 1 – Unidades Formadoras de Colônias por cm^2 cultivadas em Ágar Teague

Superfícies	Banheiro Feminino	Banheiro Masculino
Maçanetas	2 UFC/ cm^2	10 UFC/ cm^2
Torneiras	272 UFC/ cm^2	170 UFC/ cm^2
Vasos Sanitários	698 UFC/ cm^2	9 UFC/ cm^2

Tabela 2 – Unidades Formadoras de Colônias por cm^2 cultivadas em Ágar Hipertônico Manita

Com a técnica do GRAM foi possível classificar as bactérias encontradas em cocos gram positivos e bastonetes gram negativos.(Figura 01)

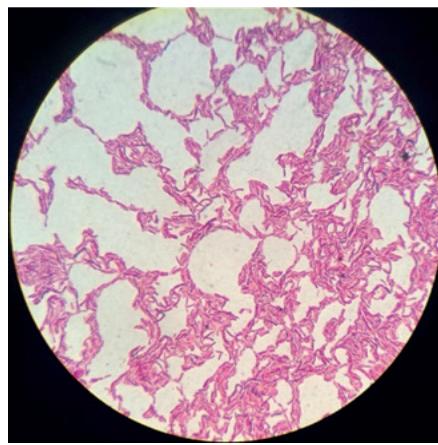


Figura 01 – Bastonetes gram negativos

Fonte: Autoria própria

Das 20 amostras estriadas no RUGAI, seis equivalem a *Escherichia coli*, uma equivale a *Morganella morganii*, uma equivale a *Enterobacter*, e 12 (doze) equivalem a outros bastonetes gram negativos (TABELA 03).

Bactérias encontradas	Incidência (em porcentagem)
<i>Escherichia coli</i>	30%
<i>Morganella morganii</i>	5%
<i>Enterobacter</i>	5%
Outros bastonetes gram negativos	60%

Tabela 3 – incidência dos bastonetes gram negativos encontrados em porcentagem (%).

Das 18 amostras em que a coagulase foi realizada, apenas uma obteve resultado de coagulase positiva, indicando a presença de *Staphylococcus aureus*. As outras 17 amostras tiveram como resultado coagulase negativa, indicando a presença das outras espécies de *Staphylococcus* (TABELA 04).

Bactérias encontradas	Incidência (em porcentagem)
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,6%
<i>Staphylococcus spp.</i>	94,4%

Tabela 4 – incidência dos cocos gram positivos encontrados em porcentagem (%).

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

De acordo com os resultados obtidos na apuração das colônias, observa-se o crescimento significativo nas superfícies das torneiras dos banheiros feminino e masculino. Portanto, chama a atenção pois essas são as que as pessoas possuem

maior contato quando utilizam o banheiro.

No trabalho realizado, *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Morganella morganii*, *Staphylococcus spp.*, e *Staphylococcus aureus* foram os principais microrganismos encontrados. Faz-se válido ressaltar que todas essas bactérias são agentes causadores de infecções do trato urinário, como mostra a Tabela 05.

Bactérias encontradas	Relações com as infecções do trato urinário
<i>Escherichia coli</i>	A bactéria <i>Escherichia coli</i> é o principal agente etiológico de infecções do trato urinário. A <i>E. coli</i> está relacionada a aproximadamente 50% das infecções hospitalares, e de 70 a 90% dos episódios de infecções do trato urinário (ITU).
<i>Morganella morganii</i>	<i>Morganella morganii</i> é um microrganismo gram negativo, anaeróbio facultativo que habita o trato gastrointestinal (TGI) de humanos como parte da microbiota normal, porém também constitui importante patógeno correlacionado com infecções oportunistas (Falagas et al., 2006). As infecções de trato urinário são provavelmente as mais frequentes em humanos acometidos por esta bactéria.
<i>Enterobacter</i>	As bactérias do gênero <i>Enterobacter</i> pertencem à família <i>Enterobacteriaceae</i> , e são bactérias gram negativas, anaeróbias facultativas. Tal gênero provoca infecções do trato gastrointestinal, trato respiratório, trato urinário e na pele.
<i>Staphylococcus aureus</i>	As infecções do trato urinário são frequentes na população, sendo uma das infecções causadas por microrganismos mais comuns. A infecção do trato urinário por <i>Staphylococcus aureus</i> pode ocorrer na uretra, na bexiga ou nos rins.
<i>Staphylococcus spp.</i>	Estão presentes na microbiota normal da pele, região periuretral e mucosas das vias urinárias e genitais. Quando ocorre desequilíbrio da flora dessas vias causam infecção urinária. São agentes comuns de infecção urinária em mulheres na faixa de 20 a 40 anos.

Tabela 5 – bactérias encontradas nas superfícies dos banheiros que causam ITU (infecções do trato urinário).

CONCLUSÃO

Com o trabalho realizado pode-se concluir que as bactérias encontradas nas superfícies dos banheiros da Fundação de Ensino de Contagem (FUNEC) unidade CENTEC, são os principais causadores de infecção no trato urinário (ITU), e essas podem ocorrer em todas as idades e em ambos os sexos.

Faz-se válido ressaltar que na vida adulta, a incidência de infecção urinária se eleva e o predomínio no sexo feminino se mantém, com picos de maior acometimento no início ou relacionado à atividade sexual, durante a gestação ou na menopausa, de forma que 48% das mulheres apresentam pelo menos um episódio de infecção urinária ao longo da vida. Na mulher, a susceptibilidade à infecção urinária se deve à uretra mais curta e a maior proximidade do ânus com o vestíbulo vaginal e uretra.

Constata-se, então, que as superfícies analisadas podem atuar como veículo de transmissão desses microrganismos infecciosos, havendo necessidade de

melhor higienização/desinfecção dos banheiros e melhor atenção dos usuários dos mesmos, pois tal processo é um importante mecanismo de prevenção.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde, 2004** - <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_microbiologia_completo.pdf> acesso em 8 dez. 2017;
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Manual de Procedimentos Laboratoriais: da Requisição do Exame à Análise Microbiológica, 2004** - <http://www.anvisa.gov.br/servicosauda/manuais/microbiologia/mod_3_2004.pdf> acesso em 7 dez. 2017;
- CARNEIRO, et al. **Identificação de Bactérias Causadoras de Infecção Hospitalar e Avaliação da Tolerância a Antibióticos, NewsLab - edição 86 - 2008** <https://www.researchgate.net/profile/Marcos_Pesquero/publication/268429027_Identificacao_de_Bacterias_Causadoras_de_Infeccao_Hospitalar_e_Avaliacao_da_Tolerancia_a_Antibioticos/links/54ff11620cf2eaf210b4b069/Identificacao-de-Bacterias-Causadoras-de-Infeccao-Hospitalar-e-Avaliacao-da-Tolerancia-a-Antibioticos.pdf> acesso em: 8 dez. 2017;
- COMISSÃO MUNICIPAL DE CONTROLE DE INFECÇÃO EM SERVIÇOS DE SAÚDE DE CONTAGEM, (CMCISS). **Manejo e Tratamento da Infecção Urinária**. [S.l.: s.n.], 2009. 2 á 25 p. Disponível em: <http://www.contagem.mg.gov.br/arquivos/downloads/manejo_e_tratamento_de_infeccao_urinaria.pdf>. Acesso em: 07 set. 2018;
- FRANÇA, A. B. et al. **Análise Microbiológica de Banheiros de Bares do Município de Anápolis, 2013**- <<http://conic-semesp.org.br/anais/files/2013/trabalho-1000015180.pdf>> acesso em: 8 dez. 2017;
- KORB, Arnildo et al. **PERFIL DE RESISTÊNCIA DA BACTÉRIA Escherichia coli em INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO EM PACIENTES AMBULATORIAIS**. [S.l.: s.n.], 2013. 1 á 8 p. v. 13. Disponível em: <<http://joaootavio.com.br/bioterra/workspace/uploads/artigos/666-2770-1-pb-53df8fce94fa.pdf>>. Acesso em: 07 set. 2018.
- MAZILLI, Paulo Marcos Longuini; JÚNIOR, Adilson Pimentel de Carvalho; ALMEIDA, Fernando G. **Infecção do trato urinário**. Unifesp-EPM: Copyright Moreira Jr. Editora, 2011. 74 á 81 p. Disponível em: <http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=4942>. Acesso em: 07 set. 2018;
- MEDEIROS, et al. **Verificação de contaminantes de natureza fecal na superfície de torneiras de Banheiros Públicos**, Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações, v. 10, n. 1, p. 297-303, 2012 <periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/450/pdf> acesso em: 7 ago. 2018;
- NICÉSIO, Raphael Gonçalves. **Meio de identificação IAL/RUGAI: Microbiologia**. [S.l.: s.n.], 2017. home p. Disponível em: <<http://www.biomedicinabrasil.com/2017/06/meio-de-identificacao-ial-rugai.html>>. Acesso em: 07 set. 2018;
- REZENDE, et al. **Identificação bacteriológica em banheiros de unidades básica de saúde de municípios do noroeste paulista, Brasil**, <v. 27, n. 1 (2015)> acesso em:7 ago. 2018;

IDENTIFICAÇÃO DE DELEÇÕES E DUPLICAÇÕES NO GENE CYP2A6 NA POPULAÇÃO DE GOIÂNIA – GO POR MLPA

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 01/01/2020

Lucas Carlos Gomes Pereira

Universidade Federal de Goiás

Goiânia - Goiás

<http://lattes.cnpq.br/2600347478485303>

Nádia Aparecida Bérgamo

Universidade Federal de Goiás

Goiânia - Goiás

<http://lattes.cnpq.br/2282798263482973>

Elisângela de Paula Silveira-Lacerda

Universidade Federal de Goiás

Goiânia - Goiás

<http://lattes.cnpq.br/9390789693192751>

Jalsi Tacon Arruda

Universidade Federal de Goiás

Goiânia - Goiás

<http://orcid.org/0000-0001-7091-4850>

espectro de doenças humanas. O citocromo P450 2A6 (CYP2A6) é o metabolizador de alta afinidade da nicotina e seu metabolito oxidado, cotinina, variantes do CYP2A6 foram estudados principalmente para o tratamento do abuso de tabaco. Estudos revelaram que a cinética do metabolismo da nicotina é diferente em indivíduos portadores dos alelos variantes do CYP2A6. O objetivo do presente estudo foi investigar a importância dos polimorfismos genéticos do CYP2A6 na população de Goiânia - GO. O estudo foi realizado de acordo com o comitê de ética da Universidade Federal de Goiás (aprovação CEP: 895.552). Na pesquisa atual, 100 pacientes (35M / 65F) de ambos os sexos e com idades entre 18 e 90 (M: 30,2) anos foram incluídos após receberem o consentimento informado. A amplificação da sonda dependente de ligação Multiplex (MLPA) foi realizada usando o kit P128 CYP450 MLPA (versão C1; MRC-Holland) de acordo com as instruções do fabricante. Esse gene está localizado no cromossomo 19q13.2 e possui 9 exons, mas apenas 4 (1, 2, 3 e 5) foram analisados. No exon 1 foram encontradas 7 deleções na heterozigose, no exon 2 foram encontradas 4 deleções na heterozigose, no exon 3 (4 deleções na heterozigose) e no exon 5 (5 deleções na heterozigose). Este estudo

RESUMO: Os genes humanos metabólicos da família Cytochrome P450 são importantes na fisiologia, metabolismo de medicamentos e patogênese de certas doenças, e existe uma forte necessidade de explorar as variações genéticas e os mecanismos reguladores dessas enzimas. Mutações nos genes CYP levando à deficiência nas enzimas resultam em um amplo

fornecer resultados para o CYP2A6 em uma população de Goiânia-GO. Assim, abre novos caminhos para investigações posteriores por epidemiologistas na determinação da variação interindividual na suscetibilidade genética a várias doenças causadas devido à interação gene-ambiente. É a primeira vez que essa metodologia é usada, e acreditamos que é uma ótima ferramenta para estudos futuros com outros genes.

PALAVRAS CHAVE: Citocromo P450, CYP2A6, Polimorfismo

IDENTIFICATION OF DELETIONS AND DUPLICATIONS IN THE CYP2A6 GENE IN A POPULATION IN GOIÂNIA – GO BY MLPA

ABSTRACT: Metabolic human genes of the Cytochrome P450 family are important in physiology, drug metabolism, and pathogenesis of certain diseases, and there is a strong need to explore the genetic variations and regulatory mechanisms of these enzymes. Mutations in *CYP* genes leading to deficiency in the enzymes result in a wide spectrum of human diseases. Cytochrome P450 2A6 (CYP2A6) is the high-affinity metabolizer of both nicotine and its oxidized metabolite, cotinine, *CYP2A6* variants have mainly been studied for treating tobacco abuse. Studies have revealed that the kinetics of nicotine metabolism are different in individuals carrying the variant *CYP2A6* alleles. The aim of the present study was to investigate, the importance of *CYP2A6* genetic polymorphisms in the population in Goiânia - GO. The study was performed according to the ethics committee of Federal University of Goias (approval CEP: 895.552). In the current survey, 100 patients (35M/65F) of both genders and aged 18-90 (M: 30.2) years old were enrolled after receiving their informed consent. The Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) was performed using the P128 CYP450 MLPA kit (Version C1; MRC-Holland) according to the manufacturer's instructions. This gene is located on chromosome 19q13.2 and has 9 exons, but only 4 (1, 2, 3 and 5) were analyzed. In exon 1 was found 7 deletions in heterozygosity, in the exon 2 was found 4 deletions in heterozygosity, exon 3 (4 deletions in heterozygosity) and the exon 5 (5 deletions in heterozygosity). This study provides results for *CYP2A6* in a population in Goiânia –GO. Hence, it opens up new avenues for further investigations by epidemiologists in determining inter individual variation in genetic susceptibility to various diseases caused due to gene-environment interaction. Is the first time this methodology is used, and we believe it is a great tool for future studies with other genes.

KEYWORDS: Cytochrome P450, CYP2A6, Polymorphisms

INTRODUÇÃO

O significado da variação estrutural na doença humana e na diversidade fenotípica tem sido cada vez mais reconhecido e vários estudos geraram catálogos de variantes de número de cópias (CNVs) no genoma humano para facilitar uma

melhor compreensão de sua relevância funcional. Assim como os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), as CNVs influenciam a suscetibilidade a doenças e as diferenças interindividuais na resposta ao medicamento, pois vários genes farmacogenéticos importantes são conhecidos por terem número de cópias variável (Nygaard et al, 2016).

A superfamília CYP humana contém 57 genes funcionais e 58 pseudogenes em 14 subfamílias. Três famílias de genes CYPs, a saber, CYP1s, CYP2s e CYP3s, são as principais que contribuem para o metabolismo oxidativo de mais de 90% dos fármacos clínicos com CYPs em outras famílias envolvidas no metabolismo de moléculas endógenas, como esteróides, gordurosos. ácidos, bilirrubina e AAs (NEBERT; DALTON 2006; NEBERT et al. 2013; NELSON et al. 2013) Os CYPs humanos são importantes na fisiologia, no metabolismo de medicamentos e na patogênese de certas doenças e, portanto, há uma forte necessidade de explorar a variações genéticas e mecanismos reguladores dessas enzimas (NEBERT et al. 2013).

Assim, este estudo teve como objetivo determinar a prevalência de CNVs (Deleções e Duplações) no gene CYP2A6 em um grupo pertencente a população de Goiânia – Goiás e número de cópias foi determinado por MLPA.

MATERIAIS E MÉTODOS

População de Estudo

Este estudo foi realizado no Laboratório de Genética Molecular e Citogenética do Instituto de Ciências Biológicas 1 da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil. O estudo foi realizado em 100 pessoas de saudáveis, de acordo com o comitê de ética da Universidade Federal de Goiás (aprovação CEP: 895.552). Na pesquisa atual, 100 pessoas saudáveis (35M / 65F) de ambos os sexos e com idades entre 18 e 90 (M: 30,2) anos foram aprovadas para participar após receberem o consentimento informado.

Coleta de amostras e análises de DNA

O sangue periférico (5 ml) foi coletado em tubos vacutainer EDTA de todos os indivíduos participantes após a obtenção do consentimento por escrito. A extração de DNA genômico foi realizada a partir de sangue total usando o Purelink DNA Kit (Invitrogen).

Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MLPA)

O MLPA foi realizado usando o kit Cytochrome P-450 MLPA desenvolvido

recentemente (P128-C1; MRC-Holland, Amsterdã, Países Baixos) de acordo com as instruções do fabricante. O Kit P128 CYP (MRC Holland) contém 55 sondas MLPA que abrangem os genes CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP3A4, CYP3A5 CYP1B1, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, GSTP1 e GSTT1.

RESULTADO E DISCUSSÕES

Esse gene está localizado no cromossomo 19q13.2 e possui 9 exons, mas apenas 4 (1, 2, 3 e 5) foram analisados.

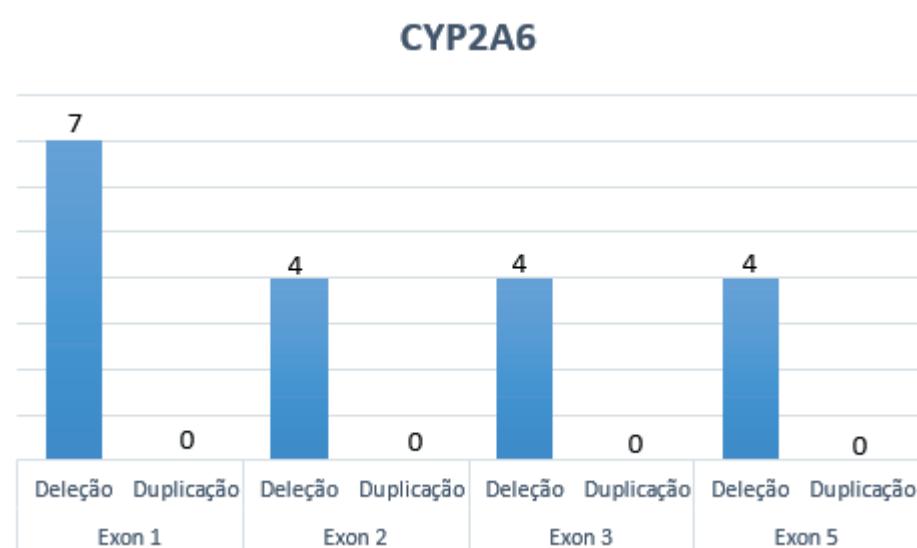


Figura 1. Demostraçao do número de duplicações e deleções do gene *CYP2A6* encontrados em um grupo populacional de Goiânia – GO.

O gene CYP2A6 é expresso principalmente no fígado, representando aproximadamente 1% a 10% do total de CYPs e é uma enzima importante, pois pode metabolizar aproximadamente 3% dos medicamentos clínicos e está sujeito a polimorfismo com impactos clínicos significativos (Di et al. 2009; Raunio e Rahnasto-Rilla 2012).

No presente estudo, encontramos no gene CYP2A6 várias mutações nos exons estudados, como o exon 1 (7 deleções), o exon 2 (4 deleções), o exon 3 (4 deleções) e o exon 5 (5 deleções), como representado em a figura 1.

Verificou-se também que o CYP2A6 é expresso em tecidos relacionados a esteróides, como glândula adrenal, testículo, ovário e mama. O gene CYP2A6 metaboliza esteróides como testosterona e estradiol, mas a contribuição é menor (Nakajima et al. 2006). A atividade também é modificada por certos medicamentos, além de fatores patológicos e ambientais. Essas mutações podem aumentar a variabilidade interindividual da atividade do CYP2A6 e, assim, afetar o comportamento

de fumar ou a suscetibilidade ao câncer (Malaiyandi et al, 2005; Rossini et al. 2008).

O citocromo P450 2A6 (CYP2A6) é o metabolizador de alta afinidade da nicotina e seu metabolito oxidado, cotinina. Variantes do CYP2A6 foram estudados principalmente para o tratamento do abuso de tabaco. Estudos revelaram que a cinética do metabolismo da nicotina é diferente em indivíduos portadores dos alelos variantes do CYP2A6 e o que essas deleções e duplicações podem causar no organismo (Nakajima et al., 2000; Gonzales, 2007; Nebert et al. 2013).

Este estudo fornece os primeiros resultados para o CYP2A6 em uma população de Goiânia-GO. Assim, abre novos caminhos para investigações posteriores por epidemiologistas na determinação da variação interindividual na suscetibilidade genética a várias doenças causadas devido à interação gene-ambiente. É a primeira vez que essa metodologia é usada, e acreditamos que é uma ótima ferramenta para estudos futuros com outros genes.

REFERÊNCIAS

- Gonzalez FJ. CYP2E1. **Drug Metabolism and disposition**. 2007, 35 (1) 1-8.
- Nebert DW, Wikvall K, Miller WL. Human cytochromes P450 in health and disease. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**. 2013;
- Rodriguez-Antona C, Ingelman-Sundberg M. **Cytochrome P450 pharmacogenetics and cancer**. *Oncogene*. 2006; 25, 1679–1691.
- Di, Y. M., Chow, V. D., Yang, L. P., Zhou, S. F. 2009. Structure, function, regulation and polymorphism of human cytochrome P450 2A6. **Curr Drug Metab** 10:754–780.
- Raunio, H., Rahnasto-Rilla, M. 2012. CYP2A6: Genetics, structure, regulation, and function. **Drug Metabol Drug Interact** 27:73–88
- Rossini, A., de Almeida Simao, T., Albano, R. M., Pinto, L. F. 2008. CYP2A6 polymorphisms and risk for tobacco-related cancers. **Pharmacogenomics** 9:1737–1752.
- Malaiyandi V, Sellers EM, Tyndale RF. Implications of CYP2A6 genetic variation for smoking behaviors and nicotine dependence. **Clin Pharmacol Ther** 2005; 77(3): 145-58.
- Nakajima, S. Yamagishi, H. Yamamoto, T. Yamamoto, Y. Kuroiwa, T. Yokoi. Deficient cotinine formation from nicotine is attributed to the whole deletion of the CYP2A6 gene in humans. **Clin Pharmacol Ther** 2000; 67: 57–69.
- Nygaard M, Debrabant B, Tan Q, et al. Copy number variation associates with mortality in long-lived individuals: a genome-wide assessment. **Aging Cell**. 2016;15(1):49–55.

ANÁLISE DA QUANTIDADE DE FLÚOR INGERIDA POR PRÉ- ESCOLARES DEVIDO A UTILIZAÇÃO DE DENTIFRÍCIOS E CONSUMO DE ÁGUA FLUORETADA

Data de aceite: 14/02/2020

Data de Submissão: 03/12/2019

Júlia Dias Cruz

Técnica em Química Industrial / FUNEC –
CENTEC
Contagem, Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/9862237501486926>

Rafael Duarte Nascimento

Técnico em Química Industrial / FUNEC –
CENTEC
Contagem, Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/6485335116291554>

Adriana Mara Vasconcelos Fernandes de Oliveira

Licenciatura em Química / UNIFOR 2003
Especialização em Ensino de Ciências por
investigação / UFMG 2007
Contagem, Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/7250265026974076>

Juliana Patrícia Martins de Carvalho

Graduação em Ciências Biológicas / UFMG 2001
Graduação em Medicina Veterinária / UFMG 2014
Pós-graduação em Ciência Animal Microbiologia e
em Gestão no Ensino de Biologia
Contagem, Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/3831781107346750>

Victor Rodrigues Ribeiro

Técnico em Química Industrial / FUNEC –
CENTEC
Contagem, Minas Gerais

RESUMO: O projeto consiste em proporcionar informações às pessoas quanto às fontes e fatores que contribuem para uma exposição excessiva e sistêmica do flúor tendo em vista que essa exposição pode ocasionar o surgimento da fluorose dentária, resultando falhas na mineralização do esmalte e alteração da estrutura do tecido dentário. Pretende-se verificar se a quantidade de flúor consumida por pré-escolares está dentro dos limites recomendados, além de debater sobre a quantidade de flúor ativo e inativo em dentifrícios, pois atualmente não se tem na legislação vigente a garantia da concentração específica destes. Realizou-se a escolha de escolas de educação infantil no município de Contagem e aplicou-se um questionário direcionado aos pais e responsáveis para colhimento de informações sobre a quantidade de dentifrícios e água fluoretada utilizados e consumidos diariamente por seus filhos e o nível de informação sobre os riscos e consequências do uso indiscriminado de flúor. A partir deste questionário, foi possível estimar a quantidade de flúor ingerida pelos pré-escolares, pela análise de dados e de ensaios físico químicos. O método Colorimétrico SPADNS foi adotado para identificação da real concentração de flúor na água de abastecimento público. Contudo, tem-se que os alunos estão ingerindo flúor em

quantidades maiores que o ideal de até $0,07 \text{ mg kg}^{-1}$ de massa corporal. Por isso, é necessário alertar aos pais os riscos que o fluoreto pode causar, aos quais seus filhos estão expostos e recorrer ao poder público medidas de conscientização e combate ao aumento do índice de fluorose dentária no país.

PALAVRAS-CHAVE: Flúor; Flurose dentária; Água fluoretada; Dentifrícios.

ANALYSIS OF THE AMOUNT OF FLUORIDE INGESTED BY PRESCHOOLERS DUE TO THE USE OF DENTURES AND CONSUMPTION OF FLUORTED WATER

ABSTRACT: The project consists of providing information to people about the sources and factors that contribute to an excessive and systemic fluorine exposure considering that this exposure may cause the emergence of dental fluorosis, resulting in failure of enamel mineralization and alteration of the structure of dental tissue. The aim is to verify if the amount of fluoride consumed by preschoolers is within the recommended limits, and to discuss the amount of active and inactive fluoride in dentifrices, since currently there is no guarantee of their specific concentration in current legislation. The selection of kindergartens in Contagem was made and a questionnaire was applied to parents and guardians to collect information about the amount of toothpaste and fluoridated water used and consumed daily by their children and the level of information about the risks and consequences of indiscriminate use of fluoride. From this questionnaire, it was possible to estimate the amount of fluoride ingested by preschoolers through data analysis and physical chemical tests. The SPADNS Colorimetric method was adopted to identify the true concentration of fluoride in public water supply. However, students have ingested more than ideal fluoride up to $0,07 \text{ mg kg}^{-1}$ body mass. Therefore, it is necessary to warn parents about the risks that fluoride can cause, to which their children are exposed and to resort to the public power to raise awareness and combat the increase in the rate of dental fluorosis in the country.

KEYWORDS: Fluoride; Dental fluorosis; Fluorinated water; Toothpastes.

1 | INTRODUÇÃO

Têm-se conhecimento de que o Flúor propicia a redução dos índices de cáries nos dentes, fortalecendo os dentes de crianças ao se concentrar nos ossos em crescimento, além de reparar o esmalte dentário através da recomposição do cálcio e fósforo perdidos para manter os dentes duros através da remineralização. Por conta destes benefícios e ao aumento da incidência de cáries no mundo, foram tomadas iniciativas por órgãos públicos para o incentivo à fluoretação da água de abastecimento.

Desde 1945, diversos países possuem em vigor uma legislação para a adição

de flúor na água, como a Portaria nº 518, de 25 de Março de 2004 do Ministério da Saúde que sancionam que as águas de abastecimento público devem sofrer o processo de fluoretação com concentração de no máximo $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de Flúor. A fluoretação da água de abastecimento público consiste na adição controlada de um composto de flúor e representa uma das principais e mais importantes medidas de saúde pública no controle da cárie dentária (RAMIREZ, BUZALAF, 2007).

Além da fluoretação de água, foram feitas medidas para a adição de fluoretos em dentifrícios. De acordo com o INMETRO (2010), dentifrícios devem conter entre 1000 a 1500 ppm de fluoreto. Posterior a essas medidas, foi observada a diminuição dos índices de cárie no Brasil, como demonstrado pelo Gráfico 1.



Gráfico 1: Variação dos valores do CPO-D médio aos 12 anos no Brasil, período de 1980 a 2010, considerando os anos em que foram executados levantamentos nacionais de saúde bucal

Fonte: AGNELLI P. B., 2015

Segundo CURY *et al.* (2015), no Brasil, a maioria dos dentifrícios utilizados pela população tem como abrasivo o carbonato de cálcio (CaCO_3) e são formulados com monofluorfosfato de sódio ($\text{MFP} = \text{Na}_2\text{FPO}_3$). Entretanto, essa formulação perde seu efeito ativo gradativamente à medida que o MFP libera o íon fluoreto, em uma reação de hidrólise, sendo inativado pelo íons de Cálcio (Ca^{2+}) do abrasivo. Dessa maneira, aumenta-se a quantidade de Flúor insolúvel, inativo contra a cárie. Assim, nessas formulações parte do flúor total (FT) está solúvel na forma de íon MFP mais íon flúor (flúor solúvel total, FST) e parte está insolúvel (inativo contra a cárie).

A Resolução 79, Anvisa, 28/8/2000 apenas estabelece que o dentífrico não pode conter mais que 0,15% (1.500 ppm de F) de flúor total, sem estabelecer o mínimo de flúor solúvel que ele deveria conter para ter potencial anticárie, a qual de acordo com revisões sistemáticas deve ser igual ou maior que 1.000 ppm de F. (CURY, CALDARELLI, TENUTA, 2015).

A ingestão excessiva e sistêmica de fluoreto, acima de $0,07 \text{ mg kg}^{-1}$ de peso diariamente, possui malefícios podendo causar a curto prazo: tremores, dores

abdominais, fraqueza, náuseas, diarreia, etc.; e a longo prazo: problemas na tireoide e aos ossos, levando à osteoporose ou fluorose dentária. A fluorose é um defeito de formação do esmalte dentário, resultante da ingestão excessiva e sistêmica de flúor durante o desenvolvimento do dente. Possui crianças como as mais afetadas, principalmente antes dos seis anos de idade, época de transição entre os dentes decidídos para os permanentes.

No entanto, os males são estéticos, gerando manchas na superfície dos dentes de tons que variam entre o branco e o marrom claro, não voltando naturalmente à sua coloração natural. Por conta dessas doenças, diversas controvérsias foram especuladas pela adição de flúor na água e dentífricos, gerando o banimento da adição de Flúor em água de abastecimento público em países, como Suécia e Dinamarca.

Países europeus não têm aderido à medida com unanimidade. Holanda, Suécia e Finlândia chegaram a fluoretar suas águas, porém, mais tarde, interromperam o processo. Outros países, como Suíça, Hungria, França e Dinamarca, nunca aderiram a esse método, embora os delegados desses países, na Assembleia Mundial da Saúde, sempre tenham votado favoravelmente à medida, em escala mundial. (FERREIRA *et al.*, 2014).

A fluorose pode ser provocada por sobre doses de ingestão do elemento como, por exemplo, a soma deste na água de abastecimento com alimentos muito ricos em flúor ou erros na prescrição de sua suplementação (CHEDID, GUEDES-PINTO, 1997), ou ainda o início precoce da escovação com dentífrico fluoretado. De acordo com CURY *et al.* (2002), devido à adoção de métodos preventivos à cárie, utilizando produtos fluoretados, tem sido relatado nos últimos anos aumento na prevalência de fluorose dental, mesmo em regiões em que a água não é fluoretada. Além da água, os dentífricos fluoretados são considerados fatores de risco.

Analizando os dados de prevalência da fluorose dentária no Brasil nos anos de 2003 a 2010, de acordo com a Tabela 1, têm-se um aumento de aproximadamente 10% no país posterior às medidas tomadas pelos órgãos públicos. Observando-se as regiões do território brasileiro (Tabela 2), tem-se que as regiões Sul e Sudeste apresentaram o maior índice de prevalência no ano de 2010. Acredita-se que essa observação se deve às desigualdades socioeconômicas que exercem grande influência sobre a saúde e as condições de vida das pessoas. Fatores socioeconômicos como renda, tipo de moradia, nível de escolaridade, número de moradores na residência e escolaridade dos pais são influenciadores e indicadores de risco à fluorose dentária.

Prevalência de Fluorose Dentária		
Local	2003	2010
Brasil	7,40%	16,70%

Tabela 1: Distribuição da prevalência de fluorose segundo domínio de estudo e ano. SBBRASIL 2003 e SBBRASIL 2010.

Fonte: FREITAS et. al., 2013.

Região	Fator	
	Sem fluorose	Com fluorose
Norte	89,60%	10,40%
Nordeste	85,50%	14,50%
Sudeste	80,90%	19,10%
Sul	85,20%	14,80%
Centro-Oeste	88,70%	11,30%
Brasil	83,30%	16,70%

Tabela 2: Prevalência da fluorose dentária em crianças com 12 anos, segundo a região. SBBRASIL 2003 e SBBRASIL 2010.

Fonte: FREITAS et.al., 2013.

Em suma, pode-se notar que, o princípio segundo o qual um bem ou serviço qualquer implica risco ou representa fator de proteção para a saúde pública, além do controle do produtor sobre o processo de produção, distribuição e consumo, deve-se haver, também, controle por parte das instituições do Estado, ou seja, com as diversas fontes de flúor hoje existentes e com o aumento do índice de fluorose dentária no país, deve-se controlar e determinar se a quantidade de flúor consumida pelas crianças está dentro dos parâmetros estabelecidos, além de debater sobre a quantidade de flúor ativo e inativo (próprio e impróprio ao combate a cárie, respectivamente) em dentifrícios, pois atualmente não se tem na legislação vigente a garantia da concentração específica destes.

2 | METODOLOGIA

2.1 Elaboração e Entrega dos Questionários

O projeto se iniciou com o levantamento bibliográfico de pesquisas e artigos que abordaram como tema a fluorose dentária, além de legislações e portarias de órgãos públicos. Com base nas pesquisas realizadas, realizou-se a escolha de escolas no município de Contagem da rede pública e privada, que apresentam crianças entre 2 a 5 anos, para serem submetidas a análises quanto à ingestão de flúor, através da aplicação de um questionário entregue aos respectivos alunos direcionado aos pais e/ou responsáveis destes.

O questionário teve o intuito de conhecer a quantidade de dentifrícios utilizada e de água fluoretada consumida diariamente pelos pré-escolares, o nível de informação sobre o risco do uso indiscriminado de flúor e das consequências da fluorose dentária por parte dos responsáveis. A partir do questionário, foi analisado se aspectos socioeconômicos alteraram, relevantemente, as respostas obtidas.

2.2 Análise Laboratorial - Método Colorimétrico SPADNS Procedimento

1. Preparou-se uma solução padrão de fluoreto de sódio (NaF) de 1 mg L⁻¹ e um branco com água destilada.
2. O Cloro adicional da amostra foi eliminado previamente por adição de uma gota (0,05 mL) de solução de Arsenito de sódio (NaAsO₂) 5 g L⁻¹ para cada mg L⁻¹ desse.
3. Para cada uma das soluções padrões de fluoreto e amostra, foram retirados 50 mL e adicionados 10 mL da solução de SPADNS sobre vigorosa agitação (C₁₆H₉N₂Na₃O₁₁S₃).
4. O Cloro adicional da amostra foi eliminado previamente por adição de uma gota (0,05 mL) de solução de Arsenito de sódio (NaAsO₂) 5 g L⁻¹ para cada mg L⁻¹ desse.
5. O espectrofotômetro foi ajustado para 570 nm e tarou o zero de absorbância com água destilada.
6. Determinou-se a absorbância dos padrões de 0 e 1 mg L⁻¹ de fluoreto e da amostra.
7. Utilizou-se o seguinte cálculo para determinar a concentração de flúor na amostra:

$$\text{mg L}^{-1} \text{ F}^{-} = I(A_0 - A_x) / (A_0 - A_1)I$$

Onde: A₀ = Absorbância do padrão 0 mg L⁻¹ fluoreto;

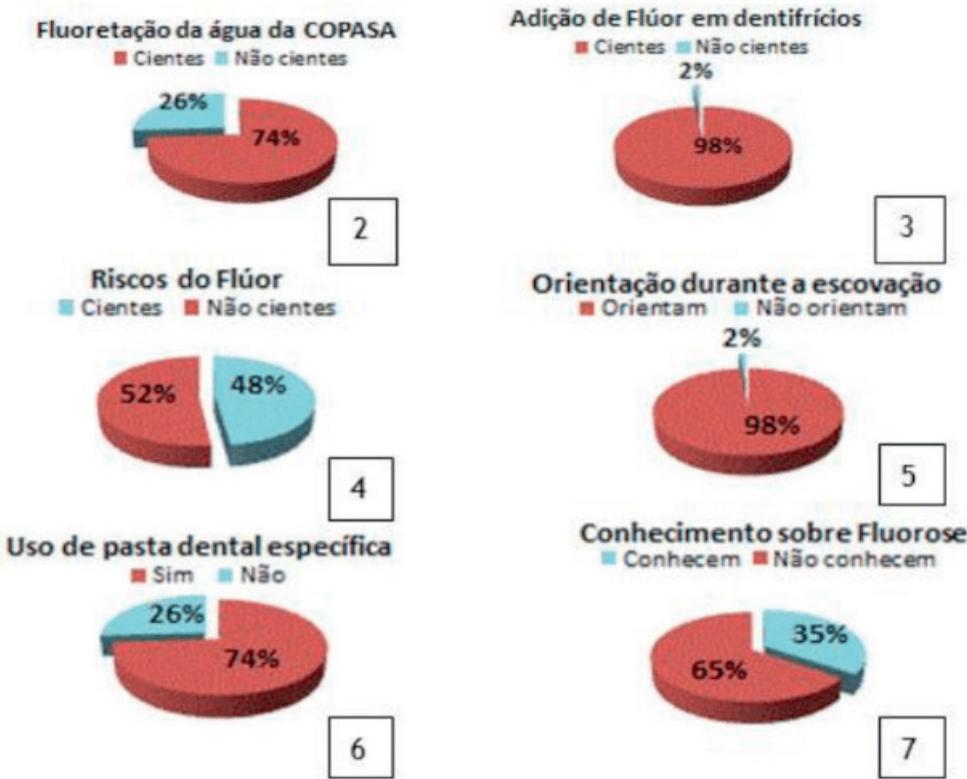
A₁ = Absorbância do padrão 1,0 mg L⁻¹ de fluoreto;

A_x = Absorbância da amostra preparada.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

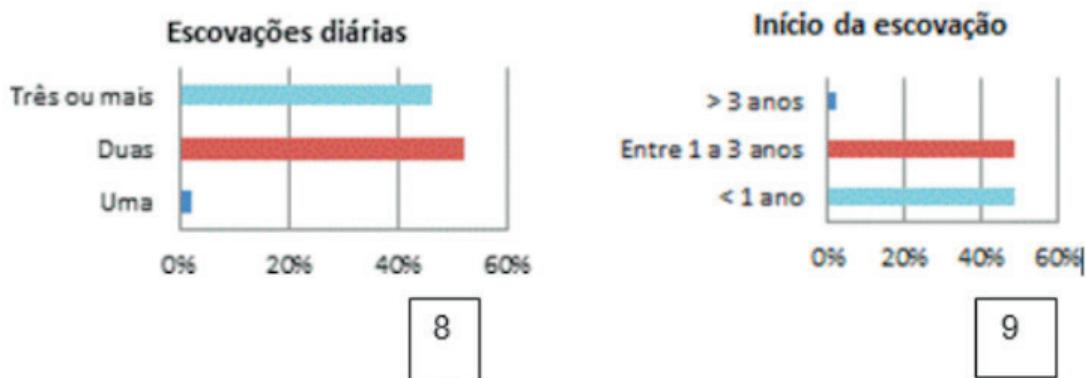
3.1 Questionários

A partir do questionário entregue aos pais e responsáveis dos pré-escolares, realizou-se a análise dos resultados, conforme demonstrado nos Gráficos numerados de 2 a 10.



Gráficos numerados de 2 a 7: Resultados obtidos a partir da análise de dados do questionário entregue aos pais e responsáveis

Fonte: Autoria própria



Gráficos 8 e 9: Resultados obtidos a partir da análise de dados do questionário entregue aos pais e responsáveis

Fonte: Autoria própria

A amostragem analisada continha 65 questionários preenchidos e devolvidos de 302 entregues às escolas. Através do tratamento de dados, analisaram-se que 74% dos responsáveis estão cientes sobre a fluoretação da água de abastecimento público; 98% dos responsáveis estão cientes sobre a adição de Flúor em dentífricos; 52% dos responsáveis não estão cientes sobre os riscos que o flúor pode causar; 65% dos responsáveis não tem conhecimento sobre a fluorose dentária; 98% dos responsáveis orientam seus filhos durante a escovação; 74% dos responsáveis aplicam pastas dentais específicas para crianças. Têm-se também, que a maioria dos alunos escovam os dentes duas vezes ao dia e que a maioria dos alunos iniciou

a escovação entre 1 a 3 anos ou menos.

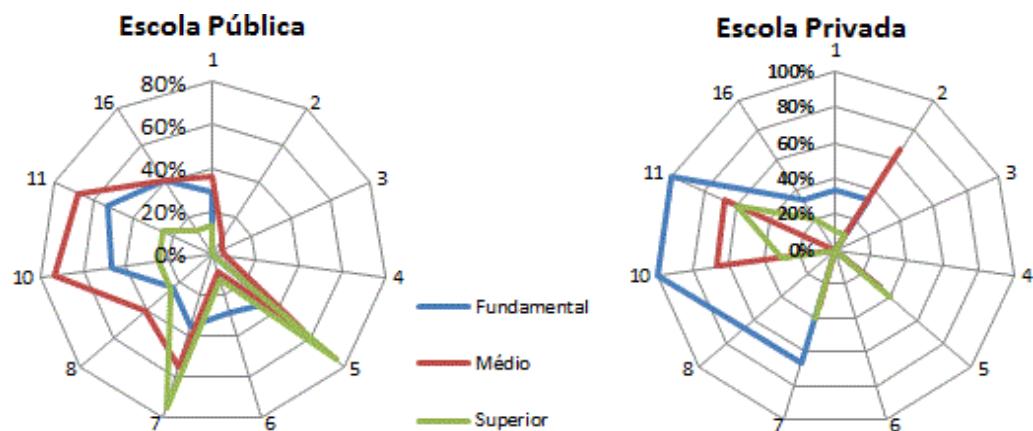


Gráfico 10: Nível Socioeconômico x Resultados

Fonte: Autoria Própria

Esse gráfico demonstra o risco do pré-escolar em desenvolver Flurose dentária a partir das respostas dadas pelos seus pais/responsáveis e comparando com o nível de escolaridade desses. À medida que a linha se afasta do centro maior é o risco em ocorrer a prevalência da fluorose na criança a partir dos conhecimentos de seus responsáveis.

Com a análise do gráfico “Nível Socioeconômico x Resultados”, pode-se notar que, os resultados não variaram relevantemente, uma vez que a amostragem entre escolas da rede pública e privada foi feita em uma região pequena, demonstrando uma variação de renda, escolaridade, e outros fatores, muito pequena em relação ao esperado. Entretanto, de acordo com as pesquisas bibliográficas, sabe-se que mudanças drásticas de fatores socioeconômicos afetam esses dados, como a falta de saneamento básico, ingestão excessiva de fast food ou enlatados, entre outros.

3.2 Análise Laboratorial

Dados:

Absorbância do padrão 1 mg L⁻¹ de fluoreto: 0,824

Absorbância do padrão 0 mg L⁻¹ fluoreto: 0,855

Absorbância da amostra preparada: 0,881

3.3 Concentração verificada:

$$\text{mg L}^{-1} \text{ F}^- = I(0,855 - 0,881)/(0,855 - 0,824)I$$

$$\text{mg L}^{-1} \text{ F}^- = 0,026/0,031$$

$$\text{mg L}^{-1} \text{ F}^- =$$

Com isso, verifica-se que a concentração de Flúor na água de abastecimento público condiz com a portaria nº 518, de 25 de março de 2004 que sanciona que a

concentração de fluoreto pode ser no máximo de 1,500 mg L⁻¹.

3.4 Análise Geral

Para calcular a quantidade de flúor ingerida pelas crianças, utilizou-se a seguinte fórmula como base:

$$\frac{CFA \times VC \times QC}{1000} + \frac{CFD \times DD \times QE}{1000}$$

Sendo:

CFA: Concentração de flúor em água de abastecimento público obtida através do método colorimétrico SPADNS (0,8387 mg L⁻¹ F-)

VC: Volume de um copo (200 mL)

QC: Quantidade de copos de água ingeridos

CFD: Concentração de flúor em dentífricos

DD: Dose de dentífrico utilizada durante a escovação

QE: Quantidade de escovações diárias

Considerando que a água possui concentração de 0,8387 mg L⁻¹ F- (anteriormente calculado), dentífricos possuem concentração em média de 1250 ppm F- e que a capacidade de um copo é de 200 mL, variou-se a quantidade de água consumida e de pasta dental utilizada. Posteriormente, calculou-se a quantidade de flúor ingerida pelos pré-escolares, fazendo sempre um comparativo de quantidades caso a pasta dental não fosse ingerida e caso fosse totalmente ingerida.

- Ingerindo 6 copos de água, realizando 2 escovações diárias com a quantidade de pasta dental semelhante ao tamanho de uma ervilha ($\pm 0,25$ g), tem-se:

- Caso a pasta dental não fosse ingerida durante a escovação:

$$\frac{0,8387 \times 200 \times 6}{1000}$$

Quantidade de Flúor ingerida = 1,00644 mg dia⁻¹

- Caso a pasta dental fosse totalmente ingerida durante a escovação:

$$\frac{0,8387 \times 200 \times 6}{1000} + \frac{1250 \times 0,25 \times 2}{1000}$$

Quantidade de Flúor ingerida = 1,00644 + 0,625

Quantidade de Flúor ingerida = 1,63144 mg dia⁻¹

Realizando o mesmo raciocínio, determinou-se a quantidade de flúor ingerida pelos pré-escolares variando a quantidade de água consumida e de pasta dental

utilizada, conforme demonstrado na Tabela 3.

Análise da Quantidade Flúor Ingerida			
Dados diários Sem ingerir pasta dental (mg dia ⁻¹)		Condição de uso	
	Ingerindo pasta dental (mg dia ⁻¹)		
1	3 copos de água (600 mL) + 2 escovações (0,5 g)	0,50322	1,12822
2	4 copos de água (800 mL) + 2 escovações (0,5 g)	0,67096	1,29596
3	8 copos de água (1,6 L) + 2 escovações (0,5 g)	1,34192	1,96692
4	9 copos de água (1,8 L) + 2 escovações (0,5 g)	1,50966	2,13466
5	3 copos de água (600 mL) + 3 escovações (0,75 g)	0,50322	1,44072
6	4 copos de água (800 mL) + 3 escovações (0,75 g)	0,67096	1,60846
7	8 copos de água (1,6 L) + 3 escovações (0,75 g)	1,34192	2,27942
8	9 copos de água (1,8 L) + 3 escovações (0,75 g)	1,50966	2,44716

Tabela 3: Análise da Quantidade Flúor Ingerida

Fonte: Autoria própria

Sabe-se que crianças de 2 a 5 anos de idade são afetadas pela fluorose, por estarem desenvolvendo sua arcada dentária. De acordo com a Sociedade Brasileira de Pediatria, crianças saudáveis na faixa etária citada possuem, em média, uma massa corporal de 15,2 kg. Tomando que a quantidade de flúor ideal a ser ingerida pelos pré-escolares é de $0,07 \text{ mg kg}^{-1}$ de peso diariamente, tem-se, como demonstrado abaixo, que o máximo a ser ingerido seria de:

$$\text{Quantidade ideal de F- a ser ingerida} = 0,07 \times \text{massa corporal}$$

$$\text{Quantidade ideal de F- a ser ingerida} = 0,07 \times 15,2$$

$$\text{Quantidade ideal de F- a ser ingerida} = 1,064 \text{ mg dia}^{-1}.$$

Portanto, de acordo com a Tabela 3, tem-se que quando a pasta dental é totalmente ingerida, o limite de $1,064 \text{ mg/dia F}^-$ sempre é ultrapassado e que a não ingestão de pasta dental pode ajudar a prevenir esse excedente, como visto nas suposições 1, 2, 5 e 6. Entretanto, os demais dados demonstraram uma ingestão maior ao estabelecido de Fluoreto apenas com a ingestão de água, ou seja, a

concentração de flúor da água de abastecimento público está excedendo o limite, por si só, no decorrer do consumo diário.

4 | CONCLUSÃO

Verificou-se que fatores socioeconômicos não influenciaram significativamente nas respostas dadas, uma vez que a amostragem entre escolas da rede pública e privada foi feita em uma região pequena, demonstrando uma variação de renda, escolaridade, e outros fatores, muito pequena em relação ao esperado. Entretanto, de acordo com as pesquisas bibliográficas, sabe-se que mudanças drásticas de fatores socioeconômicos afetam esses dados, como a falta de saneamento básico, ingestão excessiva de alimentos enlatados, entre outros.

Em suma, pôde-se notar que, por meio da análise de dados e da referência bibliográfica consultada, os pré-escolares apresentam grande tendência a adquirir fluorose dentária, uma vez que o limite estabelecido de ingestão máxima de fluoreto recomendada é de $0,07 \text{ mg kg}^{-1}$ de peso diariamente. Esse limite foi ultrapassado em todas as situações estipuladas em que a criança ingere totalmente a pasta dental. Em alguns casos, esse risco prevaleceu mesmo que fosse consumindo apenas água.

Isso demonstra uma fragilidade na legislação vigente com relação à fluoretação na água de abastecimento público, pois essa é reconhecida como um importante fator para o declínio da prevalência da cárie dentária, porém percebe-se a necessidade de monitoramento, a fim de que o teor de flúor seja mantido dentro dos reais padrões adequados para o controle da cárie e prevenção da fluorose dentária. Em relação ao Flúor ativo e inativo, tem-se que apenas o primeiro é capaz de combater cárie. Portanto, o segundo é capaz de contribuir apenas para a fluorose. É necessário alertar aos pais e a população sobre os riscos que o flúor pode causar, através dos rótulos de produtos que contêm Flúor, por campanhas de conscientização ao correto uso de pastas dentais aos pais/responsáveis e aos educadores que tanto convivem com essas crianças, para que essas possam ter acesso aos benefícios do flúor.

É importante ressaltar que essa conscientização foi feita pelos elaboradores do projeto ao retornar os dados obtidos às escolas parceiras e alertá-los sobre os riscos do flúor e da fluorose dentária. Por fim, este trabalho cumpre seus objetivos principais de conscientizar e ajudar a sociedade a perceber a importância de descobrir, redescobrir e rever a verdade apresentada a esta, para que, assim, possa-se formar um futuro, baseando-se em fatos.

REFERÊNCIAS

- AGNELLI P. B.; **Variação do índice CPOD do Brasil no período de 1980 a 2010**; Rev. Bras. Odontol. vol.72 no.1-2 Rio de Janeiro Jan./Jun. 2015; REVODONTO. Disponível em: <http://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?pid=S0034-2722015000100002&script=sci_arttext>. Acesso em 4 de Setembro de 2018.
- CHEID, S. J.; GUEDES-PINTO, A. C.; **Flúor: uso interno**. Odontopediatria. São Paulo: Santos. 6.ed, cap.25, 381-414, 1997. Disponível em: <<http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-250401>>. Acesso em 14 de Novembro de 2017.
- CURY J. A., DANTAS E. D. V., TENUTA L. M. A., ROMÃO D. A., TABCHOURY C. P. M., NÓBREGA D. F.; **Concentração de fluoreto nos dentifrícios a base de MFP/CaCO₃ mais vendidos no Brasil, ao final dos seus prazos de validade**. REV ASSOC PAUL CIR DENT 2015;69(3):248-51, 2015. Disponível em: <<http://revodonto.bvsalud.org/pdf/apcd/v69n3/a07v69n3.pdf>>. Acesso em 28 de Novembro de 2019.
- CURY, J.A.; CALDARELLI, P. G.; TENUTA, L. M. A.; **Necessidade de revisão da regulamentação brasileira sobre dentifrícios fluoretados**. Revista Saúde Pública 2015;49:74. DOI:10.1590/S0034-8910.2015049005768. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v49/pt_0034-8910-rsp-S0034-89102015049005768.pdf>. Acesso em 17 de Novembro de 2017.
- CURY, J.A.; MENEZES, L.M.B.; RODRIGUES, L. K. A.; SOUSA, M. L. R.; **Autopercepção da fluorose pela exposição a flúor pela água e dentífricio**. Rev. Saúde Pública vol.36 no.6 São Paulo Dec. 2002. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102002000700015>. Acesso em 16 de Novembro de 2017.
- FERREIRA, R.G.L.A.; BÓGUS, C.M.; MARQUES, R. A. A.; MENEZES, L. M. B.; NARVAI, P.C.; **Fluoretação das águas de abastecimento público no Brasil: o olhar de lideranças de saúde**. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 30(9):1884-1890, set, 2014. SCIELO. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/csp/v30n9/0102-311X-csp-30-9-1884.pdf>>. Acesso em 31 de Agosto de 2018.
- INMETRO; **Pasta de dente (Uso Adulto e uso infantil)**; 10/06/2000. Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/pastaDente.asp>>. Acessado dia 16 de Agosto de 2019.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE; **Portaria nº 518, de 25 de Março de 2004**. Disponível em: <http://189.28.128.100/dab/docs/legislacao/portaria518_25_03_04.pdf>. Acesso em 28 de Novembro de 2019.
- RAMIRES I., BUZALAF M. A. R.; **A fluoretação da água de abastecimento público e seus benefícios no controle da cárie dentária: cinquenta anos no Brasil**. Ciênc. saúde coletiva [online]. 2007, vol.12, n.4, pp.1057-1065. ISSN 1413-8123. Disponível em: <https://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S1413-81232007000400027&script=sci_arttext&tlng=en>. Acesso em 14 de Novembro de 2017.
- Sociedade Brasileira de Pediatria; **OMS: Peso para Idade (Meninos), 0-5 anos, em Percentil e Peso para Idade (Meninas), 0-5 anos, em Percentil**; Disponível em: <<https://www.sbp.com.br/departamentos-cientificos/endocrinologia/graficos-de-crescimento/>>. Acesso em 10 de Agosto de 2019.

CAPÍTULO 8

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANTISSÉPTICAS DE SABONETE LÍQUIDO PARA AS MÃOS ACRESCIDO DE ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 10/12/2019

Londrina – Paraná

Link para o Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8016799948804494>

Sara Scandorieiro

Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina
Londrina – Paraná

Link para o Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2430245176253213>

Audrey Alesandra Stinghen Garcia Lonni

Departamento de Ciências Farmacêuticas,
Universidade Estadual de Londrina
Londrina – Paraná

Link para o Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3926549183102595>

Gerson Nakazato

Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina
Londrina – Paraná

Link para o Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2532741243269868>

Renata Katsuko Takayama Kobayashi

Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina
Londrina – Paraná

Link para o Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3188392520162374>

Angela Hitomi Kimura

Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina
Londrina – Paraná

Link para o Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6907725896684115>

Mariane Beatrice Fortin

Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina
Londrina – Paraná

Link para o Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1793376434124354>

Marcelly Chue Gonçalves

Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina
Londrina – Paraná

Link para o Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4143476802424047>

Bianca Cerqueira Dias

Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina
Londrina – Paraná

Link para o Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4906544787715199>

Victor Hugo Clébis

Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina

RESUMO: A pesquisa por princípios ativos naturais no setor farmacêutico e cosmético

está em franco crescimento, uma vez que há resistência dos microrganismos aos antimicrobianos convencionais. Considerando as diversas propriedades apresentadas pelos óleos essenciais, destaca-se o óleo essencial de *Origanum vulgare* (*O. vulgare*) conhecido popularmente como orégano, devido ao seu alto potencial como agente antimicrobiano. Desta forma, este trabalho teve como objetivo desenvolver sabonete líquido para as mãos contendo óleo essencial de *O. vulgare*, bem como determinar a atividade antimicrobiana e farmacotécnica das formulações. Foram desenvolvidas formulações com e sem óleo de orégano em duas concentrações (0,75 %, p/p e 1,0%, p/p). As formulações foram caracterizadas farmacoteticamente quanto às características organolépticas, físico-químicas e microbiológicas. A atividade antimicrobiana foi verificada pelo método de curva de sobrevivência contra bactérias Gram positivas e negativas, incluindo cepas multirresistentes, que foram comparados com a atividade antimicrobiana do triclosan (padrão). A curva de sobrevivência comprovou a atividade antisséptica das formulações desenvolvidas. A formulação F1,0 apresentou melhor resposta frente aos microrganismos testados. Os resultados obtidos mostraram a eficácia das formulações desenvolvidas contra o crescimento dos microrganismos testados assim como suas características físico-químicas, conferindo ao produto uma futura inovação no mercado. Além disso, pode representar uma alternativa de produto natural para a higienização das mãos nos estabelecimentos de saúde que atualmente utilizam, em sua grande maioria, produtos contendo triclosan.

PALAVRAS-CHAVE: Novos antimicrobianos, triclosan, sabonete líquido antisséptico, óleo essencial de orégano.

DEVELOPMENT AND EVALUATION OF PROPERTIES OF ANTISEPTIC LIQUID SOAP FOR HANDS INCREASED WITH OREGANO ESSENTIAL OIL

ABSTRACT: The search for natural active ingredients in the pharmaceutical and cosmetic sector is growing fast as there is resistance of microorganisms to conventional antimicrobials. Considering the various properties presented by essential oils, the essential oil of *Origanum vulgare* (*O. vulgare*), popularly known as oregano, stands out due to its high potential as an antimicrobial agent. Thus, this article aimed to develop liquid hand soap containing *O. vulgare* essential oil, as well as to determine the antimicrobial and pharmacotechnical activity of the formulations. Formulations with and without oregano oil were developed in two concentrations (0,75% w/w and 1,0% w/w). The formulations were pharmaceutically characterized for organoleptic, physicochemical and microbiological characteristics. Antimicrobial activity was verified by the survival curve method against Gram positive and negative bacteria, including multidrug resistant strains, which were compared with triclosan antimicrobial activity (standard). The survival curve proved the antiseptic activity of the formulations developed. The F1,0 formulation presented better response to the tested microorganisms. The

results showed the efficacy of the formulations developed against the growth of the tested microorganisms as well as their physicochemical characteristics, giving the product a future innovation in the market. In addition, it may represent a natural product alternative for hand hygiene in healthcare facilities that currently use mostly triclosan-containing products.

KEYWORDS: New antimicrobials, triclosan, antiseptic liquid soap, oregano essential oil.

1 | INTRODUÇÃO

A higienização das mãos é a medida mais antiga e simples para evitar a disseminação de microrganismos patogênicos e uma importante ferramenta para o cuidado e a promoção da saúde (BRASIL, 2009).

Agentes antimicrobianos são incluídos em preparações para limpeza, e também para aliviar condições comuns como odor corporal e infecções de pele mais simples, incluindo infecções secundárias, associadas à acne. Entretanto, tais produtos devem ser diferenciados daqueles utilizados para o tratamento de condições patológicas, os quais podem conter antibióticos e outros agentes, não comumente associados para os objetivos gerais de higiene (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2001).

O triclosan é um dos principais agentes antissépticos utilizado em diversos produtos farmacêuticos e cosméticos, com amplo espectro de ação antimicrobiano (YUEH; TUKEY, 2016). Entretanto, pesquisas mostram os efeitos maléficos para o meio ambiente e a saúde humana (HALDEN et al., 2017). Dessa maneira, instituições como o Food and Drug Administration (FDA) e a Environmental Protection Agency (EPA) começaram a rever o uso e os efeitos desse composto nos Estados Unidos (HALDEN, 2014). Além disso, há relato na literatura que o uso extensivo de produtos contendo triclosan pode contribuir para a resistência aos antimicrobianos (GIULIANO; RYBAK, 2015). Estudos recentes sugerem que o triclosan pode modificar o microbioma (GAULKE et al., 2016; HU et al., 2016; SYED et al., 2014).

Diante disso, o interesse na pesquisa de alternativas aos antissépticos convencionais está em franco crescimento. Diferentes estudos mostram que os óleos essenciais apresentam atividade antimicrobiana e o óleo essencial de orégano tem se destacado por sua excelente atividade frente a diferentes espécies de microrganismos, inclusive os multirresistentes (SCANDORIEIRO et al., 2016; NAZZARO et al., 2013; TRAJANO et al., 2009). Dentre os componentes do óleo essencial do orégano, a atividade antimicrobiana é atribuída ao carvacrol e ao timol (BAKKALI et al., 2008.). O carvacrol (2-Metil-5-(1-metiletil) fenol) e seu isômero timol (5-metil-2-(1-metiletil)- fenol) são monoterpenos encontrados em diversas

plantas aromáticas (NOSTRO; PAPALIA, 2012). Embora tenha sido verificado que o carvacrol e o timol afetem tanto a membrana externa quanto a interna, outros estudos mostraram que o seu principal local de ação é a membrana citoplasmática (HELANDER et al. 1998).

Considerando que o óleo essencial de orégano já é referenciado por suas diversas propriedades, o estudo da atividade antimicrobiana dos sabonetes líquidos produzidos com o óleo em questão, torna-se uma alternativa de utilização e agregação de valor (DAMATO, 2015; SCANDORIEIRO et al., 2016).

Desta forma o objetivo do trabalho foi desenvolver um sabonete antisséptico líquido para as mãos, contendo óleo essencial de orégano e avaliar a sua atividade antimicrobiana.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras bacterianas

Para avaliação da atividade antibacteriana utilizou-se cepas bacterianas de referência (ATCC) e amostras bacterianas da coleção do Laboratório de Bacteriologia Básica e Aplicada da Universidade Estadual de Londrina. As cepas bacterianas de referência utilizadas foram: *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 e *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA).

2.2 Obtenção do óleo essencial de orégano (OEO)

OEO foi obtido comercialmente da empresa Ferquima Ind. e Com. Ltda (Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil). Segundo relatório descritivo do produto, esse OEO foi extraído por destilação a vapor e tem como composição principal: 71% de carvacrol, 3% de timol, 4,5% de gama-terpineno, 3,5% de para-cimeno e 4% de beta-cariofileno.

2.3 Desenvolvimento da formulação antisséptica

Foram desenvolvidas quatro formulações, na forma de sabonete líquido antisséptico para as mãos, com e sem OEO, sendo utilizado nas concentrações de 0,75% (p/p) e 1,0% (p/p). As formulações foram denominadas: 1) FB: fórmula base, 2) FP: fórmula contendo 0,1% (p/p) de triclosan, 3) F0,75: fórmula contendo 0,75% (p/p) de OEO e 4) F1,0: fórmula contendo 1,0 % (p/p) de OEO.

A formulação base (FB) foi constituída de lauril éter sulfosuccinato de sódio, coco amido propil betaina, lauril perolado, dietanolamida de ácido graxo de coco, poliquaternium-7, ácido cítrico, cloreto de sódio e água destilada. A preparação

constitui-se de mistura simples das matérias-primas, à frio, sob agitação, até a completa incorporação dos compostos.

2.4 Caracterização farmacotécnica

As formulações foram caracterizadas, em triplicata, quanto aos ensaios organolépticos e físico-químicos, de acordo com as orientações descritas no Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos (BRASIL, 2008).

2.4.1 *Ensaios morfológicos e organolépticos*

Para a análise morfológica, as amostras foram submetidas ao teste da centrifugação, onde 5 gramas de cada formulação foi acondicionada em tubo de ensaio cônico, graduado. As amostras foram centrifugadas (Centrífuga Baby I Fanem 206-BL, São Paulo, Brasil) a 3200 rpm por 30 minutos à temperatura ambiente, para detectar visíveis modificações ou instabilidades, como separação de fases, formação de sedimento compacto e coalescência. Em seguida, procedeu-se a avaliação visual.

A observação do aspecto das formulações foi realizada macroscopicamente após 24 horas em repouso. Observou-se visualmente se a amostra em estudo apresentava características macroscópicas da amostra padrão ou se ocorreram alterações do tipo separação de fases, precipitação e turvação.

A análise de cor das formulações, foi realizada por colorimetria, por comparação visual da cor da amostra com a cor do padrão, sob luz branca, armazenado nas mesmas condições e embalagem que a amostra. Para isso, 1,5 gramas da amostra foi acondicionada em vidro relógio e colocada sob fundo preto. Em seguida foi fotografada e seus resultados comparados.

O odor das amostras foi comparado com o odor da fórmula padrão, através do olfato. Nas análises de cor e odor, as amostras foram classificadas como normal, sem alteração; levemente modificada; modificada; intensamente modificada.

2.4.2 *Ensaios Físico-Químicos*

Para cada formulação foi determinado o pH utilizando o peágâmetro digital (pH 21 pH/mV meter, HANNA, Brasil) em temperatura ambiente ($25 \pm 5^{\circ}\text{C}$), calibrado com solução tampão (pH 4,0 e 7,0). Para ambas as determinações, o eletrodo foi inserido diretamente na amostra.

A densidade foi avaliada utilizando o picnômetro de vidro, com capacidade de 10 mL e temperatura monitorada em 20°C . A relação entre a massa da amostra e a massa da água, ambas a 20°C representa a densidade específica da amostra.

ensaiada.

A reologia das amostras foi analisada com o viscosímetro do tipo Copo Ford (Metalúrgica Tech Vision Ltda., modelo 2070, São Paulo, Brasil). As formulações foram dispostas em recipientes cilíndricos em alumínio com capacidade total de 200 mL. Depositou-se a amostra no copo até sua capacidade máxima, com o orifício bloqueado, retirando o excesso com auxílio da placa. Ao desbloquear o orifício, um cronômetro foi acionado até escoamento completo. Utilizou-se temperatura de análise de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e orifício de número 3. Para análise das formulações foram feitas três leituras, sendo que cada velocidade foi mantida por 60 s. Para todas formulações os dados foram coletados após 10 s.

2.5 Avaliação da atividade antimicrobiana das formulações

Foram testadas a atividade antimicrobiana de todas as formulações desenvolvidas (FB, FP, F0,75 e F1,0) frente às cepas de *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* (KPC) ATCC 10031 e *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA).

2.5.1 Curva de Sobrevida frente às cepas bacterianas

As culturas cresceram em ágar MH durante 24 horas em estufa a 37°C . Após o crescimento bacteriano, um novo inóculo foi realizado diluindo a bactéria em solução salina (0,9%) até turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala McFarland (escala nefelométrica McFarland). A partir deste, foi feito um novo inóculo, que inicialmente continha 5.10^5 UFC/mL de bactéria e foi adicionado em cada amostra. Esse procedimento ocorreu em triplicata e em diferentes tempos de contato (imediatamente, 10, 30 e 60 min) a 37°C . Após os tempos de contato, as amostras foram diluídas, plaqueadas e incubadas por 24 h a 37°C , para contagem de UFC/mL.

2.6 Análise estatística

Todos os testes foram estatisticamente comparados utilizando-se análise de variância (ANOVA). As diferenças individuais entre as médias serão identificadas pelo teste de Tukey. Em todos os casos, um nível de significância de $p < 0,05$ foi aceito para denotar significância.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Desenvolvimento da formulação

A evolução dos sabonetes líquidos permitiu elevação no valor agregado devido à veiculação de aditivos com funções diversas e específicas como antissépticos, anti-inflamatórios, entre outros (CRONEMBERGER et al., 2015). No desenvolvimento das formulações utilizou-se o triclosan como padrão, devido a sua função como antisséptico, que dependendo de sua concentração na formulação, é capaz de inibir o desenvolvimento de fungos, vírus e bactérias, nesse caso tanto bactérias Gram positivas como Gram negativas.

Nos testes utilizou-se o OEO no lugar do triclosan, apesar das propriedades antissépticas do OEO já estarem comprovadas e descritas (SCANDORIEIRO et al., 2016), o presente estudo comprova e descreve a eficácia da ação do OEO incorporado a um sabonete líquido frente aos microrganismos testados.

3.2 Caracterização farmacotécnica

A caracterização farmacotécnica tem como objetivo verificar a conformidade do produto frente às especificações estabelecidas em compêndios oficiais. Em relação aos ensaios organolépticos, quanto à aparência das formulações, pode-se observar que não houve nenhuma alteração macroscópica, e com isso nenhum sinal de instabilidade aparente. Todas as amostras testadas apresentaram-se homogêneas, sem precipitação ou turvação e mantiveram o aspecto nacarado e cor branca, conforme a figura 1.

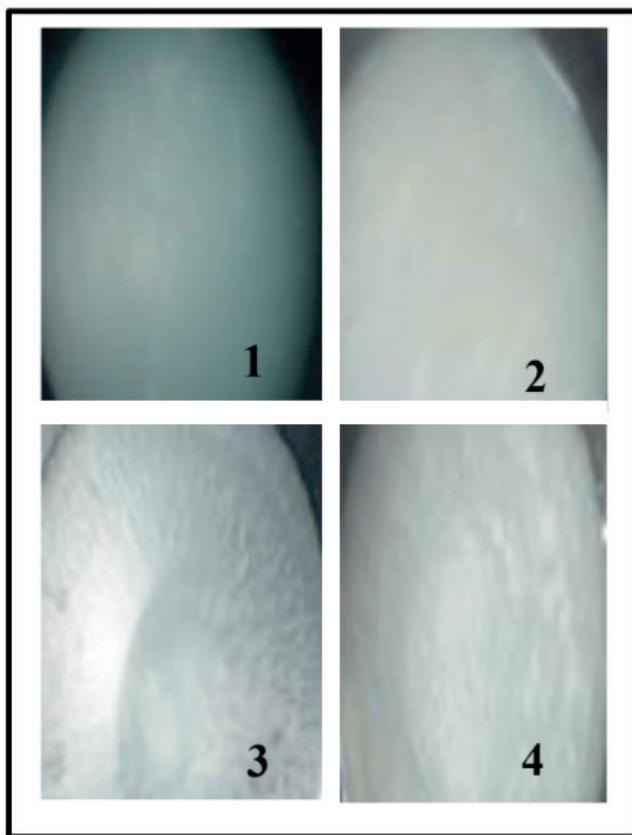


Figura 1 - Análise visual sob condições de luz branca em fundo preto das formulações de sabonete líquido. A formulação base (1) sem a adição do triclosan e óleo essencial de orégano; a formulação padrão (2) com o triclosan (0,1%) e as formulações contendo óleo essencial de orégano em diferentes concentrações: 0,75% (p/p) (3) e 1,0% (p/p) (4).

Na análise do odor verificou-se o aroma característico do OEO nas formulações acrescidas com esse óleo, sendo que se pode notar o odor um pouco mais intenso na amostra com maior concentração desse ativo.

Quanto ao aspecto morfológico e centrifugação, todas as amostras não sofreram modificação ou instabilidade como separação de fases, cremeação e coalescência. As formulações mantiveram-se homogêneas, após 24 horas em repouso e após a centrifugação a 2800 rpm por 30 minutos. Esta análise foi repetida após 3 meses a partir do preparo da formulação, e observou-se a mesma estabilidade.

Os valores de pH das amostras foram obtidos por potenciômetria direta e estão apresentados na tabela 2. Como pode ser verificado os valores mantiveram-se dentro da faixa especificada, pH 5,5 a 7,0 e demonstraram não existir diferença significativa entre as amostras ($p>0,05$). As características físico-químicas estão diretamente relacionadas com a variação de pH de uma formulação. Alterações nos valores de pH podem modificar as características físico-químicas do ativo utilizado, influenciando nas propriedades como estabilidade, biodisponibilidade e biocompatibilidade, comprometendo assim, a segurança e a eficácia da formulação.

Os valores de densidade variaram pouco, de 1,01273 a 1,02558 g/mL, mesmo as formulações sendo diferentes. Os resultados foram apontados na tabela 2,

não havendo alteração estatisticamente significativa ($p<0,05$). Esses valores provavelmente se devem a formulação conter alto teor de água.

A análise de densidade em sabonetes líquidos é importante para a garantia da qualidade e manutenção das características dos produtos durante seu prazo de validade (BRASIL, 2008).

A viscosidade foi determinada utilizando o Copo Ford, e os valores são apresentados na tabela 2. O orifício escolhido para a análise deve-se a baixa viscosidade dos sabonetes e assim alcançamos os resultados obtidos através da equação adequada para tal orifício. Os valores de viscosidade de cada amostra foram determinados pela média dos valores obtidos e variaram de 204 a 729 segundos. Essa diferença entre os valores pode ser devido a composição dos sabonetes testados, pois suas formulações são diferentes. A viscosidade de todas as formulações foi determinada na mesma temperatura.

As formulações F0,75 e F1,0 apesar de apresentarem praticamente a mesma formulação (tabela 1), mostraram valores de viscosidade diferentes. Essa diferença pode estar relacionada com a quantidade de OEO presente em cada sabonete.

Amostras	Características físico-químicas		
	pH	Densidade (g/cm ³)	Viscosidade (s)
FB	6,8 ± 0,023	1,01510 ± 0,0037	204 ± 0,10
FP	7,0 ± 0,00	1,01273 ± 0,0074	257 ± 0,07
FM0,75	6,3 ± 0,06	1,01723 ± 0,0042	606 ± 0,09
FM1,0	6,5 ± 0,013	1,02558 ± 0,0056	729 ± 0,15

Tabela 2 - Caracterização farmacotécnica das formulações analisadas.

3.3 Avaliação da atividade antimicrobiana das formulações

Para a avaliação da eficiência dos sabonetes antissépticos desenvolvidos foram feitas curvas de sobrevivência frente às cepas analisadas, por estas estarem relacionadas a doenças transmitidas através do contato com as mãos. Na avaliação dessa atividade foram testados F0,75 e F1,0; FB foi utilizado como controle e FP como padrão de comparação.

Os ensaios realizados comprovaram a atividade antimicrobiana e a eficácia de F0,75 e F1,0, frente todas as cepas analisadas. Esses resultados foram demonstrados nas figuras 2, 3, 4 e 5. Observando os resultados, podemos afirmar que F1,0 apresenta atividade e eficácia semelhante a FP. Já F0,75, apresenta atividade frente a todas as cepas, contudo sua eficácia é menor quando comparada com FP e F1,0.

Os ensaios realizados revelaram uma maior inibição no crescimento de

S. aureus pela F1,0 já quando em contato imediato com o produto, sendo mais significativo em 10 minutos, pois a ação bactericida dessa formulação é total. Entretanto, o estudo mostra que F1,0 após 10 minutos de contato zera a população microbiana em todas as cepas analisadas, ou seja, a ação bactericida é total. Assim, F1,0 apresenta um melhor efeito quando comparado com F0,75 e F1,0 pode vir a substituir FP no mercado cosmético e farmacêutico.

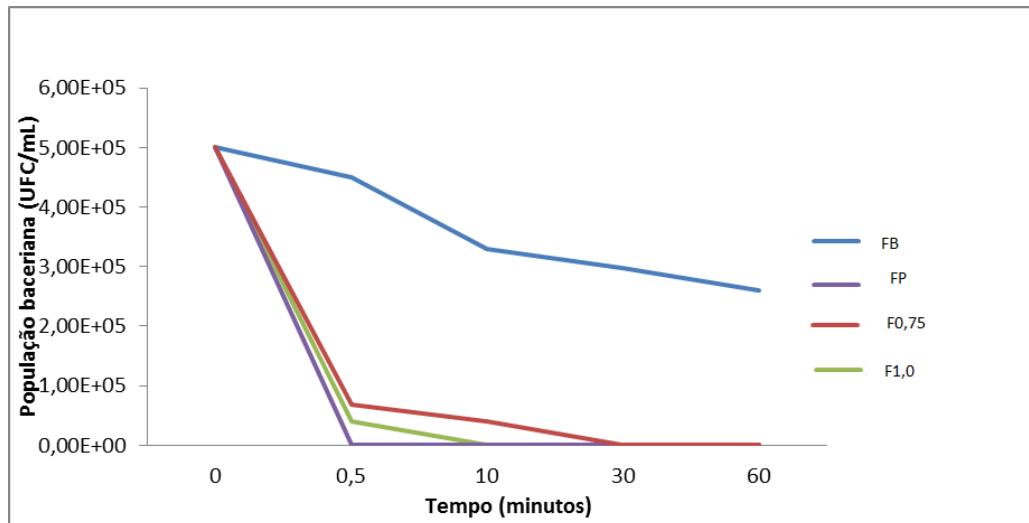


Figura 2 - Curva de sobrevivência de *E. coli* frente às formulações de sabonete líquido para as mãos: FB, FP, F0,75 e F1,0.

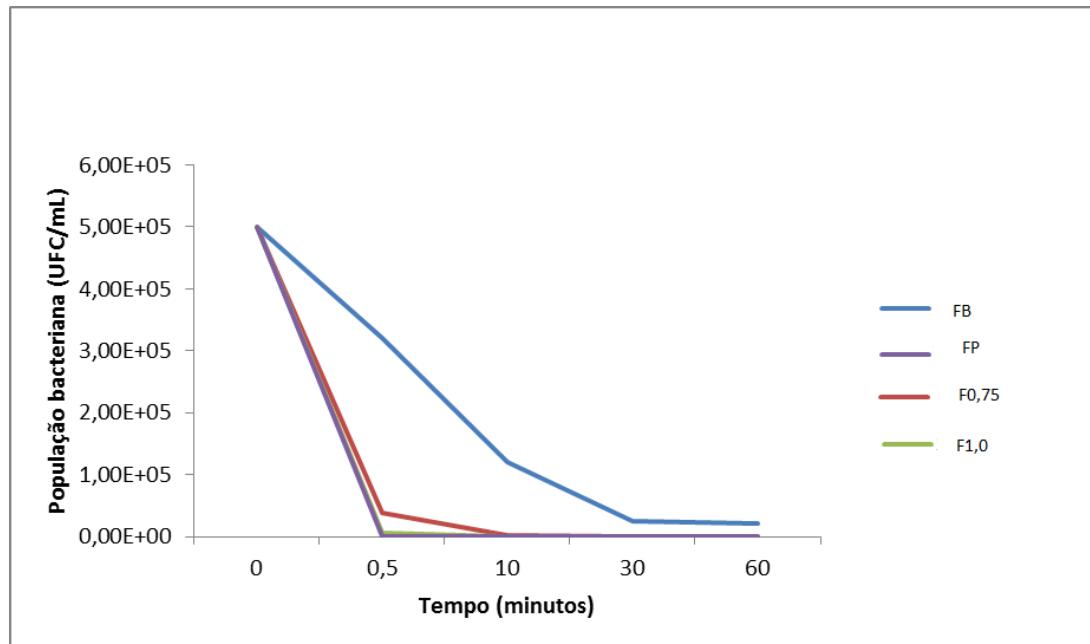


Figura 3 - Curva de sobrevivência de *S. aureus* frente às formulações de sabonete líquido para as mãos: FB, FP, F0,75 e F1,0.

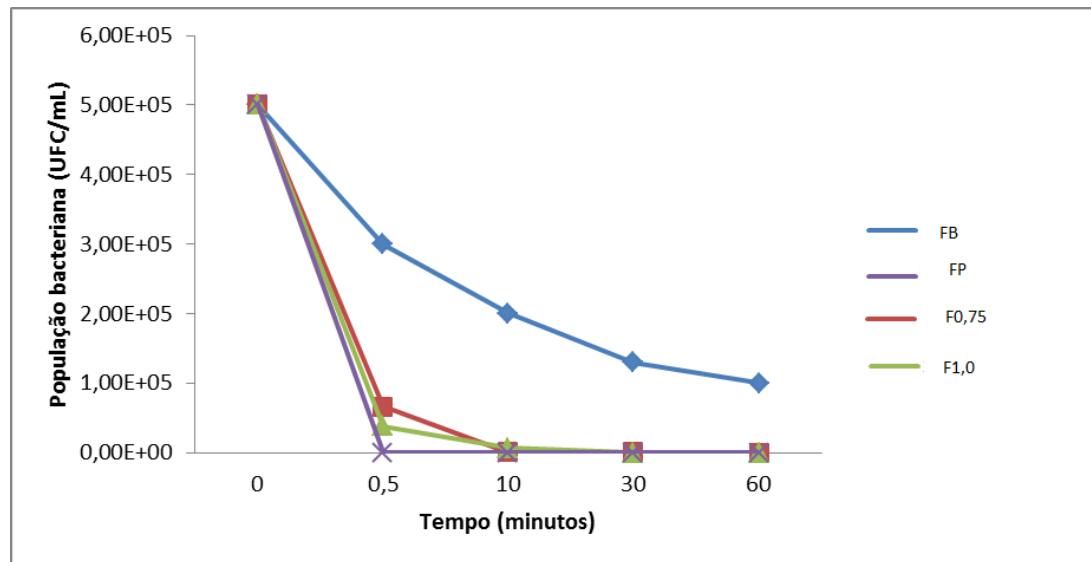


Figura 4 - Curva de sobrevivência de MRSA frente às formulações de sabonete líquido para as mãos: FB, FP, F0,75 e F1,0.

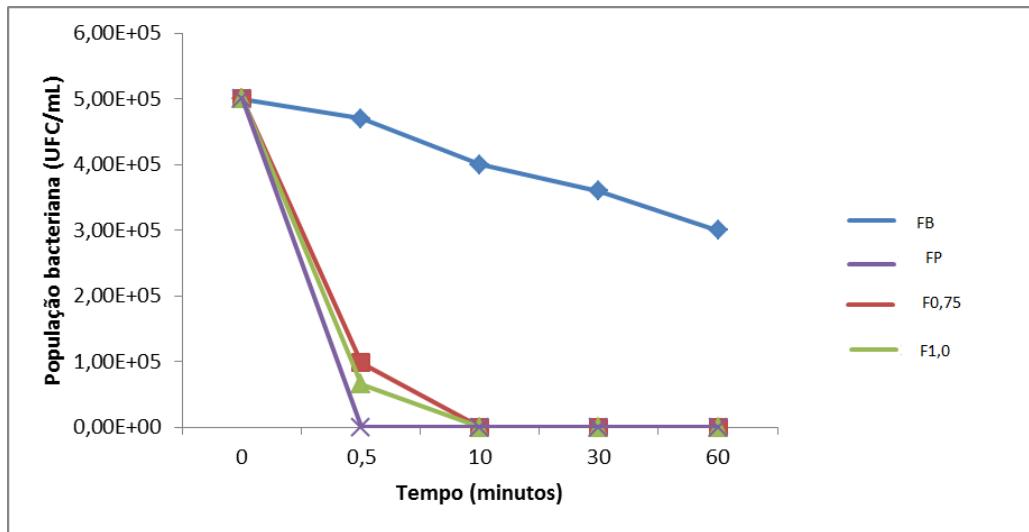


Figura 5 - Curva de sobrevivência de KPC frente às formulações de sabonete líquido para as mãos: FB, FP, F0,75 e F1,0.

Não podemos deixar de considerar a ação mecânica da lavagem das mãos, já que essa remove facilmente a microbiota transitória. A microbiota transitória é composta por microrganismos que se depositam na superfície da pele, provenientes de fontes externas, colonizando temporariamente os extratos córneos mais superficiais. Por serem mais facilmente removidos da pele, por meio de ação mecânica, os microrganismos que compõem a microbiota transitória também se espalham com mais facilidade pelo contato e são eliminados com mais facilidade pela degermação com agentes antissépticos. (ROTTER, 1997)

4 | CONCLUSÃO

Neste artigo, comprovamos a eficiência dos sabonetes antissépticos desenvolvidos com OEO quando comparados à formulação padrão, composta por

triclosan, que é um dos antissépticos mais utilizados no mercado nos dias atuais. Para a comparação foram testados contra *S. aureus*, *E. coli*, MRSA e KPC.

Em relação às características físico-químicas, constatou que os sabonetes apresentaram diferentes viscosidades, provavelmente pela diferença nas formulações, o que foi significativo; a densidade variou muito pouco, mesmo com a diferença na composição das formulações; em relação ao pH, as formulações variaram pouco e todas mostraram-se dentro da faixa permitida para sabonetes tópicos.

Em relação às análises microbiológicas, F0,75 e F1,0 apresentaram ação bactericida frente as cepas testadas. Contudo, F1,0 apresentou maior eficácia, obtendo resultado satisfatório em menor tempo. A formulação F1,0 também foi a que mostrou valores mais próximos ao padrão contendo triclosan. Assim, apontando o êxito do estudo.

Com o intuito de inserir no mercado produtos de composição natural, substituindo assim os produtos químicos, principalmente aqueles que podem causar algum malefício à saúde humana, os sabonetes líquidos produzidos a partir do óleo essencial de orégano, mostraram ser uma ótima alternativa, visto que possuem atividade antimicrobiana e eficácia comprovada. Além disso, as propriedades físico-químicas estão dentro dos padrões estabelecidos. Assim, o óleo essência de *O. vulgare* tem potencial para substituir os antimicrobianos convencionais utilizados na produção de cosméticos e outros produtos farmacêuticos.

REFERÊNCIAS

BAKKALI, F. et al. **Biological effects of essential oils - A review**. Food and Chemical Toxicology, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos**. Brasília, 2008. 2^a edição.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Segurança do Paciente em Serviços de Saúde: Higienização das Mãos**. Brasília, 2009. Disponível em: <<https://www20.anvisa.gov.br/securancadopaciente/index.php/publicacoes/item/seguranca-do-paciente-higienizacao-das-maos>>. Acesso em 10/11/2019.

British Pharmacopoeia Commission, General Medical Council (Great Britain), & Great Britain. **Medicines Commission**. (2001). British pharmacopoeia (Vol. 1). Her Majesty's Stationery Office.

CRONEMBERGER, P. R., PAULA, S. C., MEIRELLES, L. M. A. (2015). **Análise de sabonetes líquidos íntimos/analysis of intimate liquid soaps**. Saúde em Foco, 2(1), 49-59.

DAMATO, J.R.G. (2015) **Avaliação da eficácia antimicrobiana de sabonetes contendo: óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* versus triclosan versus clorexidina e o impacto na adesão a higienização das mãos pelo efeito aromaterápico** [Tese de Doutorado]. Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo.

GAULKE, CHRISTOPHER A. et al. **Triclosan Exposure Is Associated with Rapid Restructuring of the Microbiome in Adult Zebrafish**. *Plos One*, [s.l.], v. 11, n. 5, p.0154632, 18 maio 2016. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0154632>.

GIULIANO, Christopher A.; RYBAK, Michael J. **Efficacy of Triclosan as an Antimicrobial Hand Soap and Its Potential Impact on Antimicrobial Resistance: A Focused Review**. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, [s.l.], v. 35, n. 3, p.328-336, mar. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/phar.1553>.

HALDEN, Rolf U. et al. **The Florence Statement on Triclosan and Triclocarban**. *Environmental Health Perspectives*, [s.l.], v. 125, n. 6, p.0645011-06450113, 23 jun. 2017. Environmental Health Perspectives. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp1788>.

HALDEN, Rolf U. **On the Need and Speed of Regulating Triclosan and Triclocarban in the United States**. *Environmental Science & Technology*, [s.l.], v. 48, n. 7, p.3603-3611, 14 mar. 2014. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/es500495p>.

HELANDER, I. M., ALAKOMI, H.-L., LATVA-KALA, K., MATTILA-SANDHOLM, T., POL, I., SMID, E. J., et al. (1998). **Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46:9, 3590–3595.

HU, JIANZHONG et al. **Effect of postnatal low-dose exposure to environmental chemicals on the gut microbiome in a rodent model**. *Microbiome*, [s.l.], v. 4, n. 1, 14 jun. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40168-016-0173-2>.

NAZZARO, F., FRATIANNI, F., DE MARTINO, L., COPPOLA, R., AND DE FEO, V. (2013). **Effect of essential oils on pathogenic bacteria**. *Pharmaceuticals*. 6:12, 1451–1474. doi:10.3390/ph6121451.

NOSTRO, A., PAPALIA, T. (2012). **Antimicrobial activity of carvacrol: current progress and future prospectives**. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 7, 28-35.

ROTTER, M. L., **Hand Washing, hand disinfection, and skin disinfection**. (In) Wenzel, R. P. (Ed.). (1997). *Prevention and control of nosocomial infections*. Williams & Wilkins.

SCANDORIEIRO, S., CAMARGO L.C., CONTRERAS C.A, YAMADA-OGATTA S.F., NAKAMURA C.V, JUNIOR A.G.O., et al. **Synergistic and additive effect of oregano essential oil and biological silver nanoparticles against multidrug resistant bacterial strains**. *Frontiers in Microbiology* 2016; 7:760.

SYED, ADNAN K. et al. **Triclosan Promotes *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization**. *Mbio*, [s.l.], v. 5, n. 2, p.1-2, 8 abr. 2014. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/mbio.01015-13>.

TRAJANO, V. N. et al. **Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 29, n. 3, p. 542–545, 2009.

YUEH, Mei-fei; TUKEY, Robert H. **Triclosan: A Widespread Environmental Toxicant with Many Biological Effects**. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, [s.l.], v. 56, n. 1, p.251-272, 6 jan. 2016. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010715-103417>.

CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO SENSORIAL DO KEFIR TRADICIONAL E DERIVADOS

Data de aceite: 14/02/2020

Data de Submissão: 09/12/2019

Ana Carolina Resende Rodrigues

Fundação de Ensino de Contagem – Unidade
CENTEC
Contagem – MG

CV: <http://lattes.cnpq.br/9976195493086604>

Lucas Soares Bento

Fundação de Ensino de Contagem – Unidade
CENTEC
Contagem – MG

CV: <http://lattes.cnpq.br/1532224071812978>

Rodrigo Lobo Leite

Fundação de Ensino de Contagem – Unidade
CENTEC
Contagem – MG

CV: <http://lattes.cnpq.br/5215971781478751>

Jefferson Rodrigues

Fundação de Ensino de Contagem – Unidade
CENTEC
Contagem – MG

CV: <http://lattes.cnpq.br/4868677249759460>

esses alimentos são chamados de alimentos funcionais. Esses alimentos se caracterizam por oferecer vários benefícios à saúde, além do valor nutritivo inerente à sua composição química, podendo desempenhar um papel potencialmente benéfico na redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis. O grupo de alimentos funcionais que recebe grande destaque são os prebióticos e probióticos. Os de maior interesse no presente estudo são os probióticos, que possuem microrganismos vivos importantes na manutenção da flora intestinal e junto com uma alimentação saudável, promovem a saúde. Entre esses produtos, destacam-se os leites fermentados, que são resultantes da fermentação microbiológica do leite. O Kefir é um leite fermentado resultante da dupla fermentação do leite pelos grãos de kefir. De fácil preparo, apresenta consistência semelhante ao iogurte, sendo ligeiramente efervescente e espumoso. O presente estudo teve como objetivo caracterizar e avaliar o comportamento de diferentes populações de grãos de kefir e derivados, enquanto composição física-química e microbiológica, padronizando novos procedimentos em relação ao tipo de leite utilizado, ao tempo/temperatura de incubação, de maturação e de filtração e assim verificou-se a aceitabilidade dos grãos

RESUMO: Atualmente, os consumidores estão cada vez mais interessados e preocupados com a saúde, buscando alimentos mais saudáveis e que promovam o bem-estar,

de kefir e derivados pelos consumidores. Este teste de aceitabilidade foi realizado através de 20 voluntários escolhidos para degustar cada alimento e fazer sua avaliação acerca das características organolépticas dos mesmos. E de acordo com este teste se a amostra apresentar uma porcentagem maior ou igual a 85% de aprovação a preparação do alimento testado está adequado para o consumo e divulgação. Foram obtidos grãos de kefir de leite e de água para a realização do projeto.

PALAVRAS-CHAVE: Grãos de Kefir, Probióticos, Análise sensorial

CHARACTERIZATION AND SENSORY EVALUATION OF TRADITIONAL KEFIR AND DERIVATIVES

ABSTRACT: Today, consumers are increasingly interested and concerned about health, seeking healthier foods that promote well-being, these foods are called functional foods. These foods are characterized by offering various health benefits, in addition to the nutritional value inherent in its chemical composition, and may play a potentially beneficial role in reducing the risk of chronic non-communicable diseases. The functional food group that receives great prominence are prebiotics and probiotics. The most important living microorganisms in the maintenance of intestinal flora and together with healthy eating, promote health. Among these products, we highlight the fermented milks, which are resulting from the microbiological fermentation of milk. Kefir is fermented milk resulting from double fermentation of milk by kefir grains. Easy to prepare, it presents consistency similar to yogurt, being slightly effervescent and frothy. The present study aimed to characterize and evaluate the behavior of different kefir grain populations and derivatives, as physicochemical and microbiological composition, standardizing new procedures in relation to the type of milk used, at incubation time/temperature, maturation and filtration and thus verified the acceptability of kefir grains and derived by consumers. This acceptability test was performed through 20 volunteers chosen to taste each food and make their evaluation about their organoleptic characteristics. And according to this test if the sample has a percentage greater than or equal to 85% approval the preparation of the tested food is suitable for consumption and dissemination. Milk kefir and water grains were obtained to carry out the project.

KEYWORDS: Kefir Grains, Probiotics, Sensory Analysis

1 | INTRODUÇÃO

Atualmente, os consumidores estão cada vez mais interessados e preocupados com a saúde, buscando alimentos mais saudáveis e que promovam o bem-estar, esses alimentos são chamados de alimentos funcionais. (SANTOS, et all, 2012)

Os alimentos funcionais se caracterizam por oferecer vários benefícios à saúde, além do valor nutritivo inerente à sua composição química, podendo desempenhar

um papel potencialmente benéfico na redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis. (ALMEIDA, 2018)

O grupo de alimentos funcionais que recebe grande destaque são os prebióticos e probióticos. Prebióticos são carboidratos não digeríveis, também chamados de fibras dietéticas, que estimulam seletivamente a proliferação ou a atividade de populações de bactérias desejáveis no intestino. Já os probióticos são considerados como alimentos ou suplementos alimentares que contenham microrganismos vivos importantes na manutenção da flora intestinal e junto com uma alimentação saudável, promovem a saúde. Entre esses produtos, destacam-se os leites fermentados, que são resultantes da fermentação microbiológica do leite. (THAMER, 2018)

Kefir é um leite fermentado resultante da dupla fermentação do leite pelos grãos de kefir. De fácil preparo, apresenta consistência semelhante ao iogurte, sendo ligeiramente efervescente e espumoso.

O kefir é tradicionalmente produzido a partir do leite de vaca, ovelha, cabra ou búfala. Além destes, o leite de soja também pode ser utilizado para a produção do kefir (FARNWORTH, 2005). Outra opção é a utilização de água e açúcar mascavo, conhecida como kefir de água, consumida, principalmente, no México.

A partir do kefir, pode-se obter o soro de kefir e o leban. O leban é a parte sólida, obtida pela filtração do kefir. É considerado um produto leve e altamente digerível, com sabor e textura semelhantes ao queijo quark. O soro de kefir consiste na fase líquida obtida da mesma filtração, este pode ser aproveitado de diversas maneiras, desde o uso como matéria-prima na elaboração de bebidas lácteas, até a utilização de modernas tecnologias para obtenção de produtos específicos a serem utilizados, principalmente, pelas indústrias alimentícias. (CZAMANSKI, 2003)

OLIVEIRA et al., 2018, demonstraram que as bebidas fermentadas em diferentes meios por grão de Kefir, apresentam característica ácida com o pH entre 3,86 a 5,0, suas características físico-químicas apresentam semelhanças e demonstram alterar os valores de acordo com o substrato utilizado, podendo variar a quantidade de macro e micronutrientes oferecidos ao indivíduo quando consumido, além de suas ações probióticas.

Em razão desses fatores, o presente estudo tem por objetivo caracterizar e avaliar o comportamento de diferentes populações de grãos de kefir e derivados – kefir, kefir leban e soro de kefir –, enquanto composição físico-química e microbiológica, padronizando novos procedimentos em relação ao tipo de leite utilizado, ao tempo/temperatura de incubação, de maturação e de filtração e verificar a aceitabilidade dos grãos de kefir e derivados pelos consumidores.

Os alimentos funcionais são a nova tendência da indústria de alimentos, em consequência da comprovação científica das relações existentes entre estes

alimentos e saúde, sendo um ótimo tema a ser trabalhado e pesquisado. Além disso, mesmo existindo um mercado aberto para os alimentos funcionais, o kefir ainda é pouco conhecido no Brasil, com isso tem-se uma oportunidade de demonstrar sua importância e propriedades funcionais através de um projeto científico fazendo com que mais pessoas tenha acesso a este tipo de informação.

2 | OBJETIVOS

O kefir possui características probióticas que contêm microrganismos vivos importantes na manutenção da flora intestinal e, com uma alimentação saudável, promovem a saúde. Com base nisso, o presente estudo teve como principal objetivo caracterizar e avaliar o comportamento de diferentes populações de grãos de kefir e derivados – kefir, kefir leban e soro de kefir –, enquanto composição físico-química e microbiológica, padronizando novos procedimentos em relação ao tipo de leite utilizado, ao tempo/temperatura de incubação, de maturação e de filtração e verificar a aceitabilidade dos grãos de kefir bem como a fabricação de suco e patê a partir do Kefir.

3 | METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Microbiologia e Laboratório Físico-químico da FUNEC/CENTEC

a. Materiais

- Leite: para a preparação do kefir foi utilizado leite UHT integral;
- Água mineral;
- Açúcar mascavo;
- Grãos de kefir: os grãos de kefir desidratado foram obtidos no comércio local.

b. Ativação dos grãos de kefir

Os grãos de kefir de leite foram ativados em leite UHT integral, e em água mineral e açúcar mascavo, os de kefir de água. Ambos serão colocados em recipientes de vidro sem tampa. As culturas de kefir foram ativadas conforme recomendação do fabricante.

Para o kefir de leite, foi adicionado, inicialmente, 100 mL de leite, aumentando a quantidade quando necessário. Já para o kefir de água foi utilizado 300 mL de água mineral e duas colheres de sopa de açúcar mascavo. A ativação inicial ocorreu em estufa com temperatura controlada a 25 °C para as duas culturas; após

a ativação o cultivo foi realizado em temperatura ambiente. As trocas de leite e água foram realizadas todos os dias. Ambos os líquidos foram mantidos em temperatura ambiente.

c. Análise Sensorial

Foram escolhidos aleatoriamente 20 voluntários, acima de 15 anos, masculinos e femininos para a análise sensorial aplicando um questionário em relação à textura, aroma, sabor. A avaliação sensorial foi feita de acordo com o Manual de Testes de Aceitabilidade do Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE)

4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os alimentos utilizados na análise feitos à base de kefir de leite estão: vitaminas de morango, mamão e abacate, pudim de Leite Condensado e Broa de Fubá. No caso do kefir de água foi produzido apenas o Suco de Laranja. A ativação desses grãos foi feita em temperatura ambiente e as trocas de água e leite foram realizadas todos os dias.

Para a elaboração da bebida, UGALDE et all, 2018, utilizaram kefir de água, suco de laranja orgânico, açúcar mascavo e gengibre. Das pessoas que avaliaram a bebida, 53 % gostaram muito/muitíssimo do produto sendo que destas, 50 % certamente comprariam o mesmo.

MARCHI, PALEZI e PIETTA 2015 concluíram que a utilização do kefir para a elaboração de patê de kefir e atum é viável desde que não apresente sabores ou odores estranhos que venham a prejudicar suas características organolépticas

As figuras de 01 a 04 representam os produtos obtidos a partir do Kefir de leite e Kefir de água

Num primeiro momento foram produzidos apenas alimentos à base de kefir de leite, a partir de culturas com um tempo maior de fermentação, mais de 48 horas, o que resultou em um filtrado mais ácido e com um teor alcoólico mais elevado. Com isso o gosto dos alimentos feitos a partir desse filtrado ficaram mais azedos e não foram muito bem aceitos pelas pessoas. Somente o pudim foi aceito com uma aprovação de 95%, os demais alimentos ficaram abaixo da porcentagem determinada pelo teste de aceitabilidade (inferior a 85%).

ZERBIELLI, 2014 observou que bebida láctea obteve boa aceitação sensorial, mas foi observada uma diminuição nas notas da escala hedônica e intenção de consumo durante o período de estocagem, também constatada nesse trabalho.

Com base nesses resultados obtidos que não atenderam às expectativas foi feita uma adequação a esses alimentos, com isso uma nova degustação foi realizada com as vitaminas que foram as mais criticadas utilizando um filtrado com

um tempo de fermentação menor, 24 horas, além do suco de laranja feito à base de Kefir de água, com isso o sabor desses alimentos se tornou mais agradável e menos ácido, fator observado diante do novo quadro de resultados que indicou uma porcentagem superior aos 85% para todos os alimentos produzidos, o que demonstra no Gráfico 01.

WESCHENFELDER, 2011 ao fazer a análise sensorial e testes de aceitabilidade de amostras de antepastos produzidos a partir de kefir tiveram um resultado aceitável onde os antepastos apresentaram consistência cremosa, aroma característico, sabor ácido e boa espalhabilidade.



Figura 01 – Pudim de Leite Condensado à base de kefir de leite.

Fonte: Acervo pessoal. Junho de 2018



Figura 02 – Broa de Fubá à base de kefir de leite.

Fonte: Acervo pessoal. Junho de 2018



Figura 03 – Vitaminas à base de kefir de leite.

Fonte: Acervo pessoal. Junho de 2018



Figura 04 – Suco de Laranja à base de kefir de água.

Fonte: Acervo pessoal. Junho de 2018

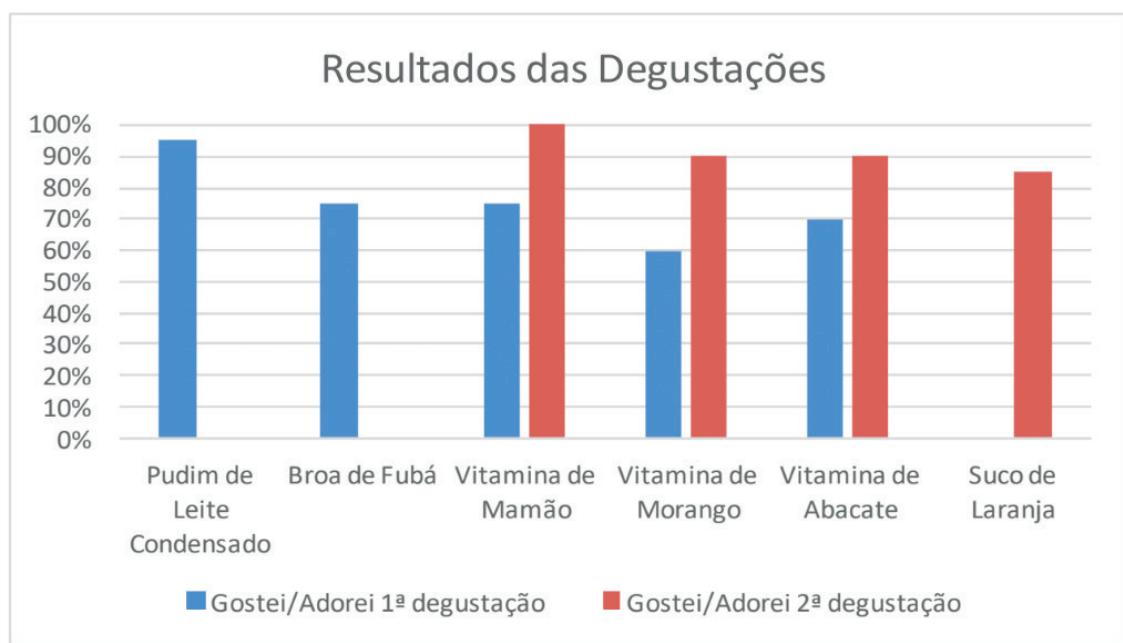


Gráfico 02 – Resultados das degustações dos produtos a base de kefir

Fonte: Acervo pessoal. Setembro de 2018

5 | CONCLUSÃO

Conclui-se que a utilização do kefir para a elaboração de tais alimentos é viável desde que não apresente sabores ou odores estranhos que venham prejudicar suas características organolépticas. Tais fatores podem ser evitados de acordo com o tempo de fermentação utilizado pelas culturas de kefir - como foi testado experimentalmente - e com base na composição microbiana dos grãos que varia conforme a região de origem, tempo de utilização, o substrato utilizado para a proliferação dos grãos e as técnicas e materiais usados em sua manipulação.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, Anna Paula Alves da Silva. **Utilização do Kefir e seus benefícios para a saúde. Revisão Integrativa.** 2018. 65 p. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal de Uberlândia da Faculdade de Medicina – FAMED. Uberlândia
- CZAMANSKI, Raquel Terezinha. **Avaliação da atividade antibacteriana de filtrados de Kefir artesanal.** 2003.102f Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre – RS.
- FARNWORTH, Edward R. **Kefir – a complex probiotic.** Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods, Reino Unido, v. 2, n.1, p. 1–17, 2005.
- SANTOS, FL, SILVA, EO; BARBOSA, AO; SILVA, JO - **Diálogos & Ciência. Online** ..., 2012 - ufrb.edu.br. Disponível .em: <https://www2.ufrb.edu.br/kefirdoreconcavo/images/22_03_12_artigo01.pdf>. Acesso em : Acessado em 02 de maio,2018
- Manual para aplicação dos testes de aceitabilidade no Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) /organizadoras Ana Luiza Sander Scarparo, Gabriela Rodrigues Bratkowski ; revisão e atualização CECANE UFRGS. - 2. ed. – Brasília, DF : Ministério da Educação, 2017.
- MARCHI, Luana de; PALEZI, Simone Canabarro; PIETTA, Giordana Maria. **Caracterização e avaliação do kefir tradicional e derivados.** Unoesc & Ciência - ACET Joaçaba, Edição Especial, p. 15-22, 2015.
- OLIVIERA, Taís Garcia de; KAWASHIMA, Luciane Mie; VERAS, Katherine Maria de Araújo. **Avaliação de bebida fermentada produzida por grãos de Kefir cultivados em diferentes meios.** Revista Científica UMC Edição Especial PIBIC, outubro 2018 .
- WESCHENFELDER, S. et al. **Caracterização Físico-Química e Sensorial de Kefir Tradicional e Derivados.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 63, n. 2, p. 473-480, 2011.
- ZERBIELLI, K. M. **Bebida láctea fermentada com cultura probiótica adicionada de semente de Chia (*Salvia hispanica* L.).** 2014. 66 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Londrina, PR, 2014.
- UGALDE, Mariane L.; BELLÉ, Barbara; GAMELLI, Diele M.; SANTOS, Shaiane da Silva dos Reis; BASTOS, Thiane; ZIEGLER, Valmor. **Bebida à base de Kefir de água.** 6º Simpósio de Segurança Alimentar. FAUFGS, Gramado, RS, 2018

DESESTABILIZAÇÃO DA EMULSÃO FORMADA DURANTE A EXTRAÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO DE GIRASSOL

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 25/11/2019

Denise Silva de Aquino

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Tecnologia
Umuarama – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/0947694523347968>

Dieny Fabian Romanholi

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Tecnologia
Umuarama – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/9301757434265572>

Camila da Silva

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Tecnologia
Umuarama – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/0151285357488920>

óleo emulsificado um dos principais desafios da extração aquosa. O objetivo do presente trabalho foi avaliar metodologias para a desemulsificação da emulsão formada na extração do óleo de girassol. A oleaginosa foi submetida aos tratamentos de alteração do pH e recuperação com etanol. Os tratamentos avaliados para desemulsificação se mostraram promissores e dentre os tratamentos o método com pH 5,0 obteve o maior rendimento em óleo, sendo este de 16,868% de óleo livre.

PALAVRAS-CHAVE: Extração aquosa, desemulsificação, óleo vegetal.

DESTABILIZATION OF THE EMULSION

FORMED DURING ENZYMATIC

EXTRACTION OF SUNFLWER OIL

ABSTRACT: Sunflower seed has high oil content. Sunflower oil is among five vegetable oils with highest production levels in the world. The enzymatic aqueous extraction of the vegetable oil is alternative technology and a methodology free of the organic solvent. Due to this extraction process occurring in aqueous medium, there is the formation of oil emulsion with water, and the oil emulsified recovery is one of the main challenges of aqueous extraction.

RESUMO: A semente de Girassol possui um alto teor de óleo e está entre os cinco óleos vegetais mais produzidos no mundo. A extração aquosa enzimática de óleos vegetais tem demonstrado ser uma tecnologia alternativa e um método de extração isento de solvente orgânico. Devido este processo de extração ocorrer em meio aquoso, há a formação da emulsão do óleo com a água, sendo a recuperação do

The objective of this work was to evaluate methodologies for the demulsification of the emulsion formed in the extraction of sunflower oil. Oilseeds were submitted to pH modification and treatments with ethanol. The treatments evaluated for demulsification were promising and among the treatments the method with pH 5.0 obtained the highest yield in oil, which was 16.868% of free oil.

PALAVRAS-CHAVE: Aqueous extraction, demulsification, vegetable oil.

1 | INTRODUÇÃO

O girassol (*Helianthus annus L.*) é uma das oleaginosas amplamente cultivada, devido a sua adaptabilidade a diferentes solos e condições climáticas (CASTRO; LEITE, 2018). Em 2018 a produção brasileira de girassol foi de aproximadamente 142 mil toneladas (CONAB, 2019).

O óleo de girassol está entre os cinco óleos vegetais mais produzidos no mundo. O óleo de girassol é o principal produto obtido desta oleaginosa, devido ao seu elevado teor na semente, cerca de 38 a 50% (massa seca) (CASTRO; LEITE, 2018).

A extração industrial de óleos vegetais é normalmente realizada por meio dos métodos de extração por solvente e/ou prensagem mecânica, porém dentre estes métodos a extração por solvente é o mais utilizado devido a sua elevada eficiência na remoção do óleo, aproximadamente 95% (LIU et al, 2016). O solvente utilizado comumente é o n-hexano, o qual apresenta elevada volatilidade, toxicidade e inflamabilidade. Além da necessidade de tratamento dos resíduos e a preocupação com descarte (RIBEIRO et al, 2016).

Em busca de processos menos prejudiciais ao meio ambiente, sem utilização de solventes tóxicos e inflamáveis, a extração de óleos vegetais pode ser substituída pela extração enzimática, um método sustentável e considerado um processo verde (CASTEJÓN; LUNA; SEÑORÁNS, 2018). A extração enzimática caracteriza-se por utilizar água como solvente e enzimas para hidrólise da parede celular. Desta forma, é necessário romper as paredes e membranas celulares da semente, por meio da hidrólise enzimática, para realizar liberação do óleo, que se encontra nos vacúolos intracelulares (LIU et al, 2016).

Na extração aquosa enzimática há a formação de três camadas: emulsão, fase aquosa e os sólidos. A camada de emulsão contém um elevado teor de óleo, a qual retém cerca de 55 a 82% do óleo total (MOURA et al., 2008). A emulsão é estabilizada por proteínas, fosfolipídios e carboidratos. Na semente de girassol está presente quatro tipos de proteína as albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas. Como a extração enzimática é realizada em meio aquoso, acredita-se que a albumina pode ser responsável pela emulsão formada, por ser uma proteína

solúvel em água (Perez; Vereijken, 2007; MALIK; SAINI, 2019).

Para obter um elevado teor de óleo esta camada de emulsão deve ser desmanchada para que o óleo aprisionado seja liberado o que torna uma das etapas mais complexa do método enzimático (MORALES et al., 2008). Na literatura há diversas metodologias para desestabilizar a emulsão formada e desta forma recuperar o óleo extraído. Dentre estas metodologias há alteração do pH do meio após a extração (CHABRAND; GLATZ, 2009) e recuperação do óleo com solvente orgânico (FANG et al., 2015).

O presente trabalho teve como objetivo a comparação dos métodos de desemulsificação para obtenção de óleo livre proveniente da extração enzimática da semente de girassol. Para isso foi utilizado os métodos com alteração do pH e recuperação do óleo com etanol.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Extração enzimática de óleo de girassol

As partículas da oleaginosa trituras e classificadas com diâmetro médio de 0,725 mm, foram adicionadas na razão mássica de 1:5 em água destilada contidas em frasco Erlenmeyer de 250 mL e o pH da solução foi ajustado para 4.5. Em seguida, foi adicionada 1% (v/v) da enzima celulase Celluclast 1,5L cedida gentilmente pela empresa LNF Latino Americana, e os frascos foram incubados a 180 rpm por 4 horas a 50 °C.

2.2 Métodos de Desemulsificação

Após a extração enzimática, os pH das suspensões foram ajustados para 4, 5, 6 e 9 e incubados por 1 hora, a 180 rpm e a 25°C. As soluções foram centrifugadas a 2.000 rpm por 20 minutos e o óleo livre foi retirado com auxílio da pipeta Pasteur e incubado em estufa a 105°C para remoção da água presente até obter peso constante.

2.3 Recuperação com etanol

A recuperação do óleo com solvente consistiu na adição de diferentes concentrações de etanol 20, 40 e 60% (volume de solvente por massa de emulsão). A amostra foi incubada a 25°C, 180 rpm por 1 hora. Após, a amostra foi centrifugada a 2.000 rpm por 20 minutos. A fase oleosa foi retirada com auxílio de uma pipeta Pasteur pesada e incubada em estufa a 105°C para remoção da água e do etanol presente até obter peso constante

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliadas duas metodologias para desestabilizar a emulsão formada durante a extração enzimática do óleo de girassol, essas foram realizadas em triplicata tendo as suas médias apresentadas na Figura 01.

Com os resultados obtidos em cada tratamento foi verificado que o pH 5,0 e 9,0 obtiveram os maiores valores de rendimento em óleo livre $16,868\% \pm 1,080$ e $12,069\% \pm 1,043$, respectivamente. Este resultado pode ser pelo fato destes valores estarem próximo aos pontos isoelétricos das albuminas responsáveis pela estabilidade da emulsão. No girassol há a albumina rica e pobre em metionina, as quais possuem pontos isoelétricos de 5,6 e 8,8, respectivamente (PEREZ & VEREJKEN, 2007). A proteína no seu ponto isoelétrico possui carga elétrica nula e desta forma não é solúvel no meio, sendo assim tende a precipitar e o óleo é liberado (MALIK & SAINI, 2019). Além disso, aplicando o pH próximo ao ponto isoelétrico da proteína faz com que ocorra a diminuição da repulsão eletrostática entre as gotículas de óleo. Desta forma, a coalescência entre as gotículas aumentam formando gotículas maiores e é possível obter o óleo livre (LIU et al, 2016).

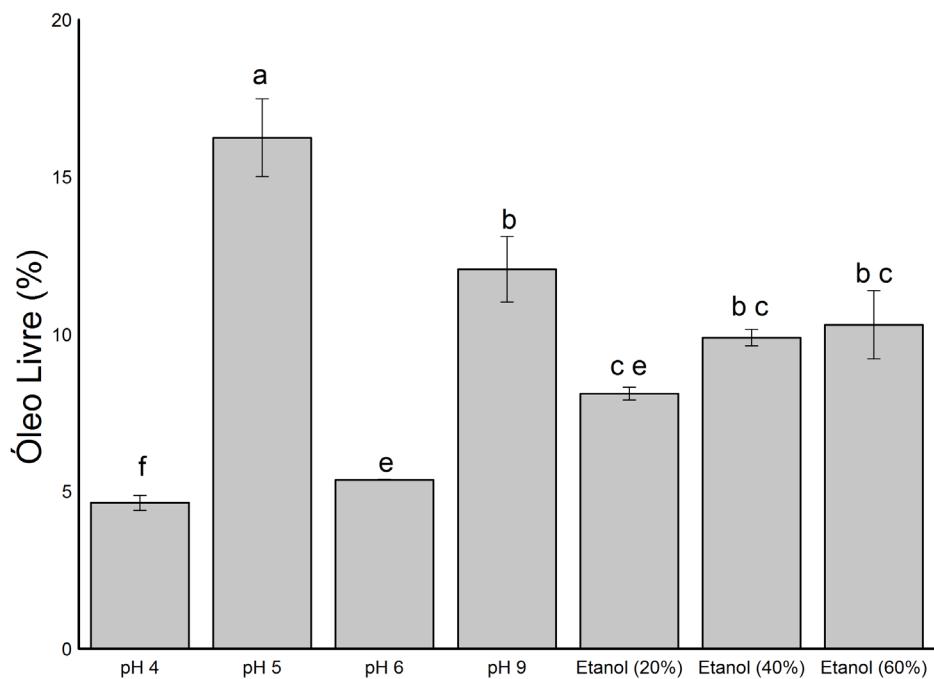


Figura 01 Rendimento em óleo livre obtido pelas metodologias de desemulsificação. Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Wu, Johnson e Jung (2009) e Chabrand e Glatz (2009) atingiram o maior rendimento na recuperação do óleo de soja extraído pelo método enzimático quando utilizou o pH 4,5 o qual é o ponto isoelétrico da proteína da soja responsável pela estabilidade da emulsão. Fang e Moreau (2014), avaliaram diferentes valores de pH para quebra a emulsão formada na extração enzimática de óleo gérmen de trigo.

O melhor rendimento foi obtido com pH 4,0 e 5,0, os quais acreditam que o ponto isoelettrico da proteína que estabiliza a emulsão deste material estaria nesta faixa.

O tratamento com etanol atingiu um rendimento em óleo livre relevante, pois de acordo com o teste de Tukey os valores do rendimento de óleo livre obtido com as concentrações de etanol de 40 e 60 % (v/m) não apresentaram diferença significativa comparado com o rendimento em óleo livre atingido com o pH 9,0 (Figura 01). O etanol é utilizado para desestabilizar proteínas, causando a desnaturação e precipitação da mesma. Como a proteína precipita o óleo é liberado da emulsão. (LIU et al., 2016). Li et al. (2014), utilizaram etanol para recuperação do óleo de soja emulsionado oriundo da extração enzimática. Neste trabalho, obtiveram 60% do total de óleo presente na soja com uma concentração de etanol de 70%, porém observaram que a emulsão não foi completamente desmanchada. Fang et al., (2015) realizaram a desemulsificação com etanol do óleo de semente de Camélia obtido por extração enzimática e obtiveram uma teor de óleo livre de 35,7% com a concentração de etanol de 20%. Na semente da Camélia a estabilidade da emulsão é realizada por proteínas e saponinas, fato que poderia explicar a baixa concentração de etanol na desemulsificação do óleo de Camélia.

4 | CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos mostram que o tratamento desemulsificação proveniente da extração enzimática do óleo de girassol que obteve melhor resultado na liberação do óleo retido na emulsão foi o tratamento de realizado com pH 5,0. Além do método de recuperação do óleo com pH, o tratamento com etanol também apresentou resultados favoráveis no rendimento do óleo livre.

REFERÊNCIAS

- CASTEJÓN, N., LUNA, P., SEÑORÁNS, F. J. Alternative oil extraction methods from *Echium plantagineum* L. seeds using advanced techniques and green solvents. **Food Chemistry**, v. 244, p. 75-82, 2018.
- CASTRO, C.; LEITE, R. M. V. B. C. Main aspects of sunflower production in Brazil. **Oilseeds & fats Crops and Lipids**, v. 25, n. 1, D104, 2018.
- CHABRAND, R. M.; GLATZ, C. E. Destabilization of the emulsion formed during the enzyme-assisted aqueous extraction of oil from soybean flour. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 45, p. 28–35, 2009.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. 2019. **Boletim dos grãos de Junho**. Brasília: Conab.
- FANG, X.; MOREAU, R. A. Extraction and Demulsification of Oil From Wheat Germ, Barley Germ, and Rice Bran Using an Aqueous Enzymatic Method. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.

91, p. 1261–1268, 2014.

FANG, X., FEI X., SUN H., JIN Y. Aqueous enzymatic extraction and demulsification of camellia seed oil (*Camellia oleifera* Abel.) and the oil's physicochemical properties. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, p. 244-251, 2015.

LAMSAL, B., JOHNSN, L. A. Separating oil from aqueous extraction fractions of soybean. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 84, p. 785-792, 2007.

LI, Y., SUI, X., QI, B., ZHANG, Y., FENG, H., ZHANG, Y., JIANG, L., & WANG, T. Optimization of Ethanol-Ultrasound-Assisted Destabilization of a Cream Recovered from Enzymatic Extraction of Soybean Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, p. 159-168, 2014.

LIU, J. J.; GASMALLA, M. A. A.; LI, P.; YANG, R. Enzyme-assisted extraction processing from oilseeds: Principle, processing and application. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 35, p. 184-193, 2016.

MALIK, M. A., SAINI, C. S. Heat treatment of sunflower protein isolates near isoelectric point: Effect on rheological and structural properties. **Food Chemistry**, v. 276, p. 554 – 561, 2019.

MORALES, C. R., KIM, H. J., ZHANG, C., GLATZ, C. & JUNG, S. Destabilization of the emulsion formed during aqueous extraction of soybean oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 85, 383–390, 2008.

MOURA, J., CAMPBEL, K., MAHFUZ, A., JUNG, S., GLATZ, C., & JOHNSON, L. A. Enzyme-assisted aqueous extraction of oil and protein from soybeans and cream de emulsification. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 85, p. 985 – 995, 2008.

PEREZ, G. S., VEREJKEN, M. J. Sunflower proteins: overview of their physicochemical, structural and functional properties. **Journal of Food and Agriculture**, v. 87, p. 2173 – 2191, 2007.

RIBEIRO, S. A. O., NICACIO, A. E., ZANQUI, A. B., BIONDO, P. B. F., ABREU, B. A. A., SINEIRO, J., DOMINGUEZ, H., NUNEZ, M. J., LEMA, M. J. Application of Enzymes in Sunflower Oil Extraction: Antioxidant Capacity and Lipophilic Bioactive Composition. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 27, p. 834-840, 2016.

WU, J.; JOHNSON, L., JUNG, S. Demulsification of oil-rich emulsion from enzyme assisted aqueous extraction of extruded soybean flakes. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 2, p. 527–533, 2009.

EFEITO ALELOPÁTICO DO EXTRATO AQUOSO DE GIRASSOL SOBRE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO E CORDA DE VIOLA

Data de aceite: 14/02/2020

Ana Carolina Perez de Carvalho dos Santos

Centro Superior de Ensino e Pesquisa de
Machado

Machado – Minas Gerais

Giselle Prado Brigante

Centro Superior de Ensino e Pesquisa de
Machado

Machado – MG

Hebe Perez de Carvalho

Instituto Federal de Educação, Ciência
e Tecnologia do Sul de Minas - Campus
Inconfidentes

Inconfidentes – MG

RESUMO: Objetivou-se com a presente pesquisa avaliar o efeito alelopático do ácido clorogênico presente no extrato aquoso de girassol sobre a qualidade fisiológica das sementes de milho (*Zea mays L.*) e corda de viola (*Ipomoea purpurea (L.)*). Tanto para milho como para corda de viola os substratos foram umedecidos com o extrato aquoso de folhas de girassol na quantidade de 2,5 vezes massa do papel. As concentrações do extrato utilizadas foram as seguintes: 20 g L⁻¹, 40 g L⁻¹, 60 g L⁻¹, 80 g L⁻¹ e 100 g L⁻¹ como testemunha foi utilizada água destilada (0 g L⁻¹), totalizando 6

tratamentos com 4 repetições. Para sementes de milho foi utilizado, como substrato, o rolo de papel toalha “germitest” e para sementes de corda de viola foi utilizado papel mata-borrão, em caixas plásticas do tipo “gerbox”. Foram avaliadas as seguintes características para sementes de milho: germinação e vigor pelo Índice de Velocidade de Germinação-IVG, pelo desempenho de plântulas, comprimento de radícula e comprimento de plântulas. Para sementes de corda de viola avaliou-se germinação e o vigor pelos testes de primeira contagem e Índice de Velocidade de Germinação-IVG. O ácido clorogênico presente no extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol não afeta a germinação e índice de velocidade de germinação das sementes de milho híbrido SHA4070. Entretanto, o desempenho de plântulas pelo comprimento de radícula e comprimento de plântulas é afetado quando se utiliza o extrato na concentração de 100 g L⁻¹. A germinação e vigor pela primeira contagem e pelo índice de velocidade de germinação de sementes de corda de viola, são afetados pelo ácido clorogênico presente no extrato de folhas e pecíolos de girassol, sendo que, quanto maior a concentração do extrato maior o efeito alelopático.

PALAVRAS-CHAVE:

Aleloquímicos;

viabilidade; sementes.

ALELOPATHIC EFFECT OF WATER SUNFLOWER EXTRACT ON GERMINATION OF CORN AND ROPE SEED SEEDS

ABSTRACT: The objective of this research was to evaluate the allelopathic effect of chlorogenic acid present in aqueous sunflower extract on the physiological quality of corn (*Zea mays L.*) and viola string (*Ipomoea purpurea (L.)* seeds. corn as for viola string the substrates were moistened with aqueous extract of sunflower leaves in the amount of 2.5 times paper mass. The concentrations of the extract used were as follows: 20 g L-1, 40 g L-1, 60 g L-1, 80 g L-1 and 100 g L-1 as a control, distilled water (0 g L-1) was used, totaling 6 treatments with 4 repetitions. germitest paper towel and viola string seeds were used blotter paper in gerbox plastic boxes The following characteristics were evaluated for corn seeds: germination and vigor by the Germination Speed Index-IVG , by seedling performance, compress radicle length and seedling length. For viola string seeds germination and vigor were evaluated by the first count and Germination Speed Index-IVG tests. Chlorogenic acid present in aqueous extract of sunflower leaves and petioles does not affect the twinning and germination speed index of SHA4070 hybrid seeds and corn. However, seedling performance by root length and seedling length is affected when the extract is used at a concentration of 100 g L-1. The germination and vigor by the first count and the germination speed index of viola string seeds are affected by the chlorogenic acid present in the sunflower leaf and petiole extract. The higher the concentration of the extract the greater the allelopathic effect.

KEYWORDS: Allelochemicals; viability; seeds.

1 | INTRODUÇÃO

O girassol (*Helianthus annuus L.*) é uma oleaginosa de ampla adaptabilidade às diferentes condições edafoclimáticas, cujo rendimento agrícola é pouco influenciado pela latitude, altitude e fotoperíodo (CASTRO; CASTIGLIONI; BALLA, 1993).

O seu cultivo é estratégico para rotação e sucessão de culturas nas regiões produtoras de grãos. A maior tolerância à seca, a menor incidência de doenças e pragas, além da ciclagem de nutrientes são fatores que tem possibilitado sua expansão nos sistemas de produção.

A composição química do grão de girassol depende do genótipo da planta, tratos culturais, condições climáticas, posição das sementes no capítulo e outros fatores do ambiente. Dentre os óleos vegetais, o óleo de girassol destaca-se por suas excelentes características físico-químicas e nutricionais e medicinais (GIADA, 2005).

O girassol possui também compostos fenólicos como os ácidos clorogênico, caféico e quílico. Além destes, há também outros compostos em menores concentrações (REYES et al., 1985). O teor de ácido clorogênico do girassol varia conforme a cultivar e em média a semente contém cerca de 2% e a farinha integral 3% (REGITANOD'ARCE; LIMA, 1987).

Os compostos fenólicos presentes no girassol, como ácido clorogênico conferem a esta característica alelopáticas. Quanto ao modo de ação, as substâncias alelopáticas podem agir sobre o crescimento, desenvolvimento e na germinação de sementes de muitas espécies, tanto cultivadas como plantas daninhas.

A alelopatia é definida como qualquer efeito causado, direta ou indiretamente, por um organismo doador sobre outro receptor, através da liberação no ambiente de produtos químicos elaborados pelo doador. De acordo com Rice, citado por Oliveira e Brightenti (2018), a alelopatia pode ocorrer entre microrganismos, entre microrganismos e plantas, entre plantas cultivadas, entre plantas daninhas e, entre plantas daninhas e plantas cultivadas.

As substâncias alelopáticas, denominadas também por aleloquímicos, são geralmente derivadas do metabolismo secundário e pertencem a grupos químicos bem diversificados (OLIVEIRA; BRIGHENTI, 2018).

Segundo Rezende, Massola Júnior e Bebento (2018), os compostos alelopáticos são relativamente não específicos na sua ação, podendo afetar diferentes espécies de plantas e estar envolvidos na defesa das plantas contra ataque de microrganismos e insetos, como os compostos fenólicos, por exemplo. Ácidos fenólicos, coumarinas, terpenóides, flavonoides, alcaloides, glicosídios, taninos e quinonas estão entre os mais comuns grupos de substâncias com características alelopáticas.

Estes produtos entram no ambiente por diversas maneiras. Compostos aromáticos podem volatilizar-se das folhas, caules ou flores. Compostos tóxicos solúveis em água podem ser lixiviados a partir de raízes ou parte aérea das plantas. Outros produtos podem ser encontrados na serrapilheira e ser removidos por lixiviação ou ser formados pela ação de microrganismos que atuam na decomposição da matéria orgânica vegetal. Uma vez liberados no ambiente, estes produtos poderão inibir a germinação das sementes ou inibir o crescimento das plantas presentes naquele local.

Esses metabólitos podem ter um papel muito importante no desenvolvimento de agroecossistemas mais sustentáveis, especialmente para reduzir a necessidade de utilizar agroquímicos com custo elevado e que podem representar uma ameaça à saúde humana e ao equilíbrio ambiental. Em sistema de plantas cultivadas, algumas espécies já têm sido estudadas com essa finalidade, como soja, sorgo, girassol e espécies de eucalipto (CORSATO et al. 2010; OLIVEIRA; BRIGHENTI,

2018; RIBEIRO et al., 2016).

O girassol é uma espécie conhecida por apresentar elevada produção de aleloquímicos, principalmente compostos fenólicos como os ácidos clorogênico, caféico e quínico, sendo os dois últimos provenientes da hidrolise do primeiro. O teor de ácido clorogênico, caféico e quínico varia de acordo com diversos fatores, tais como a posição das sementes nos capítulos das flores, o tempo de estocagem, a variedade, e o estádio de maturação. Segundo Dorrel, citado por Giada (2005), o ácido clorogênico é o principal composto fenólico presente nas sementes de girassol, variando sua concentração entre 1,1 e 4,5%, com uma média de 2,8%. Os compostos fenólicos são essenciais para a fisiologia e metabolismo celular estando envolvido em várias funções na planta, tais como: propriedades sensoriais, estrutura, polinização, resistência a pragas, predadores e processos germinativos da semente pós-colheita bem como crescimento, desenvolvimento e reprodução, entre outros (GIADA, 2005).

Pasqualeto et al. (2007) verificou, em estudos desenvolvidos no campo, que espécies vegetais infestantes à cultura de soja, podem ser reduzidas quando o girassol for cultivado antes da soja e concluiu que esta redução pode ter ocorrido pela interferência física ou alelopática desenvolvida pela palhada do girassol deixada sobre o solo.

As plantas de girassol exercem efeito alelopático sobre outras espécies vegetais, inibindo o crescimento de mostarda (*Sinapis alba* L.), trigo (*Triticum* spp.) e plantas daninhas dependendo da variedade e da concentração das substâncias alelopáticas presentes (BHOWMIK; INDERJIT, 2003).

De acordo com Silva (2009), o girassol apresentou efeito inibitório sobre o crescimento das plantas de picão preto, trigo e corda de viola, correspondente a, respectivamente, 42%, 47% e 28%, em relação aos tratamentos sem a presença dessa espécie.

Corsato et al. (2010) relatam que o girassol apresenta efeito inibidor sobre as sementes de picão preto, pois o extrato aquoso na concentração a partir de 40% inibiu a germinação desta espécie.

Os mecanismos responsáveis pelos efeitos alelopáticos não são bem conhecidos, porém provavelmente ocorrem porque o girassol é fonte de compostos fenólicos, principalmente o ácido clorogênico entre outros compostos com atividade biológica, que se apresentam em concentrações variáveis entre os genótipos.

Objetivou-se com a presente pesquisa avaliar o efeito alelopático do ácido clorogênico presente no extrato aquoso de girassol sobre a qualidade fisiológica das sementes de milho (*Zea mays* L.) e corda de viola (*Ipomoea purpurea* (L.)).

2 | MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Sementes do Centro Superior de Ensino e Pesquisa de Machado, Machado – MG. Foi avaliado o efeito alelopático de diferentes concentrações do extrato aquoso de girassol sobre a germinação e vigor de sementes do milho híbrido SHS4070, safra 2019/2019, categoria C1, tratada com os ingredientes ativos deltametrina, pirimifós-metilico, carbedazim 15%, tiram 35%, metalaxil-M 2%, Tiabendazol 15%, Fludioxonil 2,5% e sementes de corda de viola (*Ipomoea purpurea* L.).

Os experimentos foram instalados separadamente para sementes de milho e corda de viola. Para sementes de milho foi utilizado, como substrato, o rolo de papel toalha “germitest” e para sementes de corda de viola foi utilizado, como substrato, o papel mata-borrão, em caixas plásticas do tipo “gerbox”. Tanto para milho como para corda de viola os substratos foram umedecidos com o extrato aquoso de folhas de girassol na quantidade de 2,5 vezes massa do papel. Os tratamentos utilizados foram as concentrações de extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol nas seguintes, proporções 20 g L^{-1} , 40 g L^{-1} , 60 g L^{-1} , 80 g L^{-1} e 100 g L^{-1} como testemunha foi utilizada água destilada (0 g L^{-1}), totalizando 6 tratamentos.

O delineamento experimental utilizado, tanto para sementes de milho como para sementes de corda de viola, foi o inteiramente casualizado com 6 tratamentos e 4 repetições. Os tratamentos foram constituídos por diferentes concentrações do extrato aquoso de girassol, obtido de folhas e pecíolos, nas concentrações de 0 (Controle), 20 g L^{-1} , 40 g L^{-1} , 60 g L^{-1} e 100 g L^{-1} .

2.1 Obtenção do extrato aquoso de girassol

Os extratos aquosos de *H. annuus* foram obtidos a partir de folhas e pecíolos de plantas coletadas em campo de produção de girassol e desidratadas em temperatura ambiente. Para a obtenção dos extratos as folhas e pecíolos foram fragmentados e triturados em liquidificador, com adição de água destilada, nas seguintes proporções 20 g L^{-1} , 40 g L^{-1} , 60 g L^{-1} , 80 g L^{-1} e 100 g L^{-1} .

Após o preparo dos extratos estes foram acondicionados em vidro escuro, tipo âmbar e armazenados em geladeira por 24h. Na montagem dos experimentos os extratos foram filtrados em filtro de papel e, posteriormente, utilizados para umedecer o substrato.

2.2 Características avaliadas

Foram avaliadas as seguintes características para sementes de milho híbrido SHS4070: germinação e vigor pelos testes do Índice de Velocidade de Germinação-IVG e desempenho de plântulas pelo comprimento de radícula e comprimento de

plântulas. Para sementes de corda de viola (*Ipomoea purpurea*) foram avaliadas: germinação, vigor pela primeira contagem de germinação e Índice de Velocidade de Germinação- IVG.

2.2.1 Germinação e vigor pelo Índice de Velocidade de Germinação-IVG e pelo Desenvolvimento de Plântulas para sementes de milho

Para instalação do teste de germinação foram utilizadas 8 subamostras com 25 sementes cada por rolo de papel toalha, totalizando 200 sementes por tratamento. Após semeadura os rolos de papel foram mantidos em germinador a 25 °C, com iluminação constante, por um período de 7 dias.

As avaliações foram iniciadas 24h após semeadura. Diariamente foram realizadas contagens do número de sementes germinadas para cálculo do índice de velocidade de germinação com término no sétimo dia após semeadura. Foram consideradas sementes germinadas aquelas que apresentavam 2 mm de protrusão radicular. A germinação foi realizada no sétimo dia após semeadura. Foram computadas as plântulas normais, sendo os resultados expressos em porcentagem de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Para o cálculo do índice de velocidade de germinação foi empregada à fórmula proposta por Maguire (1962) onde: $IVG = G1/N1+G2/N2+G3/N3+...+Gn/Nn$ sendo, G= número de sementes germinadas e N= número de dias da semeadura, da primeira até a última contagem.

Após o teste de germinação, foi determinado o vigor pelo desempenho de plântulas. As plântulas normais obtidas do teste de germinação foram mensuradas quanto ao tamanho da radícula e comprimento de plântulas em centímetro com auxílio de um paquímetro (KRZYZANOWSKI, 1991).

2.2.2 Germinação, vigor pela Primeira Contagem e Índice de Velocidade de Germinação para sementes de corda de viola

Para a instalação do teste de germinação foram utilizadas 4 subamostras com 50 sementes cada, por caixa plástica tipo “gerbox”, totalizando 200 sementes por tratamento. Antes da semeadura foi realizada escarificação das sementes pelo método de lixa de acordo com o recomendado pelas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Após semeadura as caixas plásticas foram mantidas em germinador a 20 °C, com iluminação constante, por um período de 21 dias.

As avaliações foram iniciadas 24h após semeadura. Diariamente foram realizadas contagens do número de sementes germinadas para cálculo do Índice de Velocidade de Germinação com término no vigésimo primeiro dia após semeadura.

Foram consideradas sementes germinadas aquelas que apresentarem 2 mm de protrusão radicular. A primeira contagem de germinação foi realizada, no sétimo dia após semeadura e, a germinação no vigésimo primeiro dia após semeadura. Foram computadas as plântulas normais, anormais e sementes mortas, sendo os resultados expressos em porcentagem de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Para o cálculo do índice de velocidade de germinação foi empregada à fórmula proposta por Maguire (1962) como realizado para sementes de milho.

A análise estatística dos experimentos, com milho e com corda de viola, foi realizada utilizando-se o software Sisvar® (FERREIRA, 2011). As variáveis significativas no teste F foram submetidas à análise de regressão para comparação das diferentes concentrações do extrato aquoso de folhas de girassol.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resumos das análises de variância para os testes de germinação e vigor pelo índice de velocidade de germinação, comprimento de radícula e comprimento de plântulas, para sementes de milho híbrido SHS4070 submetidos a diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol estão apresentados na Tabela 1.

FV	GL	QM			
		Germinação	IVG	CR	CP
Concentração extrato	5	2,166667 ^{NS}	0,150000 ^{NS}	2,00558*	2,3874*
Repetição	3	0,611111 ^{ns}	0,027778 ^{ns}	0,117682 ^{ns}	0,2801 ^{ns}
Erro	15	1,811111	0,111111	0,06294	0,1194
CV(%)		1,36	1,35	1,32	1,02

Tabela 1 - Resumo da análise de variância (quadrados médios) para os resultados dos testes de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de radícula (CR) e comprimento de plântulas (CP) de sementes de milho híbrido SHS4070 submetidas a diferentes concentrações de extrato de folhas e pecíolos de girassol.

ns não significativo, * significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

Verificou-se que o teste F não foi significativo para germinação e vigor pelo índice de velocidade de germinação, demonstrando que os tratamentos não diferiram estatisticamente entre si ao nível de significância de 5%. Isso indica que o ácido clorogênico presente no extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol não afetou a germinação e o vigor pelo índice de velocidade de germinação das sementes de milho em nenhuma das concentrações testadas. Já para o vigor pelo desempenho de plântulas, comprimento de radícula e comprimento de plântulas, verificou-se que

o teste F foi significativo ao nível de 5% de probabilidade, indicando que o ácido clorogênico presente no extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol afetou o desenvolvimento das plântulas.

Para sementes de corda de viola verifica-se pelo resumo das análises de variância, Tabela 2 que houve diferença significativa entre as diferentes concentrações do extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol ao nível de 5% de significância para germinação, vigor pela primeira contagem e índice de velocidade de germinação.

FV	GL	QM				IVG	
		1 ^a CG (%)		G (%)			
		PN	PA	PN	PA		
Concentração extratos	5	2251,47 *	1826, 97*	910,00*	641,38*	18,27*	
Repetição	3	53,56 ^{ns}	40,62 ^{ns}	43,11 ^{ns}	95,15 ^{ns}	0,47 ^{ns}	
Erro	15	40,35	38,61	12,31	14,17	0,27	
CV(%)		13,01	13,48	35,09	4,52	2,63	

Tabela 2 - Resumo da análise de variância (quadrados médios) para os resultados do teste de Primeira Contagem de Germinação (1^a CG%), Germinação (G%) de Plântulas Normais (PN) e Plântulas Anormais (PA) e Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de corda de viola submetidas a diferentes concentrações de extrato de folhas e pecíolos de girassol.

ns não significativo, * significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

3.3 Germinação, vigor pelo Índice de Velocidade de Germinação – IVG e desenvolvimento de plântulas de sementes de milho submetidas às diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol

Vários estudos tem demonstrado a atividade alelopática inibitória do ácido clorogênico presente no extrato aquoso de girassol sobre espécies vegetais cultivadas, dependendo da concentração utilizada. Ribeiro et al. (2016) verificaram que o extrato aquoso de folhas e caule em concentrações acima de 25% reduzem a germinação e vigor de sorgo. Já Corsato et al. (2010) relataram que o extrato aquoso de folhas de girassol afetou a germinação de sementes de soja CD232 Convencional e CD213 RR, quando aplicado nas concentrações de 60, 80 e 100%.

Entretanto, no presente estudo não foi verificada atividade alelopática sobre germinação e vigor pelo índice de velocidade de germinação de sementes de milho híbrido SHS4070 (Tabela 1). Esse fato pode ser explicado por estudo de Ferreira e Aquila (2000), os quais relatam que as substâncias alelopáticas podem agir de diferentes formas de acordo com a espécie testada, sendo que o processo de germinação é menos sensível à ação dos aleloquímicos do que o crescimento das plântulas. Segundo Correia et al. (2005), o sítio de ação do aleloquímico pode não estar relacionado à inibição da divisão celular do eixo embrionário, o que resulta na

ausência de efeito sobre a germinação de sementes. Dessa forma, a bioatividade de extratos aquosos estaria condicionada à capacidade de absorção, translocação e mecanismo de ação dos seus compostos potencialmente inibitórios.

De acordo com Tokura e Nóbrega (2005), extratos de colza, milheto, nabo, trigo e aveia não influenciaram a germinação de sementes de milho, independente da concentração utilizada. Pereira et al. (2011) verificaram que diferentes densidades de massa seca de capim-colchão não afetaram a emergência e o índice de velocidade de emergência de plantas de milho.

Para o vigor pelo desempenho de plântulas, comprimento de radícula e comprimento de plântulas, a análise de regressão ajustou o modelo cúbico de acordo com a Figura 1A e 1B. Observou-se que o extrato de folhas e pecíolos de girassol afetou o comprimento da radícula e das plântulas quando foi utilizado na concentração de 100 g L⁻¹.

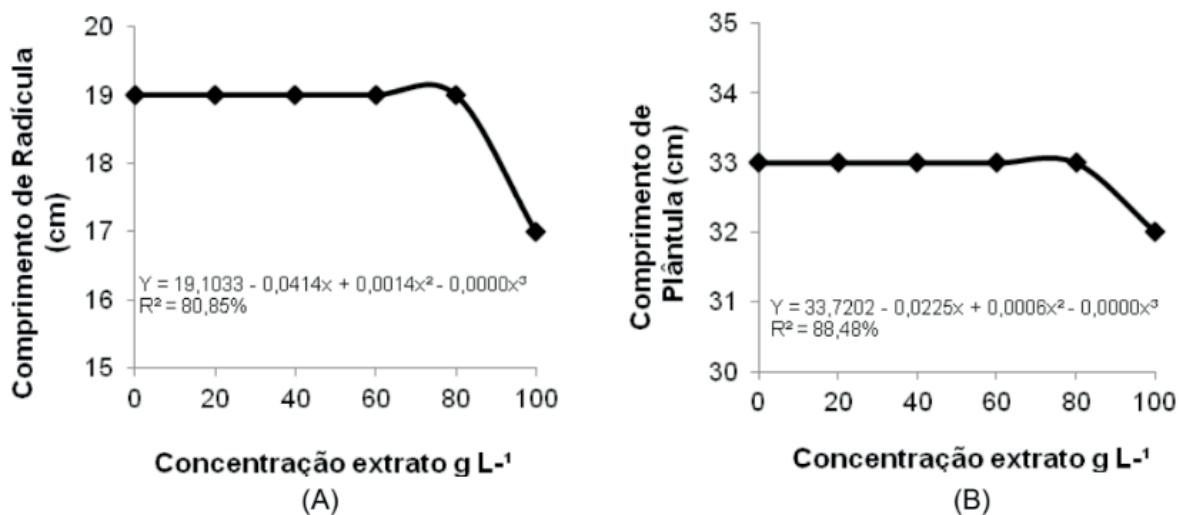


Figura 1. Vigor pelo desempenho de plântulas, comprimento de radícula (A) e comprimento de plântula (B) de milho obtidas de sementes de milho híbrido SHS4070 submetidas a diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol.

Tokura e Nóbrega (2005) verificaram que os extratos de colza, milheto, nabo, trigo e aveia não inibiram a germinação de sementes de milho, no entanto, o crescimento da radícula e parte aérea foi inibido, principalmente nas maiores concentrações dos extratos. Em experimento realizado por Roncatto e Viecelli (2009), a utilização de resíduos de diferentes partes do girassol reduziu o comprimento de raiz e comprimento da parte aérea de híbridos de milho nas maiores concentrações testadas.

Mesmo com a redução do comprimento da radícula e comprimento de plântulas de milho, deve-se levar em consideração que esta redução ocorreu em concentração elevada, ou seja, 100 g L⁻¹ e em condições de laboratório. No campo a intensidade deste efeito pode variar, pois a presença da microbiota do solo

pode promover a degradação das substâncias liberadas pelos resíduos vegetais, reduzindo sua concentração no meio e não afetando o desenvolvimento das plantas de milho.

3.4 Germinação e vigor pela Primeira contagem e Índice de Velocidade de Germinação de sementes de corda de viola submetidas as diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol

Nos resultados do vigor pela primeira contagem de germinação realizado aos sete dias após semeadura foi possível quantificar as plântulas normais e anormais presentes nos substratos umedecidos com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol. Foi verificado durante a avaliação que algumas plântulas apresentavam a ponta da radícula necrosada, sendo estas consideradas plântulas anormais.

Os resultados da regressão do teste de primeira contagem de germinação, para plântulas normais e plântulas anormais, nas diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol encontram-se na Figura 2A e 2B referente às plântulas normais e anormais.

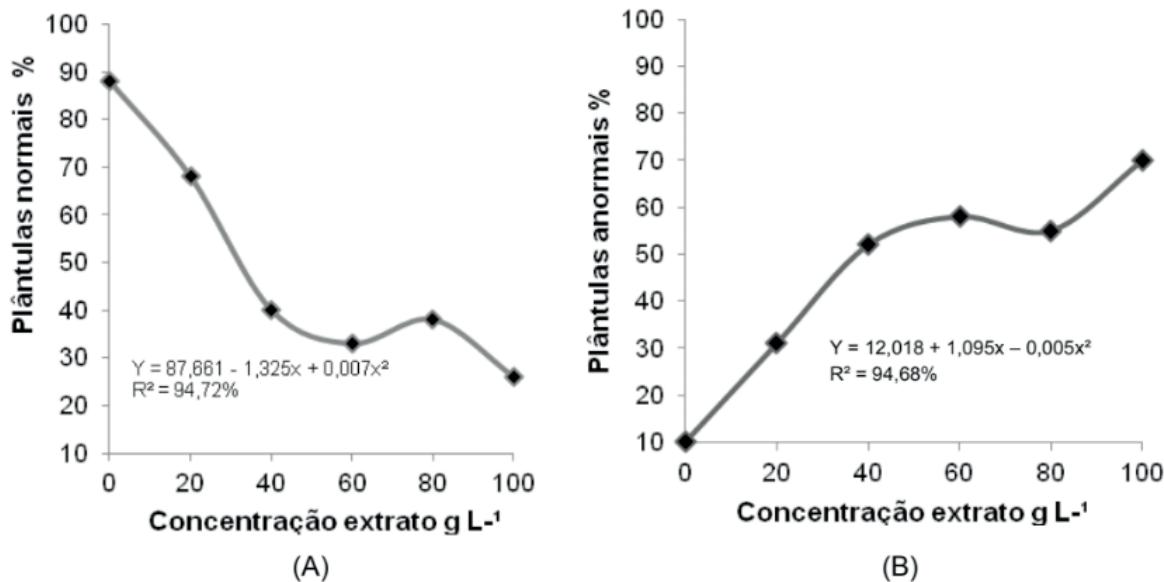


Figura 2. Vigor Primeira contagem de germinação, porcentagem de plântulas normais (A) e porcentagem de plântulas anormais (B), de sementes de corda de viola submetidas a diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol.

Pelos dados da Figura 2, observa-se que, tanto para plântulas normais como para plântulas anormais ajustou-se o modelo quadrático, ou seja, a porcentagem de plântulas normais diminuiu à medida que se aumentou a concentração do extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol (Figura 2A). Já para plântulas anormais ocorreu o inverso, havendo aumento das mesmas com aumento da concentração

do extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol. Segundo Ferreira e Aquila (2000), as substâncias alelopáticas podem induzir o aparecimento de plântulas anormais, sendo a necrose da radícula um dos sintomas mais comuns. Sendo assim, a avaliação da normalidade das plântulas é um instrumento importante em ensaios com plantas que possuem potencial alelopático.

Verificou-se que, com 21 dias após semeadura, por ocasião da avaliação do percentual de germinação houve uma redução drástica da percentagem de plântulas normais e aumento de plântulas anormais, a partir da concentração de 40 g L⁻¹ de extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol, sendo que nas concentrações de 60 g L⁻¹, 80 g L⁻¹ e 100 g L⁻¹ as plântulas estavam com a radícula completamente necrosa não sendo possível avaliar o comprimento das mesmas, como mostra a Figura 3A e Figura 3B referente à porcentagem de plântulas normais e anormais, respectivamente.

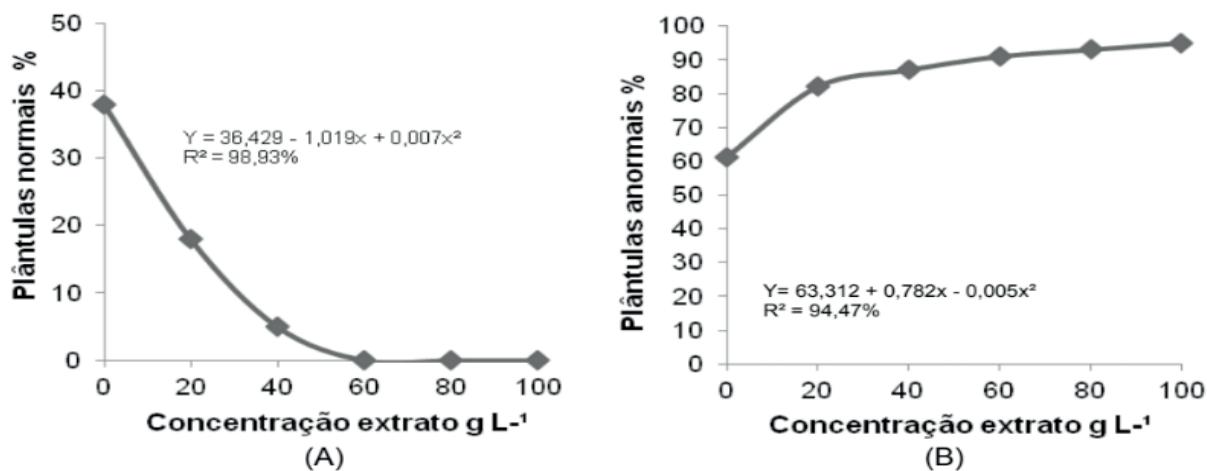


Figura 3. Germinação, porcentagem de plântulas normais (A) e porcentagem de plântulas anormais (B), de sementes de corda de viola submetidas a diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol.

Observa-se que o índice de velocidade de germinação de sementes de corda de viola também sofreu redução significativa à medida que se aumentou a concentração do extrato (Figura 4). A curva de regressão para o índice de velocidade de germinação das sementes de corda de viola ajustou-se modelo quadrático. Verificou-se redução do IVG a partir da aplicação da concentração de 40 g L⁻¹ do extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol.

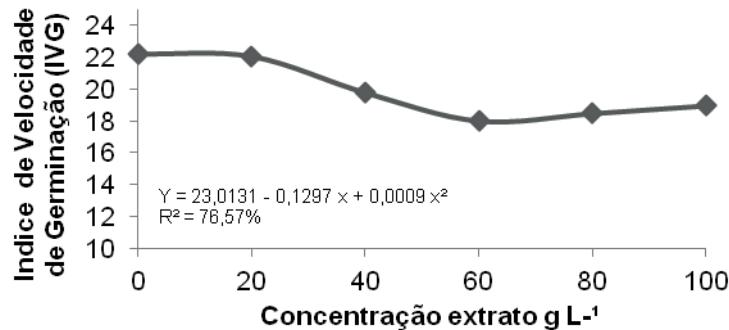


Figura 4. Vigor pelo Índice de velocidade de germinação de sementes de corda de viola submetidas a diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol.

De acordo com Silva (2009), o girassol apresentou efeito inibitório sobre o crescimento das plantas de picão preto, trigo e corda de viola, correspondente a, respectivamente, 42%, 47% e 28%, em relação aos tratamentos sem a presença dessa espécie.

Santore (2013) verificou que extratos de plantas medicinais de sabugueiro e erva-cidreira apresentaram influência alelopática negativa sobre germinação de corda de viola (*Ipomea nil*) independente da concentração do extrato utilizada.

Pelos resultados obtidos verifica-se que o girassol apresenta potencial para ser utilizado no manejo de corda de viola (*Ipomea purpurea*) na cultura do milho, devido ao seu efeito alelopático. Sua utilização poderá ser feita através da rotação de cultura, assim como pela possibilidade da produção de substâncias químicas naturais, menos agressivas ao ambiente e que possam ser utilizadas no manejo de plantas daninhas. Ressalta-se que estudos devem ser desenvolvidos em condições de campo, visto que, a ocorrência de fatores bióticos e abióticos pode interferir nos resultados.

CONCLUSÃO

Nas condições que foi desenvolvida a pesquisa, foi possível concluir:

O ácido clorogênico presente no extrato aquoso de folhas e pecíolos de girassol não afetam a germinação e índice de velocidade de germinação das sementes de milho híbrido SHA4070. Entretanto, o desempenho de plântulas pelo comprimento de radícula e comprimento de plântulas é afetado quando se utiliza o extrato na concentração de 100 g L⁻¹.

A germinação e vigor pela primeira contagem e pelo índice de velocidade de germinação de sementes de corda de viola, são afetados pelo ácido clorogênico presente no extrato de folhas e pecíolos de girassol, sendo que, quanto maior a concentração do extrato maior o efeito alelopático.

REFERÊNCIAS

- BHOWMIK, P. C.; INDERJIT. Challenges and opportunities in implementing allelopathy for natural weed management. **Crop Protection**, Oxford, v. 22, n. 4, p. 661-671, maio 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 365 p.
- CASTRO, C.; CASTIGLIONI, V. B. R.; BALLA, A. **Cultura do girassol, tecnologia de produção**. Londrina: Embrapa-CNPSO, 1993. (Embrapa-CNPSO. Documentos, n.67).
- CORREIA, N. M.; CENTURION, M. A. P. C.; ALVES, P. L. C. A. Influência de extratos aquosos de sorgo sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de soja. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 498-503, 2005.
- CORSATO, J. M.; FORTES, A. M. T.; SANTORUM, M.; LESZCZYNSKI, R. Efeito alelopático do extrato aquoso de folhas de girassol sobre germinação de soja e picão preto. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 353- 360, abr./jun. 2010.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, MG: UFLA, v.35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopata, uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p. 175-204, 2000.
- GIADA, M. de L. R. **Avaliação da capacidade antioxidante dos compostos fenólicos do cotilédone da semente de girassol (*Helianthus annuus* L.) rajada**. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de alimentos e Nutrição Experimental. São Paulo, 2005.
- KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de comprimento de raiz de plântulas de soja. **Informativo ABRATES**, Londrina, vol. 2, nº 1, p. 11-14, 1991.
- MAGUIRE, J. D. Seed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Sci.**, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.
- OLIVEIRA, M. F. de; BRIGUENTI, A. M. **Controle de plantas daninhas**: métodos, físico, mecânico, cultural, biológico e alelopata. Brasília, DF: Embrapa, 2018. 196 p.
- PASQUALETO, A.; COSTA, L. M.; SILVA, A. A.; SEDIYMA, C. S. **Ocorrência de plantas daninhas na cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) em sucessão à culturas de safrinha no sistema plantio direto**. 2007. Disponível em: http://agata.ucg.br/formularios/ucg/docentes/eng/pasqualeto/artigos/pdf/artigo_48.pdf. Acesso em: 27 ago. 2019.
- PEREIRA, M. R. R. et al. Inibição do desenvolvimento inicial de plantas de girassol, milho e triticale por palhada de capim-colchão. **Planta daninha**, Viçosa, v. 29, n. 2, p. 305-310, jun. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-83582011000200008&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 04 dez. 2019.
- REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; LIMA, U. A. Emprego de álcool etílico na extração do óleo de girassol (*Helianthus annuus*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.7, n.1, p.1-14, 1987.
- REYES, F. G. R.; GARIBAY, C. B.; UNGARO, M. R. G.; TOLEDO, M. C. F. **Girassol**: cultura e aspectos químicos, nutricionais e tecnológicos. Campinas: Fundação Cargil, 1985.
- REZENDE, J. A. M.; MASSOLA JÚNIOR, N. S.; BEBENDO, I. P. Conceito de doença, sintomatologia e diagnose. In: AMORIM, L. ; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.) **Manual de**

fitopatologia: princípios e conceitos. 5. ed. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres, 2018. cap. 3, p. 27-43.

RIBEIRO, J. P. O. ; VASCONCELOS, G. M. P. de V.; RIBEIRO, A. C. O.; BERTOLINO, K. M.; PARRELLA, N. N. L. D.; SILVA, A. F. da. Efeito alelopático do extrato aquoso de folhas e caule de girassol (*Helianthus annuus* L.) sobre a germinação de sorgo. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 23., 2016, Bento Gonçalves, RS, **Anais** ... Bento Gonçalves, RS, 2016, p. 1875-1877. Disponível em: http://www.abms.org.br/cnms2016_trabalhos/docs/1181.pdf. Acesso em: 30 ago. 2019.

SANTORE, T. **Atividade alelopática de extratos de plantas medicinais sobre a germinação de corda-de-viola (*Ipomoea nil* (L.) Roth.).** Trabalho de Conclusão de Curso. Graduação em Tecnologia e Biotecnologia. Universidade Federal do Paraná. Palotina. 2013. 22 p.

SILVA, H. L. da. **Potencial alelopático da cultura do girassol (*Helianthus annuus* L.).** 2009. 105 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2009.

TOKURA, L. K.; NÓBREGA, L. H. P. Potencial alelopático no desenvolvimento de milho. **Acta Sci. Agron.**, v. 27, n. 2, p. 287-292, 2005.

APLICAÇÃO DE ENTEROCINA EM FILME BIODEGRADÁVEL DE AMIDO

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 02/12/2019

Bruno Seben de Almeida

Universidade Tecnológica Federal do Paraná –
Tecnologia em Alimentos
Londrina – Paraná

Curriculum Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4698504699294223>

Luciana Furlaneto-Maia

Universidade Tecnológica Federal do Paraná –
Departamento de Alimentos
Londrina – Paraná

Curriculum Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6007117281861512>

biodegradável foi preparado com amido de milho nas concentrações de 2%, 4% e 6%. A atividade antimicrobiana da bacteriocina incorporada no filme foi realizado pela técnica spot on lawn, contra a bactéria teste *Listeria monocytogenes*. Como resultado obtivemos que independente do porcentual de amido utilizado, houve difusão da enterocina incorporada no filme biodegradável, apresentando assim um potencial de aplicação na conservação de alimentos.

PALAVRAS-CHAVE: Bacteriocinas, *Enterococcus durans*, revestimento biodegradável.

APPLICATION OF ENTEROCIN IN BIODEGRADABLE STARCH FILM

RESUMO: A conservação dos alimentos é uma questão sempre atual, e é crescente a busca por alternativas mais naturais, uma vez que a maioria dos produtos alimentícios industrializados se utilizam de conservantes químicos artificiais. Bacteriocinas são peptídeos antimicrobianos com ação comprovada como conservantes microbiológicos naturais. Portanto o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade bacteriocinogênica de enterocina (bacteriocina) em filmes biodegradáveis. A enterocina foi obtida pelo isolado *Enterococcus durans* MF5. O filme

ABSTRACT: Food preservation is an ever-present issue, and the search for more natural alternatives is growing as most industrialized food products use artificial chemical preservatives. Bacteriocins are antimicrobial peptides with proven action as natural microbiological preservatives. Therefore, the objective of this work was to evaluate the bacteriocinogenic activity of enterocin (bacteriocin) in biodegradable films. Enterocin was obtained by *Enterococcus durans* MF5 isolate. The biodegradable film was prepared

with corn starch at concentrations of 2%, 4% and 6%. The antimicrobial activity of bacteriocin incorporated in the film was performed by spot on lawn technique against the test bacteria *Listeria monocytogenes*. As a result, we obtained that regardless of the percentage of starch used, enterocin diffusion was incorporated into the biodegradable film, thus presenting a potential application in food preservation.

KEYWORDS: Bacteriocins, *Enterococcus durans*, biodegradable coating.

1 | INTRODUÇÃO

As bacteriocinas consistem em um grupo de pequenos peptídeos ou proteínas bioativas, sintetizadas ribossomicamente por bactérias Gram-positiva e Gram-negativa, que são liberadas extracelularmente, e apresentam atividade antimicrobiana frente a bactérias patogênicas e deteriorantes, o que justifica o seu potencial biotecnológico (SCHUELER, 2018). Do amplo grupo das bacteriocinas, pode-se destacar as enterocinas que são as bacteriocinas produzidas por algumas bactérias do gênero *Enterococcus*. Essa classe de bacteriocina tem características catiônica, resistente a ampla faixa de pH e temperatura, tornando a sua aplicação viável como conservante de alimentos (TOSONI, 2019).

São amplamente reconhecidas como substâncias seguras, não ativas ou citotóxicas em células eucarióticas, inativadas por enzimas digestivas (proteases), com pouca influência sobre a microbiota intestinal. Apresentam atividade bactericida e/ou bacteriostática, sendo normalmente, a membrana citoplasmática das bactérias o seu alvo. Além disso, não apresentam resistência a antibióticos e seus determinantes genéticos são codificados em plasmídeos, facilitando a manipulação genética (GÁLVEZ et al., 2007).

De maneira geral, existem duas formas através das quais as bacteriocinas podem ser incorporadas a um alimento para melhorar a sua segurança: (1) utilizando uma preparação purificada ou semipurificada da bacteriocina como ingrediente alimentar; (2) pela utilização da bactéria produtora de bacteriocina, como cultura iniciadora ou adjunta (SCHUELER, 2018).

As enterocinas são aplicadas em alimentos, na forma purificadas ou semipurificadas, como conservantes naturais de alimentos, destaca-se o uso da enterocina AS-48 que possui ação inibitória contra diversos patógenos como a *L. monocytogenes* e é aplicada numa variedade de alimentos, principalmente de origem vegetal como frutas em natura, sucos, sopas ou purês de vegetais (KHAN; FLINT; YU, 2010).

Ainda na esfera da conservação e qualidade de alimentos, uma ferramenta muito utilizada é o filme comestível (revestimento biodegradável), que atua como uma barreira semipermeável à umidade, gases e compostos aromáticos,

controlando a transferência de massa (umidade, oxigênio, dióxido de carbono e lipídios) em sistemas alimentícios, ajudando na preservação do alimento contra a perda de umidade, além de dar características agradáveis aos olhos do consumidor. Essa película protetora pode ser comestível, feita de gelificações de amido como o amido de milho. Essa película é aplicada em camada sobre o alimento e passa por processo de secagem (SANTOS et al., 2011).

Para a aplicação de bacteriocinas nos alimentos, diferentes técnicas podem ser utilizadas, como: adição direta na formulação do alimento ou imersão do mesmo em solução contendo o peptídeo; adsorção da bacteriocina em filmes biodegradáveis tipo polietileno ou filmes comestíveis a base de celulose, amido entre outros (GAUTAM e SHARMA, 2009).

Segundo Mali et al (2010) quando produzidos em escala laboratorial, os filmes de amido também chamados biodegradáveis se formam depois de solubilização do amido em um solvente, com formação de uma solução filmogênica que após aplicada é seca. “Após a gelatinização térmica dos grânulos em excesso de água, amilose e amilopectina se dispersam na solução aquosa e, durante a secagem, se reorganizam, formando uma matriz contínua que dá origem aos filmes”.

Esse tipo de conservação é muito viável em comparação a outras formas de conservação, como embalagens, por serem biodegradáveis e comestíveis, oferecendo menor impacto ambiental e facilidade ao consumidor (SANTOS et al., 2011).

A viabilidade da união das duas tecnologias de conservação de alimentos, a película protetora, ou biofilme comestível, com um agente antimicrobiano vem sendo estudado amplamente nas últimas décadas e em especial a aplicação de bacteriocinas como esse conservante de alimentos é interessante por ser uma alternativa aos aditivos químicos e pelos resultados positivos, sem interferir nas características do alimento (KHAN; FLINT; YU, 2010).

Souza et al. (2017), utilizando-se de biofilme de gelatina e bacteriocina apresentaram a ação desta incorporada à película protetora como um promissor conservante natural.

Listeria monocytogenes é um patógeno amplamente distribuído na natureza e considerado um sério problema de segurança alimentar. Esse patógeno pode causar listeriose, uma doença com baixa incidência em comparação com outras doenças de origem alimentar, mas com alta taxa de mortalidade (MELO, ANDREW e FALEIRO, 2015). Esse patógeno onipresente é capaz de superar as barreiras microbiológicas mais comuns aplicadas durante processamento de alimentos (acidez, refrigeração, dessecação, etc.) (LUBER et al., 2011), sendo, portanto, necessário novas estratégias no controle de patógeno alimentar.

Nessa premissa, o presente trabalho visou avaliar a ação antagônica de

filme biodegradável de amido de milho contendo enterocina, contra a bactéria *L. monocytogenes*.

2 | METODOLOGIA

2.1 Microrganismos utilizados

Para a realização deste estudo foi utilizado o isolado *Enterococcus durans* MF5, proveniente de queijo. Este isolado foi identificado por testes genotípicos e a produção de enterocina foi caracterizada por Tosoni (2019).

A bactéria teste foi *Listeria monocytogenes* Scott, isolada de surtos alimentares.

Ambos isolados estão conservados em tubos criogênicos contendo meio caldo Brain Heart Infusion (BHI) - glicerol 20% e estavam mantidos a -20°C. A reativação dos isolados foi realizada em tubos de ensaio com rosca contendo meio caldo BHI, mantidos sob agitação de 180 rpm, a 37 °C por 24 h. Em seguida as culturas foram semeadas em ágar Brain Heart Infusion (BHI) para a *L. monocytogenes* e em placa contendo meio ágar ManRogosa Sharpe (MRS) para *E. durans*.

2.2 Obtenção de enterocina

Para obtenção de enterocina (sobrenadante livre de célula-CFS), *E. durans* MF5 foi inoculado em caldo MRS e incubado sob agitação 180 rpm a 37 °C por 24 h. Decorrido este tempo, a cultura foi centrifugada por 10min a 8.000 rpm. O sobrenadante teve seu pH regulado para 6,5 com solução de NaOH 0,5N. O produto final foi esterilizado filtração em microfiltros de 0,22µm de porosidade, obtendo assim o CFS, que foi armazenado em freezer -20 °C.

2.3 Preparação do filme biodegradável de amido com enterocina

O preparo do filme biodegradável de amido de milho foi realizado na concentração de 2, 4 e 6% (p/v). O amido foi pesado assepticamente em fluxo laminar e hidratado em água estéril, por 5 minutos. Cada mistura foi levada ao aquecimento por 5 minutos em placa de aquecimento com agitação magnética para promover a gelatinização do amido.

Após a geleificação (transparência do amido) cada mistura foi transferida para tubos de 2ml e então foram acrescentados 2/3 (v/v) de CFS (enterocina). O tubo controle foi a concentração de amido 4% sem a adição de enterocina.

2.4 Teste de antagonismo

Para o teste de atividade antimicrobiana do filme biodegradável contendo enterocina, foi preparada uma solução de *L. monocytogenes* na concentração de

10^6 UFC/mL em ágar BHI 0,8%. Vinte mL da solução foi transferida para placas de Petri e aguardou a total solidificação. Posteriormente, foram realizados poços com o auxílio de ponteira descartável estéril (Figura 1).

Em cada poço gerado, foi acrescentado o volume de 100 μ L do filme de amido contendo enterocina e o controle (Figura 1).

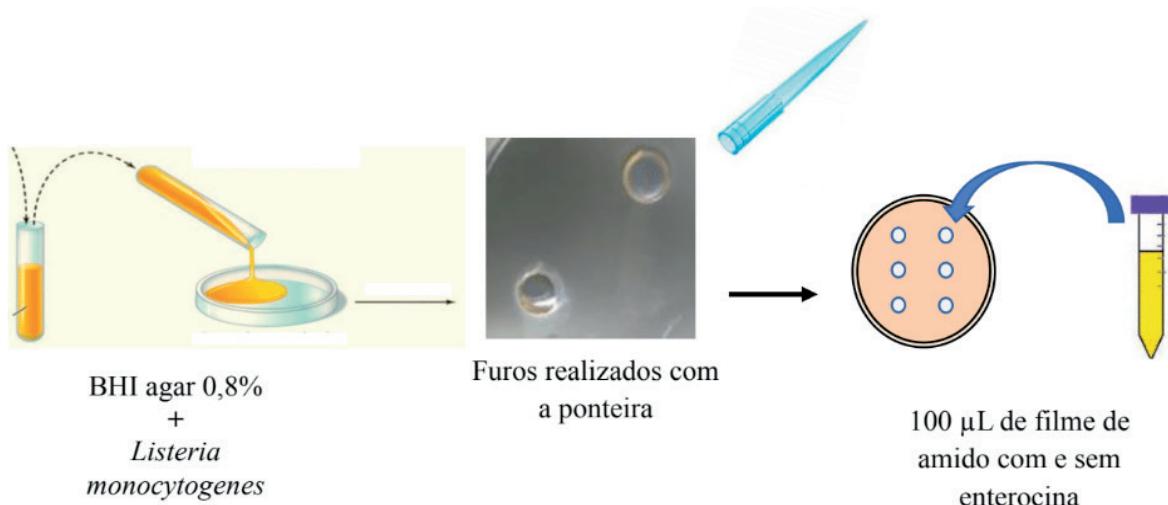


Figura 1 – Representação esquemática da técnica de poço difusão utilizada nos testes de antagonismo com o filme de amido com e sem enterocina.

As placas foram incubadas, sem inversão, a 37 °C por 24 h, e o halo de inibição foi observado e mensurado com o auxílio de uma régua milimetrada. O valor final foi a diferença entre o tamanho do halo de inibição e o tamanho do poço (9mm).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Filme biodegradável são aquelas que além de atuarem como uma barreira a agentes externos, corrigem deficiências presentes na embalagem passiva, além de facilitar a adição de elementos adicionais para melhorar seu desempenho (ROBERTSON, 2006).

Neste estudo, o potencial antimicrobiano da mistura de CFS com filme biodegradável de amido de milho foi analisado através da técnica de poço difusão, observando a medição dos halos de inibição. A figura 2 apresenta o halo de inibição formado pela enterocina sobre a bactéria *L. monocytogenes*.

A figura 2 (C-) corresponde ao controle negativo (filme de amido puro) e não houve inibição, o que significa que a solução de amido não tem capacidade antimicrobiana; já na área com o enterocina pura (figura C+) é notório o halo inibitório, indo a encontro dos testes preliminares utilizando a enterocina, e é igualmente visualizável os halos nas áreas adicionadas de filme de amido nas diferentes concentrações acrescido de enterocina (2, 4 e 6%), mostrando assim a eficiência

da enterocina mesmo agregada ao filme de amido.

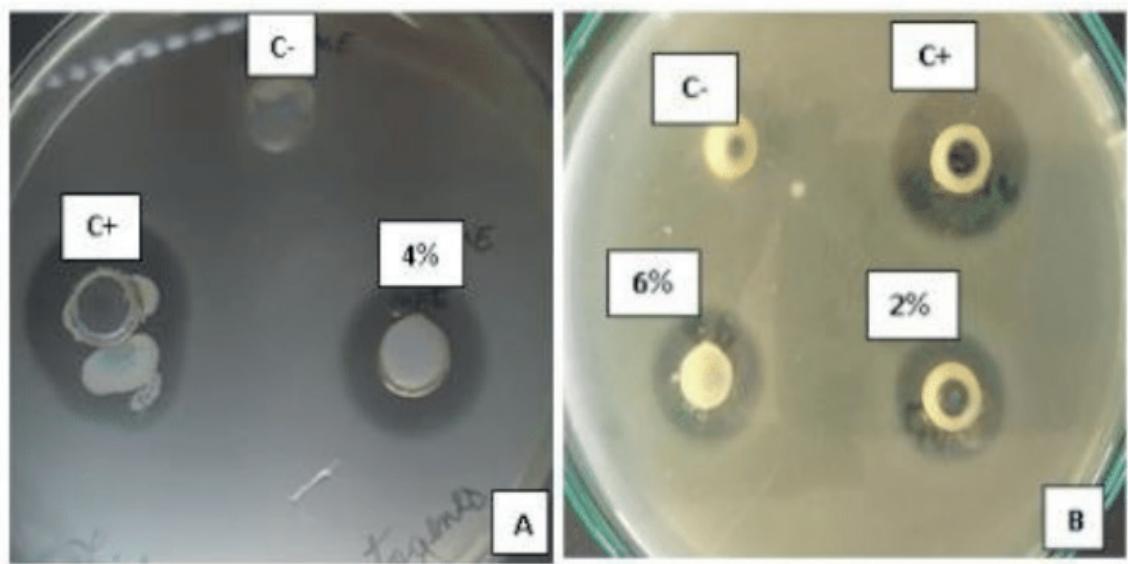


Figura 2: Teste de antagonismo de enterocina em filme de amido contra *Listeria monocytogenes*. (A) C-: controle negativo composto por filme de amido sem enterocina; C+: controle positivo sendo apenas enterocina; 2, 4 e 6% corresponde à concentração de amido no biofilme biodegradável contendo enterocina.

Os resultados estão apresentados na forma de gráfico na Figura 3. Observamos que a enterocina agregada no filme de amido foi eficiente contra a bactéria teste *L. monocytogenes*, sendo que não houve diferença significativa na melhor eficiência do antimicrobiano nas diferentes concentrações de amido: 2, 4% e 6%.

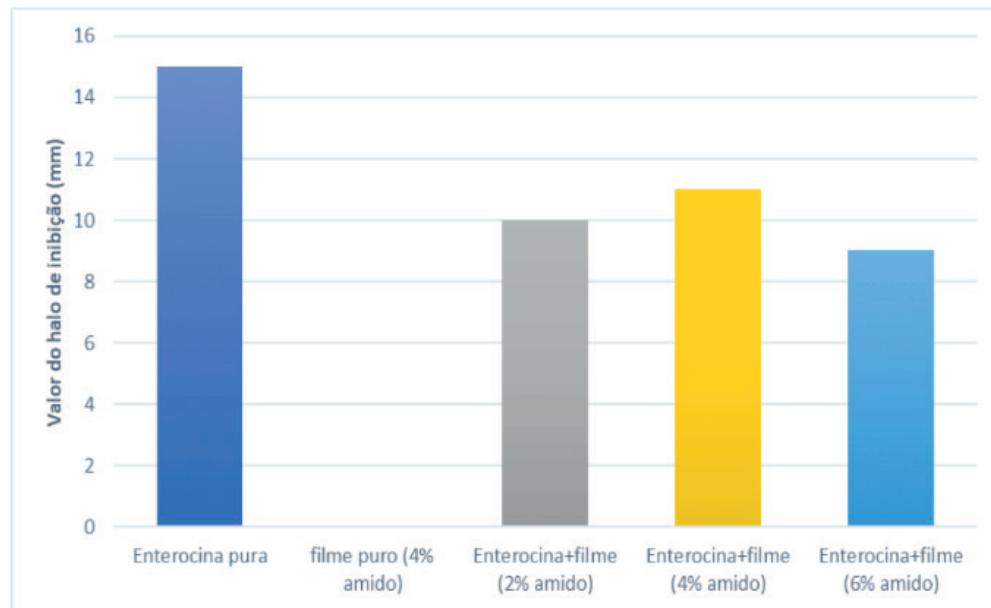


Figura 3 – Valor em mm do tamanho do halo de inibição da enterocina pura e agregada ao filme de amido nas diferentes concentrações

O resultado de inibição significativa da bactéria teste corrobora com a

bibliografia a respeito de enterocinas como a produzida pela *E. durans* MF5. Kramer e Brandis (1975) apresentam os resultados de inibição especial das enterocinas contra microrganismo Gram positivos em especial do gênero *Listeria*. Segundo as categorizações de Stackebrandt e Teuber (1988) e pela bibliografia levantada por Javed et al. (2011) isso se deve à proximidade filogenética entre os gêneros *Enterococcus* e *Listeria*. O resultado também corrobora com os testes feitos por Tosoni (2019).

Destaca-se a ação inibitória da amostra de Enterocina + filme a 4% de amido, pois com uma média concentração de amido permite uma boa gelatinização, garantindo uma textura desejável para um revestimento comestível e ainda apresentou um maior halo de inibição (11mm de diâmetro) se comparada com a amostra de outras misturas de enterocina e filme (10 e 9 mm).

Os bons resultados de inibição do antimicrobiano adicionado ao biofilme contra *L. monocytogenes* corroboram com trabalhos realizados por Souza et al. (2017) em teste com *Staphylococcus aureus* com filmes bioativos à base de gelatina e com os testes de atividade antifúngica com filmes bioativos à base de fécula de mandioca realizados por Souza (2011).

Resultados satisfatórios de inibição de filme biodegradável acrescido de enterocina contra *L. monocytogenes*, também corroboram com aqueles obtidos por Marcos et al. (2008) utilizando filme de alginato e enterocina produzida por *Enterococcus faecium*.

A concentração de 4% de filme biodegradável de amido foi citada como excelente para o revestimento comestível de frutas e vegetais como a manga e outras frutas, visando a manutenção das características físico-químicas e sensoriais do alimento (Santos et al. 2011).

4 | CONCLUSÃO

O filme comestível de amido de milho nas concentrações 2%, 4% e 6% agregados com a enterocina não purificada de *E. durans* MF5 apresentou ação antimicrobiana e pode constituir um meio satisfatório para a conservação de alimentos, principalmente frutas e vegetais, inibindo o crescimento da bactéria patógena *L. monocytogenes* e concomitantemente oferecendo a diversidade de aplicações e o benefícios de um filme biodegradável.

AGÊNCIAS DE FOMENTO

CNPq, Fundação Araucária e UTFPR.

REFERÊNCIAS

- EMBRAPA. (Jaguariúna, SP). Ana Lúcia Penteado. **Microbiological safety aspects of mangoes (*Mangifera indica*) and papayas (*Carica papaya*): a mini-review.** Revista Visa em Debate. Vigil. sanit. debate 2017;5(2):127-140. Disponível em: <https://visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/779/376>. Acesso em: 15 de jul. 2019.
- GÁLVEZ, A.; ABRIQUEL, H.; LÓPEZ, R. L.; BEN OMAR, N. **Bacteriocin-based strategies for food biopreservation.** International Journal of Food Microbiology, v. 120, n. 1-2, p. 51–70, 2007.
- GAUTAM, S.; SHARMA, N. **Bacteriocin: safest approach to preserve food products.** Indian Journal of Microbiology, India. v. 49. 2009.
- JAVED, A.; MASUD, T.; AIN, Q. ul; IMRAN, M.; MAQSOOD, S. **Enterocins of *Enterococcus faecium*, emerging natural food preservatives.** Annals of Microbiology. 2011. 61(4), 699–708.
- KHAN, H.; FLINT, S.; YU, Pak-Lam. **Enterocins in food preservation.** International Journal of Food Microbiology. 2010. 141(1-2), 1–10.
- KRAMER, J.; BRANDIS, H. **Mode of Action of Two *Streptococcus faecium* Bacteriocins.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1975. 7(2), 117–120.
- LUBER, P., CRERAR, S., DUFOUR, C., FARBER, J., DATTA, A., TODD, E. C. D. **Controlling *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: Working towards global scientific consensus and harmonization e Recommendations for improved prevention and control.** Food Control. 2011, 22, 1535e1549.
- MALI, Suzana; EIRAS GROSSMANN, Maria Victória; YAMASHITA, Fábio. **Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização.** Semina: Ciências Agrárias, vol. 31, n. 1, jan-mar, 2010, pp. 137-155. Universidade Estadual de Londrina. Londrina, Brasil.
- MARCOS, B.; AYMERICH, T.; MONFORT, J. M.; GARRIGA, M. **High-pressure processing and antimicrobial biodegradable packaging to control *Listeria monocytogenes* during storage of cooked ham.** Food Microbiology. 2008. 25(1), 177–182.
- MELO, J., ANDREW, P. W., FALEIRO, M. L. ***Listeria monocytogenes* in cheese and the dairy environment remains a food safety challenge: The role of stress responses.** Food Research International, 2015, 67, 75e90.
- ROBERTSON, G. L. Food packaging: Principles and Practice. Boca Raton - FL: CRC Press, 2006. 550 p. ROBERTSON, G. L. Food packaging: Principles and Practice. Boca Raton - FL: CRC Press, 2006. 550 p.
- SANTOS, Ana Elisa O. dos; de ASSIS, Joston S.; BERBERT, Pedro A.; SANTOS, Otanael O. dos; BATISTA, Patrício F.; GRAVINA; Geraldo de A. **Influência de biofilmes de fécula de mandioca e amido de milho na qualidade pós-colheita de mangas ‘Tommy Atkins’.** Revista Brasileira de Ciências vol. 6, núm. 3, julio-septiembre, 2011, pp. 508-513 : Disponível em:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=119021236020>> . Acesso em: 15 de jul. 2019.
- SCHUELER, Janaina. **Produção de enterocina utilizando soro de leite parcialmente desmineralizado e água de maceração de milho como substrato.** Campo Mourão, PR: Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, 2018. 43p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2018.
- SOUZA, Ana Cristina de. **Desenvolvimento de embalagem biodegradável ativa a base de fécula de mandioca e agentes antimicrobianos naturais.** São Paulo, SP: Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2011. 138p. Tese (Doutorado em Engenharia). Universidade de São Paulo, 2011.

SOUZA, Nathiéli; MORAES, Caroline C.; CONTESSA, Camila R.; GONÇALO, Guilherme B.; MANERA, Ana Paula; MOUR, Catarina M. **Produção de filmes bioativos através da adição de bacteriocina**. Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, v.9, n.3, 2017. Disponível em: <<http://seer.unipampa.edu.br/index.php/siepe/article/view/29433/14948>>. Acesso em: 15 de jul. 2019.

STACKEBRANDT, E.; TEUBER, M. **Molecular taxonomy and phylogenetic position of lactic acid bacteria**. Biochimie. 1988. 70(3), 317–324.

TOSONI, Natara. **Potencial antibacteriano de enterocinas em células planctónicas e em biofilme de *Salmonella Typhimurium* e sorotipos de *Escherichia coli***. Campo Mourão, PR: Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, 2019. 52p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2019.

BECA: ARMADILHA PARA CAPTURA DO MOSQUITO *Aedes aegypti*

Data de aceite: 14/02/2020

Isadora Brandão Reis

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO
TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS

Av. Amazonas, 5.253, Nova Suiça, Belo Horizonte,
MG

Maria Luísa Silva Amancio

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO
TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS

Av. Amazonas, 5.253, Nova Suiça, Belo Horizonte,
MG

Maira Neves Carvalho

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO
TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS

Av. Amazonas, 5.253, Nova Suiça, Belo Horizonte

Rosiane Resende Leite

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO
TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS

Av. Amazonas, 5.253, Nova Suiça, Belo Horizonte,
MG, Brasil.

E-mail.: rosianeresende@hotmail.com

A elaboração da armadilha BECA é a proposta desta pesquisa que teve seu início em 2016. A pergunta a ser respondida nesta pesquisa é a seguinte: é possível construir uma armadilha de baixo custo para capturar o mosquito *A.aegypti* e que tenha relativa eficiência? Para elucidar esta questão, a armadilha foi construída utilizando garrafa pet, infusão de capim como atrativo para o mosquito fêmea, canos PVC em três tamanhos, cola entomológica e tinta guache preta. Foram confeccionados três protótipos da BECA para os testes, sendo: um com cano longo, o outro com o cano médio e outro com o cano curto. A primeira fase de testes iniciou-se de maneira simultânea em três localidades diferentes. Dos três protótipos testados, aquela de cano longo mostrou-se mais eficiente. Embora a armadilha tenha se mostrado eficaz na captura de mosquitos, não foi possível identificar todos aqueles capturados. Além de mosquitos, houve captura de outros insetos alados.

PALAVRAS-CHAVE: Mosquito; armadilha; dengue.

BECA: *Aedes aegypti* MOSQUITO TRAP

ABSTRACT: The mosquito *Aedes aegypti* transmits diseases, such as Dengue, Zika and

RESUMO: O mosquito *Aedes aegypti* transmite doenças, como Dengue, Zika e Chikungunya. Essas doenças aumentaram de forma significativa nos últimos anos. O combate a este inseto é tido como uma solução para o controle da população destes e, consequentemente, uma diminuição na transmissão de doenças.

Chikungunya, and these cases have increased significantly in recent years. The combat of this mosquito is considered as the solution to control the population of those and, therefore reducing the transmission of those diseases. The elaboration of the trap called BECA is the proposal of this research, which have started in 2016. The question to be answered is “Is possible to build a trap with low-cost to catch the *A. aegypti* mosquito that have relative efficiency?”. To elucidate this question, the trap was built using PET bottle, grass infusion, which is used such as the attractive for female mosquito, PVC pipes in three different sizes, entomologic glue and black gouache paint. It was made three BECA's prototypes, which are: one with long size pipe, other with medium size pipe and another with small size pipe. The first stage of tests started at the same time in three different locations. Between the three prototypes, the one with long size pipe was the one that showed be the more efficient. Although, the trap have showed that it's efficient, it was not possible to identify the mosquitos that was caught. Although the trap proved to be effective in catching mosquitoes, it was not possible to identify all those caught. In addition to mosquitoes, other winged insects were caught.

KEYWORDS: Mosquito, trap, dengue

1 | INTRODUÇÃO

O mosquito *Aedes aegypti* é originário da região do Egito, na África, e os rumores mais aceitos e que ele tenha chegado ao Brasil no século XVI, nos navios que traziam escravos no período colonial. As condições climáticas da região onde o Egito se localiza são semelhantes a algumas encontradas aqui no Brasil. Dessa forma, o mosquito facilmente se instalou aqui e em outras áreas de características tropicais. O mosquito *Aedes aegypti* possui quatro fases da vida: a do ovo, uma fase aquática, dividida nas fases larval e pupa e a fase adulta, na qual ele passa a voar (FIOCRUZ, 2016).

A fêmea do *A. aegypti*pica os animais (principalmente humanos) para alimentar-se do sangue e ter disposição para depositar seus ovos. Possui a característica de picar em ambientes bem iluminados, principalmente no início da manhã e o fim da tarde, horas que as taxas de insolação são mais baixas no dia, já que não suportam altas temperaturas. Mas eles podem ter hábitos noturnos, já que a iluminação artificial também é atrativa. Seu hábito de picar está estreitamente ligado a questão da postura.

Considerando o comportamento de postura, de acordo com o site do Instituto Oswaldo Cruz (IOC, 2016):

A alimentação dos mosquitos é com base em substâncias que contêm açúcar, mas a fêmea também se alimenta de sangue. Os mosquitos fêmea sugam sangue para produzir ovos. Se o mosquito da dengue estiver infectivo, poderá transmitir o vírus da dengue neste processo. Em geral, mosquitos sugam uma só pessoa a

cada lote de ovos que produzem. O mosquito da dengue tem uma peculiaridade que se chama “discordância gonotrófica”, que significa que é capaz de picar mais de uma pessoa para um mesmo lote de ovos que produz. Há relato de que um só mosquito da dengue infectivo transmitiu dengue para cinco pessoas de uma mesma família, no mesmo dia (IOC, 2016).

Além do exposto, a reprodução do mosquito é rápida, sendo que os embriões se desenvolvem em 48 horas. Os ovos são resistentes e depositados em locais com acúmulo de água parada seja limpa ou não. O desenvolvimento dele é maior em temperaturas maiores, por isso a população de *A. aegypti* aumenta consideravelmente no verão.

Uma superpopulação de *A. aegypti* causa desequilíbrios na natureza e traz prejuízos ao homem, já que a saliva desses mosquitos contém vírus que são transmitidos através da picada, pois a fêmea suga o sangue para sua alimentação. Ela reconhece os humanos através do gás carbônico que é liberado durante a respiração. O *A. aegypti* pode ser vetor de vários vírus causadores de doenças como a dengue, a Zika, a chikungunya e a febre amarela.

A dengue é uma doença febril aguda que se divide em clássica e hemorrágica. A clássica causa febre alta com início súbito, forte dor de cabeça, dor atrás dos olhos, perda do paladar e apetite, manchas e erupções na pele semelhantes ao sarampo (principalmente no tórax e membros superiores), náuseas e vômitos, tonturas, extremo cansaço, moleza, dor no corpo e muitas dores nos ossos e articulações. A hemorrágica causa dores abdominais fortes e contínuas, vômitos persistentes, pele pálida e úmida, sangramento pelo nariz e boca, manchas vermelhas na pele, sonolência e confusão mental, sede excessiva e boca seca, pulso rápido e fraco, dificuldade respiratória e perda de consciência.

A chikungunya é uma doença semelhante a dengue, causada por um vírus de RNA, e seus sintomas são: febre, dor articular, dor muscular, dor de cabeça, náusea, fadiga e prurido. Já a febre amarela é uma doença infecciosa pertencente à classificação das arboviroses, tendo várias diferenças entre a dengue e ao Zika vírus, apesar de pertencerem à família dos Flavivírus. Seus sintomas são manifestações repentinas como febre alta, calafrios, cansaço, dor de cabeça, dor muscular, náuseas e vômitos por cerca de três dias que depois de uma pausa aparente levam à insuficiências hepática e renal, icterícia (olhos e pele amarelados), manifestações hemorrágicas e cansaço intenso.

O Zika vírus é um vírus que foi encontrado na floresta Zika, na Uganda, em 1947, mas os primeiros casos registrados no Brasil foram em 2015. Causa sintomas tais como: febre, conjuntivite, hipersensibilidade nos olhos, dor nas articulações, dor de cabeça, dor nos músculos do corpo todo, manchas vermelhas na pele, cansaço físico e mental e sensação de esgotamento. A doença também é relacionada à microcefalia, observada em inúmeros casos de Zika, que foi comprovada através

de estudos nos Estados Unidos.

Em 2016, foram registrados 802 mil casos de dengue e 91 mil de Zika e um elevado crescimento nas ocorrências de Chikungunya e febre amarela, deixando muitas cidades espalhadas pelo país em estado de alerta. A considerar que 2015 foi um ano recordista de casos de dengue e que 2016 o número cresceu em 97.198 casos a mais de uma doença que teve o auge na década de 90, o governo reforçou as campanhas anuais de combate ao vetor, promoveu mais mutirões de limpeza e revista as casas além de incentivar a vacinação de todos, como no caso da febre amarela. Diante desta situação há inúmeras formas de combate a este vetor, dentre elas a construção de armadilhas.

Há diversas armadilhas desenvolvidas e utilizadas para a captura do *Aedes aegypti* e do *Aedes albopictus* em fase adulta, utilizando de seres humanos como atrativo ou utilizando substâncias químicas e fatores ambientais, como luz, calor, gás carbônico, octenol e outras substâncias. A maior parte das armadilhas criadas é inspirada nos seguintes métodos:

1. *Gorayeb*: Foi desenvolvida uma armadilha ventilada que tem como objetivo capturar o *Aedes aegypti*, através do uso de humanos, sem expô-los ao mosquito. Uma adaptação dessa armadilha propôs a simulação da presença de humanos ou animais, utilizando atrativos químicos, como gás carbônico, octenol, entre outros. Ambas as armadilhas possuem um coletor, onde os mosquitos ficam aprisionados pela ação de ventiladores.

2. *MosquiTRAP*: Esta armadilha foi desenvolvida com o objetivo de instigar e capturar mosquitos adultos do *Aedes aegypti* com o uso de pastilhas sintéticas, com odor semelhante a gramíneas, plantas que atraem os mosquitos. As fêmeas atraídas ao tentarem colocar seus ovos, ficam presas em um adesivo. A MosquiTRAP além de capturar o *Aedes*, permite a identificação da espécie de mosquito durante a inspeção, fornecendo informações para mapear a área de distribuição do *Aedes aegypti*.

3. *Adultrap*: A Adultrap é uma armadilha desenvolvida com objetivo de capturar a fêmea na fase adulta do *Aedes aegypti*. Ela utiliza água, possui um formato arredondado e cor escura agindo como atrativos e estimulantes visuais. A Adultrap é constituída por três compartimentos, sendo um para isca, um para entrada do adulto e outro para prendê-lo dentro da armadilha. A armadilha obteve grande êxito tanto em laboratório quanto no campo na captura de adulto de *Aedes aegypti*.

Mesmo tomando tantas medidas de controle e prevenção, a diminuição dos casos não foi tão significativa como o esperado, ou seja, as epidemias até hoje ainda são um obstáculo a ser derrubado. Em pesquisas, foi observada a existência de várias armadilhas de combate ao *Aedes aegypti*, porém as que possuem eficácia comprovada são complexas e de custo elevado, não estando disponível para o uso

da população.

Analisando as armadilhas citadas de forma geral pode-se dizer que o objetivo principal do estudo foi a criação de uma armadilha eficiente para captura do mosquito *Aedes aegypti*. E as perguntas que conduziram a pesquisa foram:

- a. Como atrair o mosquito *Aedes aegypti*?
- b. Como será feita a armadilha para tal feito? É possível construir uma armadilha para captura do *A.aegypti* de baixo custo e com relativa eficiência?

Mediante a esse cenário, surgiu a ideia de desenvolver a Armadilha BECA, com uma proposta alternativa eficaz e principalmente de fácil acesso e baixo custo. Dessa forma, a armadilha foi desenvolvida com materiais simples e facilmente encontrados em casa.

É de grande importância a realização desta pesquisa, pois ela mostrou uma forma simples e alternativa para o combate da população do mosquitos, considerando que o *Aedes Aegypti* anualmente é responsável por cerca de 50 milhões de casos de dengue em todo o mundo, dos quais aproximadamente 550 mil demandam hospitalização, ocorrendo ao menos 20 mil óbitos em sua decorrência (NHANTUMBO, PESSANHA, PROIETTI, 2012), além de outras.

2 | OBJETIVOS

A pesquisa teve por **objetivo geral** construir uma armadilha para se capturar o mosquito *Aedes aegypti*, sempre buscando materiais acessíveis a qualquer pessoa e de baixo custo.

Objetivos Específicos:

- Construir três protótipos com canos de PVC de comprimentos diferentes, e observar qual é a mais eficaz. A armadilha considerada eficaz foi a que capturou mais mosquitos em um menor período. Procurou-se também averiguar em qual localização nas residências a armadilha foi mais eficiente.
- Pesquisar sobre atrativos;
- Estudar e conhecer os hábitos do mosquito;

3 | METODOLOGIA

A Armadilha contra larvas de mosquito, inicialmente idealizada, foi construída e experimentada em ambiente residencial, no município de Lagoa Santa, região metropolitana de Minas Gerais, Brasil, que está com registros de casos de Dengue. A armadilha foi criada a partir do desenvolvimento de um projeto com alunos do primeiro ano do Ensino Médio do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas

Gerais. Após uma pesquisa sobre armadilhas de captura de *A. aegypti* e sobre o próprio mosquito, foi notado que havia diferentes tipos de armadilhas, mas não foi encontrada nenhuma armadilha que pudesse ser feita com simplicidade em casa e com materiais de baixo custo e de forma mais acessível para a população.

Então, utilizou-se para a estrutura da armadilha: garrafas PET, cano de PVC e tela fina. Montou-se a BECA – sigla criada pelo grupo para a armadilha (como mostrado na figura 1) usando uma garrafa PET de dois litros como base, que contém o atrativo, ligada a um cano de PVC, entre a garrafa e o cano foi colocado a mosqueteira, para impossibilitar que o *A. aegypti* e outros caiam dentro da garrafa, um joelho de PVC conectando o cano a boca de uma garrafa PET de três litros.

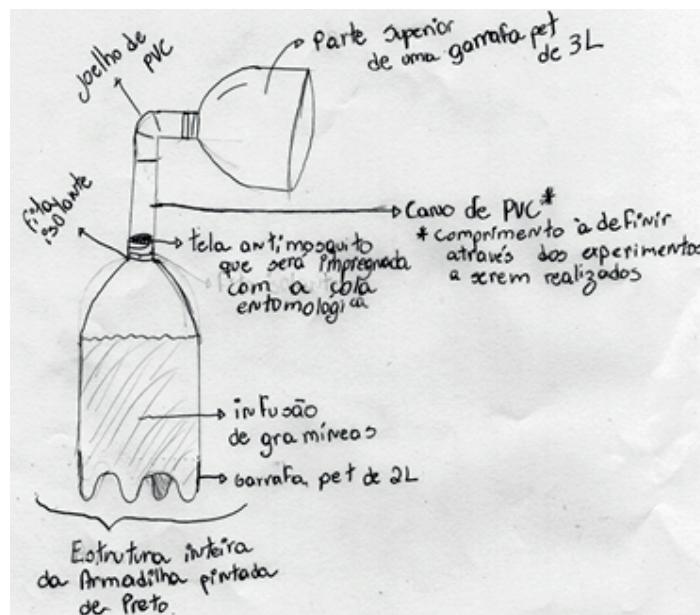


FIGURA 1- Desenho do projeto da estrutura da armadilha (BECA)

Fonte: Elaboração própria

Foram montadas três estruturas (como mostrado a figura 2), a primeira com um cano de dezenove (19) centímetros, a segunda com um cano de doze(12) centímetros e a terceira um cano de apenas um centímetro. Essa diferença no comprimento foi pensada para averiguar se o tamanho do cano alterava a eficácia na captura e se alterasse qual seria o mais eficaz.



FIGURA 2- Estrutura da armadilha antes e após pintura

Fonte: dados da pesquisa

O atrativo utilizado foi infusão de gramíneas que foi colocada na garrafa PET de dois litros, pois o capim libera dióxido de carbono na sua decomposição o que atrai o *A. aegypti*, segundo Roque (2017). A infusão consiste na mistura de duzentos gramas de capim colonião para dois litros de água, que deixada maturando pelo menos uma semana. A BECA foi pintada de preto (como mostra a figura 2) para ajudar na dispersão do atrativo já que está cor tem característica térmica que a faz a manter calor. E, para que os mosquitos ficassem presos na armadilha se aplicou a cola entomológica (que é uma cola especial inodora que não repele insetos e é capaz de ficar exposta por períodos longos de tempo sem perder sua capacidade colante), no interior da boca da garrafa PET de três litros, no joelho de PVC e na mosqueteira.

Os testes foram iniciados em agosto de 2016, com as armadilhas colocadas em locais com condições semelhantes, cada armadilha ficou com uma integrante da pesquisa. Em novembro de 2016, foi iniciada uma nova fase de teste onde todas as armadilhas ficaram no mesmo local.

Em 2017 foram conduzidos experimentos com novos tipos de infusões atrativas e novas concentrações (Figura 3), utilizando somente a BECA de gargalo longo. Foi mantido o capim colonião produzindo uma infusão de duzentos (200) gramas em um (01) litro de água, e mais duas utilizando quatrocentos (400) e seiscentos (600) gramas na mesma quantidade de água. Também produzimos três armadilhas utilizando folhas de bambu Taquara, cujas propriedades atrativas se assemelham as do capim colonião, nas mesmas concentrações usadas nas infusões de capim colonião. E, devido a informações aprofundadas sobre os hábitos alimentares do mosquito, adquiridas em participações em alguns eventos científicos, foi decidido o uso de um terceiro tipo de atrativo: açúcar mascavo, nas proporções de cinquenta (50), oitenta (80) e cento e dez (110) gramas em um (01) litro de água. Com isso, totaliza-se um número de nove (09) armadilhas: em teste na casa de uma das integrantes da equipe, que se localiza no bairro Promissão no município de Lagoa Santa, Minas Gerais.

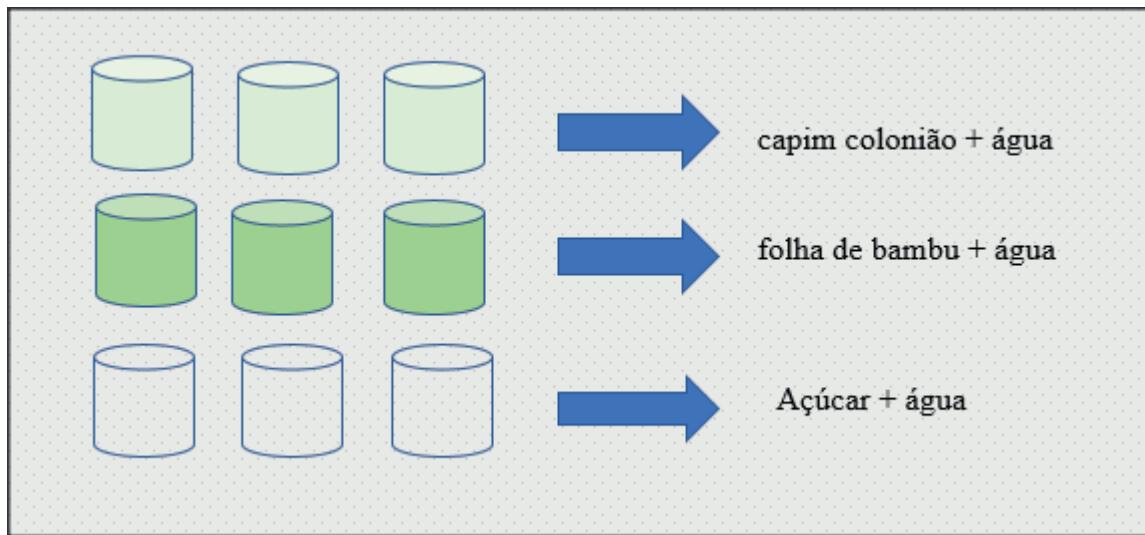


FIGURA 3 – Desenho experimental com a Beca de gargalo de 19cm

Fonte: elaboração própria

- Testes foram feitos no intra-domícilio e peridomicílio.

4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como foi dito anteriormente, foram confeccionados três protótipos da BECA para teste: um com cano longo, o outro com o cano médio e outro com o cano curto. A primeira fase de testes iniciou-se de maneira simultânea em três localidades diferentes, em cada local um protótipo a seguir:

- **Armadilha de cano longo:** Esse protótipo com o cano 19 cm responde de maneira inversa do que esperávamos. Capturou o primeiro inseto com três dias de teste e, em um mesmo período, pegou um número muito maior em relação às outras armadilhas testadas. Esse protótipo também capturou insetos de tamanho considerável como abelhas, baratas e maribondos.
- **Armadilha de cano médio:** Deu sua primeira resposta ao teste por volta de três semanas após o início dos testes. Capturou insetos de pequeno porte como pernilongos e insetos que usam a luz como fonte de orientação no espaço.
- **Armadilha de cano curto:** Com o cano de apenas 1 cm, foi a mais ineficiente, capturando sua primeira presa no último mês da fase de testes. Capturou pernilongos e moscas em número reduzido.

Independentemente do tempo de resposta e do desempenho geral dos protótipos, todos eles capturaram mosquitos não identificados, com grande possibilidade de ser o *A. aegypti*. Porém, como os exemplares dos insetos foram danificados quando eram retirados das armadilhas, não foi possível uma avaliação quantitativa real, pois não foi possível uma contagem exata de quantidade de insetos capturados, já que foram encontradas muitas partes do corpo separadas,

não sabendo exatamente quais pertenciam a qual mosquito.

Na segunda fase de teste, foi possível realizar uma quantificação dos mosquitos capturados. A armadilha de cano longo capturou cinquenta e oito (58), a de cano médio vinte e seis (26) e a de cano curto três (03), comprovando a eficácia do cano de dezenove (19) centímetros e descartando a influência dos diferentes locais de teste da primeira fase. Foram contabilizados somente os que foram retirados inteiros, ainda enfrentando o problema da danificação dos exemplares no ato de retirada da armadilha. Mesmo assim, conseguimos fazer registro fotográfico através de lente especial e identificação de espécies como insetos dos gêneros *Muscidae* e *Culidae*, sendo este último conhecido como mosquito *Culex* ou pernilongo comum. Alguns fragmentos como corpo, asa e cabeça não identificados também foram registrados em fotografias.

5 | CONCLUSÕES

A armadilha BECA, que foi feita com materiais acessíveis, apresentou resultados satisfatórios quanto à captura de mosquitos. Atendeu a expectativa do grupo, podendo ser usada em residências para apanhar pernilongos que possam picar o morador, e até mesmo transmiti-lo alguma doença.

Ao longo dos testes da armadilha, a equipe realizou diversas pesquisas que foram essenciais para seus devidos ajustes e aperfeiçoamento. Essas pesquisas em geral diziam a respeitos dos hábitos do *Aedes aegypti* e sobre outras armadilhas que tinham uma metodologia semelhante à usada no projeto BECA.

Durante os testes com a armadilha notou-se que dois fatores responsáveis foram importantíssimos na atração dos mosquitos à longa distância: o estímulo visual (cor) e químico (odores). Esses fatores estão diretamente relacionados as garrafas terem sidas pintadas com tinta preta, que é uma cor que absorve muito calor fazendo com que a infusão dentro da garrafa se evapore mais rapidamente.

Tendo em vista que a armadilha com cano longo capturou diversas espécies de mosquito, desde pequenas abelhas a pernilongos que se assemelham com o *Aedes aegypti*, nota-se que quanto maior o comprimento do cano maior a quantidade de insetos capturados. A questão de que os insetos foram mais atraídos pelas armadilhas de cano longo, ou seja, porque a armadilha de cano curto não foi tão eficaz quanto as outras, é uma dúvida pertinente que a equipe ainda busca respostas. As hipóteses levantadas estão relacionadas à altura de voo do mosquito e possibilidade de entrar na armadilha e não conseguirem voltar, já que é necessário percorrer um caminho mais longo para sair dela.

A retirada dos mosquitos da armadilha foi um empecilho crucial durante todo o processo, sendo necessária a utilização de um método não mecânico, mas sim

de cunho químico. A equipe busca um solvente que dilua a cola entomológica para facilitar a retirada sem haver a fragmentação do corpo do inseto, e então abandonar o uso de pinças. Acredita-se que desta maneira será muito mais conveniente para identificação das espécies e uma contagem mais precisa, o que resultaria em uma tabulação de dados e expressões gráficas de resultados mais concretos.

REFERÊNCIAS

FIOCRUZ. **Fundação Oswaldo Cruz**. Disponível em: <http://157.86.113.53/?p=72> Acesso em: 15abril 2016

ICB pesquisa métodos de combate à dengue. Disponivel em: <<https://www.ufmg.br/boletim/bol1227/pag6.html>>. Acesso em 9 de setembro de 2016.

GORAYEB, I.de S. Uma nova armadilha ventilada para coleta de mosquitos com ou sem atração humana. 2013. Disponível em: <[http://www.museugoeldi.br/editora/bn/artigos/cnv8n1_2013/armadilha\(gorayeb\).pdf](http://www.museugoeldi.br/editora/bn/artigos/cnv8n1_2013/armadilha(gorayeb).pdf)> Acesso em: 22/05/2017

IOC, 2016. **Instituto Oswaldo Cruz**. Disponível em: <http://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/curiosidades.html> Acesso em: 15abril 2016

NHANTUMBO, E.M; PESSANHA, J.E.M; PROIETTI, F.A. **Ocorrência da dengue em áreas urbanas selecionadas e sua associação com indicadores entomológicos e de intervenção** – Belo Horizonte, Brasil. Rev Med Minas Gerais 2012; 22(3): 265-273

ROQUE, R. A. **Avaliação de atraentes de oviposição, identificados em infusões de capim colonião (Panicum maximum) para fêmeas de Aedes aegypti (L. 1762) (Diptera: Culicidae) em condições de semicampo e campo**. . Disponível em:<http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/SAGF-765L57/tese_rosemary_a_roque__pdf.pdf?sequence=1>. Acesso em:13 abr. 2017.

DETERMINAÇÃO DOS PADRÕES MORFOMÉTRICOS DA CABEÇA DOS ESPERMATOZÓIDES DE PIRAPITINGA (*PIARACTUS BRACHYPOMUS*)

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 29/01/2020

Mônica Aline Parente Melo Maciel

Universidade Estadual do Ceará – UECE
Fortaleza – Ceará

<http://lattes.cnpq.br/2786691790286612>

Felipe Silva Maciel

Universidade Estadual do Ceará – UECE
Fortaleza – Ceará

<http://lattes.cnpq.br/1796785917524623>

Joao Paulo Silva Pinheiro

Universidade de São Paulo
São Paulo - São Paulo

<http://lattes.cnpq.br/2807515027477586>

José Ferreira Nunes

Universidade Estadual do Ceará – UECE
Fortaleza – Ceará

<http://lattes.cnpq.br/2976613011582984>

Carminda Sandra Brito Salmito Vanderley

Universidade Estadual do Ceará – UECE
Fortaleza – Ceará

<http://lattes.cnpq.br/3415249014153800>

branco), pertencente aos caracídeos, é uma das espécies que sofrem com esse problema. Dessa forma, conhecimentos básicos na área de reprodução são cada vez mais solicitados. O objetivo do presente estudo foi determinar as características morfométricas da cabeça de espermatozoides de Pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) no sêmen fresco. Para isso, realizou-se duas coletas de sêmen de trinta machos de Pirapitinga, que foram induzidos a espermiação 14 horas antes da coleta do sêmen. As amostras foram analisadas em relação ao volume seminal, pH e motilidade subjetiva. Também, uma alíquota de cada amostra seminal válida foi fixada para análise da morfometria no *Sperm Class Analyser* utilizando o módulo de análise da morfologia espermática auxiliada por computador (CASMA). Os dados morfométricos foram expressos em média e desvio padrão. Em relação à morfometria da cabeça dos espermatozoides frescos, possui o comprimento de $3,3784 \pm 0,132$ mm, largura $2,3391 \pm 0,075$ mm, área $7,3130 \pm 0,386$ mm², perímetro $9,7249 \pm 0,332$ mm, elongação $0,1843 \pm 0,018$, elipticidade $1,4592 \pm 0,055$, regularidade $0,8536 \pm 0,009$ e rugosidade $0,9589 \pm 0,027$. Esse trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará (09230730-

RESUMO: Nas últimas décadas as populações naturais de peixes têm diminuído em virtude da degradação ambiental e da pesca excessiva. O *Piaractus brachypomus* (pirapitinga ou pacu

2). Conclui-se que este estudo estabeleceu os valores morfométricos da cabeça do espermatozoide de pirapitinga e com isso fornecerá subsídios básicos para avançar em estudos de reprodução e de repovoamento da espécie.

PALAVRAS-CHAVE: Peixe, sêmen, morfometria espermática

DETERMINATION OF THE MORPHOMETRIC PATTERNS OF THE HEAD OF PIRAPITINGA SPERMATOZOIDS (*PIARACTUS BRACHYPOMUS*)

ABSTRACT: In recent decades, natural fish populations have declined due to environmental degradation and overfishing. *Piaractus brachypomus* (pirapitinga or pacu branco), belonging to characids, is one of the species that suffer from this problem. Thus, basic knowledge in the reproduction area is increasing. The present study aimed to determine the morphometric characteristics of the Pirapitinga spermatozoa head (*Piaractus brachypomus*) in fresh semen. For this, two semen collections were carried out from thirty Pirapitinga males, which were induced spermiation 14 hours before of the semen collection. The samples were analyzed for seminal volume, pH, and subjective motility. Also, an aliquot of each valid seminal sample was fixed for morphometry analysis in the software Sperm Class Analyzer using the computer-aided sperm morphology analysis module (CASMA). Morphometric data were expressed as mean and standard deviation. Regarding the morphometry of the head of the fresh spermatozoa, it has a length of $3,3784 \pm 0,132$ mm, width $2,3391 \pm 0,075$ mm, area $7.3130 \pm 0,386$ mm², perimeter $9.7249 \pm 0,332$ mm, elongation $0.1843 \pm 0,018$, ellipticity $1.4592 \pm 0,055$, regularity $0.8536 \pm 0,009$ and roughness $0.9589 \pm 0,027$. This work was approved by the Ethics Committee for the Use of Animals at the Universidade Estadual do Ceará (09230730-2). It is concluded that this study established the morphometric values of the head of the pirapitinga spermatozoa and this will provide basic subsidies to advance in reproduction and repopulation studies of the species.

KEYWORDS: Fish, sêmen, spermatic morphometry

1 | INTRODUÇÃO

A espécie *Piaractus brachypomus* (pirapintiga), endêmica do Amazonas, pertencente aos characídeos, é um peixe altamente comercial em outras regiões do Brasil. Recentemente, a diminuição na diversidade genética observada nos plantéis de reprodutores das granjas dedicadas à produção de alevinos e os freqüentes fenômenos cíclicos de secas, os quais exercem acentuada ação sobre seus processos reprodutivos, obrigam à regularização ou desenvolvimento de tecnologias que permitam o intercâmbio de material seminal entre os produtores, aproveitamento de gametas que possam ser obtidos de indivíduos silvestres e

conservação de amostras seminais nos períodos menos favoráveis (FARIAS, 1998; FRESNEDA et al., 2004). Diante disto, as técnicas de congelamento têm sido utilizadas no controle da reprodução assistida de muitas espécies de interesse econômico (BILLARD et al., 1995), na formação de bancos de sêmen de espécies ameaçadas de extinção (HARVEY, 1996) e na manutenção da variabilidade genética nas pisciculturas (MC ANDREW et al., 1993). A aplicação desta técnica em peixes está em amplo desenvolvimento (MURGAS et al., 2007), no entanto, vários aspectos da morfologia dos espermatozóides são afetados durante esse processo. Alterações na morfologia espermática estão correlacionado à diminuição da taxa de fertilização em vários animais (SEKONI & GUSTAFFSSON, 1987). Dessa forma, é necessário o conhecimento dos parâmetros morfométricos dos espermatozóides de Pirapitinga (*P. brachypomus*) frescos. As técnicas de microscopia eletrônica são precisas, mas de difícil execução, sendo, portanto, a análise da morfologia espermática auxiliada por computador (CASMA) ideal para esse tipo de avaliação (MARCO-JIMENEZ et al., 2008). O estudo objetivou determinar os padrões morfométricos da cabeça dos espermatozóides de sêmen fresco da Pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) utilizando o *Sperm Class Analyser*.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais experimentais e coleta

Foram utilizados 30 machos adultos de Pirapitinga (*P. brachypomus*), identificados através de microchips, proveniente do plantel do Centro de Pesquisas em Aqüicultura (CPAq) do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS) em Pentecoste, Ceará, Brasil, localizado entre 03°45'00"S e 39°21'00"W, a 90 Km de Fortaleza. Esse trabalho foi aprovado pelo CEUA (Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará) com protocolo número 09230730-2. Foram realizadas duas coletas de sêmen de cada animal em um intervalo de 3 meses. Os animais receberam uma dose única de extrato de hipófise de carpa (EHC: 2mg/kg peso vivo) para indução hormonal, 14 horas antes da coleta do sêmen. No dia da coleta, os animais foram sedados utilizando-se uma solução à base de óleo de cravo (Eugenol; União Vegetal Suplementos Nutricionais Ltda) (MYLONAS et al., 2005), sendo imediatamente submetidos à coleta de sêmen após a sedação e, em seguida, devolvidos ao tanque de manuseio.

Para a coleta, cada animal foi contido em decúbito lateral, olhos envoltos em pano úmido, para minimizar o estresse e facilitar a contenção. O orifício genital foi enxuto com papel toalha, e uma leve compressão abdominal foi realizada no sentido ântero-posterior. O sêmen liberado foi colhido e as alíquotas que estavam

contaminadas com fezes, urina ou sangue foram descartadas, bem como as que apresentaram um percentual inferior a 80% de espermatozoides móveis pós-ativação, com água do tanque, na avaliação inicial da motilidade subjetiva em microscópio óptico (MARCO-JIMÉNEZ et al., 2008). Uma alíquota de 100 mL das amostras válidas de sêmen de cada animal foi fixada em solução salina formolizada a 1% na proporção 1:10 (sêmen:fixador) para análise morfométrica.

2.2 Avaliação da morfometria espermática

Para análise da morfometria, dois microlitros das amostras fixadas foram utilizados para confecção de esfregaços de cada animal. As lâminas secaram ao ar e foram coradas com o kit Panótico de Hemograma (Instant-Prov) mergulhando cada lâmina duas vezes em cada uma das três soluções do kit. Após a secagem das lâminas, estas foram montadas com lamínula utilizando vitral-vernis.

Foram analisados 200 espermatozoides de cada animal através da análise da morfologia espermática auxiliada por computador (CASMA). O programa foi configurado para que todos os espermatozoides fossem visualizados com um aumento de 40x, com análise interativa e detecção manual dos espermatozoides. Durante a análise, cada espermatozóide selecionado pelo observador foi digitalizado pelo programa.

Foram computados dados referentes ao comprimento (C), em mm, do maior eixo da cabeça do espermatozóide; a largura (L), em mm, do menor eixo da cabeça do espermatozóide; o perímetro (P), em mm, da distância que circunda a cabeça do espermatozóide; a área (A), em mm^2 , da superfície da cabeça do espermatozóide. A partir dessas informações foram calculados, pelo programa, dados referentes os parâmetros morfométricos, de maneira que a elipticidade foi a razão entre o comprimento e a largura (C/L). Quando essa razão foi igual a 1, a cabeça do espermatozóide era redonda; quando maior que 1, a cabeça era alongada. A elongação corresponde à fórmula C-L/C+L. Quando o resultado dessa fórmula foi igual a 0, não existia elongação, sendo, portanto, o espermatozóide redondo. Quando maior que 1, o espermatozóide tinha o comprimento maior que a largura; e quando menor que 1, a largura foi maior que o comprimento. A rugosidade ($4\pi A/P^2$) diz respeito ao perímetro de uma elipse em relação ao perímetro da cabeça do espermatozóide. Quando a rugosidade foi 1, a membrana era lisa, ou seja, sem rugosidade. A regularidade ($\pi CL/4A$) é a razão entre a área teórica da elipse e a área real da cabeça do espermatozóide, e quanto mais próxima de 1, mais similar a uma elipse, ou seja, mais regular era a cabeça do espermatozóide.

3 | RESULTADOS

3.1 Coleta do sêmen

Os animais responderam bem ao tratamento hormonal e tiveram fácil liberação do sêmen. Poucas amostras estavam contaminadas com sangue, água, fezes ou urina. Tais amostras foram descartadas do experimento. Nenhuma amostra não contaminada apresentou motilidade subjetiva inferior a 80% após ativação com água do tanque. As amostras de sêmen das 30 pirapitingas apresentaram coloração branca leitosa. O maior volume coletado nos indivíduos foi de 11 mL e o menor foi de 1 mL. O pH não variou muito durante as coletas, ficando em torno de 8,5. A média geral do peso dos machos, motilidade espermática subjetiva, volume e pH do sêmen pode ser observada na Tabela 1.

Características	1° coleta	2° coleta
Peso corporal (kg)	3,127	2,886
Motilidade espermática subjetiva (%)	88	88
Volume seminal (mL)	4,48	5,44
pH do semen	8,5	8,6

Tabela 1: Peso corporal, motilidade espermáticas, volume seminal e pH do sêmen de pirapitinga na primeira e na segunda coleta

3.2 Morfometria espermática individual

Após a análise da cabeça de 200 espermatozoides de cada um dos 30 animais foi possível obter a média dos dados morfométricos, com comprimento de $3,3784 \pm 0,132 \mu\text{m}$, largura de $2,339 \pm 0,075 \mu\text{m}$, área de $7,3130 \pm 0,386 \mu\text{m}^2$, perímetro de $9,7249 \pm 0,332 \mu\text{m}$, elongação de $0,1843 \pm 0,018$, elipticidade de $1,4592 \pm 0,055$, regularidade de $0,8536 \pm 0,009$ e rugosidade de $0,9589 \pm 0,027$.

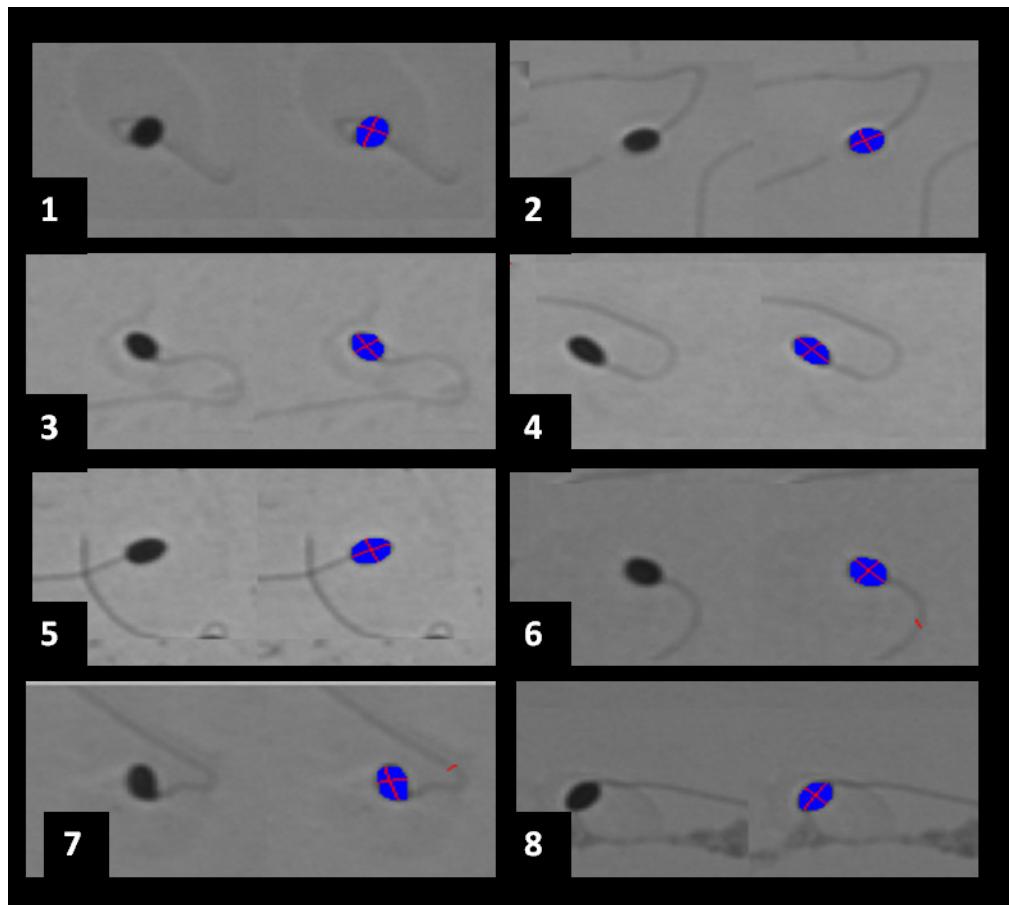


Figura 2: - Análise morfométrica da cabeça dos espermatozóides antes (A) e após (B) digitalização pelo programa de análise da morfologia espermática auxiliada por computador (CASMA). 40x.

4 | DISCUSSÃO

As coletas de sêmen realizadas nesse estudo ocorreram na estação reprodutiva da pirapitinga. Diferenças das estações do ano levam a diferenças na qualidade da água, alimentação e maturidade sexual dos animais, nos quais afetam a qualidade seminal (NASCIMENTO et al., 2010). O volume de sêmen encontrado nesse estudo foi diferente de outros trabalhos com essa mesma espécie, sendo maior que o encontrado por PESSOA (2010), o qual realizou suas coletas fora da estação reprodutiva, entre junho e setembro, e menor que o encontrado por VELASQUÉZ-MEDINA (2008), que realizou suas coletas no meio da estação (dezembro e janeiro).

Também foi observada uma redução no peso dos animais. Isso se deve ao fato de que, na natureza, os peixes de piracema, como a pirapitinga, migram rio acima saindo do ambiente alimentar em busca do ambiente reprodutivo (GODINHO et al., 2007).

Nesse estudo foi realizada a análise morfométrica da cabeça de 200 espermatozóides de cada animal. A padronização de um número mínimo de espermatozóides a serem analisados é interessante uma vez que a técnica de morfometria, para peixes, é muito laboriosa, pois os espermatozóides dessa

classe são bem menores que os de mamíferos, muitas vezes sendo confundidos pelo programa com artefatos. Outra dificuldade encontrada nesse processo foi a escassez de informações sobre a etapa de coloração de sêmen de peixe.

O limitado sucesso dessa etapa também pode ocorrer devido a numerosos artefatos produzidos durante a confecção dos esfregaços (TUSET et al., 2008). Segundo VERSTEGEN et al. (2002), os corantes não necessariamente permitem um apropriado contraste em escala de cinza para uma análise acurada pelo programa. TUSET et al. (2008) obtiveram resultados satisfatórios para espermatozóides de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) utilizando Hemacolor e Diff-Quick, corantes similares ao utilizado nesse estudo. Em pré-teste (dados não publicados), foram testados diversos corantes como Panótico de Hemograma, Diff-Quick, Azul de Bromofenol e Rosa Bengala, sendo o Panótico de Hemograma o mais eficiente para análise morfométrica da cabeça dos espermatozóides de pirapitinga. No entanto, os espermatozóides apresentaram-se fortemente corados, dificultando a captura das imagens pelo programa. Devido a isso, o tempo de exposição do esfregaço aos corantes sugerido pelo fabricante (cinco mergulhos) foi diminuído para dois mergulhos em cada uma das substâncias do kit de coloração, o que melhorou significativamente as análises.

A análise da morfometria da cabeça dos espermatozóides de pirapitinga mostrou que estes possuem área ($7,31 \text{ mm}^2$) bem menor que os espermatozóides de mamíferos ($29,02 \text{ mm}^2$) (HIDALGO et al., 2006). O menor tamanho, provavelmente se deve à falta de acrossoma, que é desnecessário aos peixes de fertilização externa, pois não realizam reação acrossomal e, sim, atravessam um orifício localizado no ovócito chamado de micrópila (MORALES, 1986). As médias de área ($7,31 \text{ mm}^2$), perímetro (9,72 mm), largura (2,33 mm) e comprimento (3,37 mm) da cabeça dos espermatozóides encontradas nesse trabalho são similares a área ($7,25 \text{ mm}^2$), perímetro (9,99 mm), largura (2,67 mm) e comprimento (3,22 mm) da cabeça dos espermatozóides de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) encontradas por TUSET et al. (2008).

Como conclusão, ressaltamos que é possível utilizar a metodologia CASMA do Sperm Class Analyser para caracterização morfométrica da cabeça de espermatozóides de pirapitinga. Este estudo estabeleceu os valores morfométricos da cabeça do espermatozoide de pirapitinga e com isso fornecerá subsídios básicos para avançar em estudos de reprodução e de repovoamento da espécie.

REFERÊNCIAS

- BILLARD, R.; COSSON, J.; PERCHEC, G.; LINHART, O. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 129, p. 95- 112, 1995.

FARIAS, J. Avaliação “in vitro” e “in vivo” do sêmen de tambaqui *Colossoma macropomum* conservado a temperatura ambiente e criopreservado em água de coco. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) - **Universidade Federal do Ceará**, Fortaleza, 1998.

FRESNEDA, A.; LENIS, G. AGUDELO E.; ANGEL, M. O. Espermiación inducida y crioconservación de semen de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). **Rev Col Cienc Pec.**, v. 17, p. 46-52, 2004. Suplemento.

GODINHO HP, AMORIM VMC, PEIXOTO MTD. Criopreservação do Sêmen de Tilápia-Nilótica *Oreochromis niloticus*, var. Chitralada: Crioprotetores, Soluções Ativadoras e Refrigerador Criogênico. **Rev Bras Zootec.** 32(6):537-1543. 2003

HARVEY, B. Banking fish genetic resources: the art of the possible. In : CASTRI, F.; YOUNES, T. **Biodiversity, Science and Development**: Towards a New Partnership. Wallingford: CAB International, p.439-445, 1996.

MARCO-JIMÉNEZ, F.; PEÑARANDA, D.L.; PÉREZ, L.; VIUDES-DE-CASTRO, M.P.; MYLONAS, C.C.; JOVER, M.; ASTURIANO, J.F. Morphometric characterization of sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) spermatozoa using computer-assisted spermatozoa analysis (ASMA). **J. Appl. Ichthyol.** v. 24, p. 382–385, 2008.

MC ANDREW, B.J.; RANA, K.J.; PENMAN, D.J. Conservation and preservation of genetic variation in aquatic organism. In: MUIR, J.F. e ROBERTS, R.J. **Recent Advances in Aquaculture**, v. IV. **Oxford: Blackwell Science**. p.295-336, 1993.

MORALES, J. Aquicultura Marina Animal. Madrid: **Ediciones Mundi-Prensa**. 670 p., 1986.

MYLONAS, C.C.; CARDINLETTI, G.; SIGELAKI, I.; POLZONETTI-MAGNI, A.; Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. **Aquaculture**, v. 246, p. 467-481, 2005.

MURGAS, L.D.S.; MILIORINI, A.B.; FREITAS, R.T.F.; PEREIRA, G.J.M. Criopreservação de semen de curimba (*Prochilodus lineatus*) mediante adição de diferentes diluidores, ativadores e crioprotetores. **Ver Bras. Zootec.**, v.36, n.3, p.526-531, 2007

NASCIMENTO, A.F.; MARIA, A.N.; PESSOA, N.O.; CARVALHO, M.A.M; VIVEIROS, A.T.M. Out-of-season sperm cryopreservation in different media of the Amazonian freshwater fish pirapitinga (*Piaractus brachypomus*). **Animal Reproduction Science**, v.118, p.324-329, 2010

PESSOA, N.O. Avaliação cinética do sêmen de pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) congelado em meio a base de água de coco em pó (ACP-104®) ou Ringer em três meios de ativação. Fortaleza. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - **Universidade Estadual do Ceará**, 2009.

SEKONI, V.O.; GUSTAFSSON, B.K. Seasonal variations in the incidence of sperm morphological abnormalities in dairy bulls regularly used for artificial insemination. **Br Vet J.**, v.143, p.312–317, 1987.

TUSET, V.M.; DIETRICH, G.J.; WOJTCZAK, M.; SLOWINSKA, M.; DE MONSERRAT, J.; CIERESZKO, A. Comparison of three staining techniques for the morphometric study of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa. **Theriogenology**, v.69, p.1033-1038, 2008.

VELÁSQUEZ-MEDINA, S. Criopreservação do sêmen de pirapitinga, *Piaratus brachypomus* (Pisces, Characidae), Fortaleza. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhais Tropicais) - **Universidade Federal do Ceará**, Instituto de Ciências do Mar, 2008.

VERSTEGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONELIN, K. Computer assisted sêmen analyzers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology**, v.57, p.149–79, 2002.

EFECTOS DE LA FRAGMENTACION EN LA MORFOLOGIA DE LOS ORGANISMOS: VARIACION EN LOS PATRONES DE COLORACION DE ABEJAS Y AVISPAS (INSECTA: HYMENOPTERA) EN UN PAISAJE ALTAMENTE FRAGMENTADO DEL OESTE DE PARANÁ

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 15/12/2019

Antony Daniel Muñiz Bravo

Bacharel em Ciências Biológicas - Ecologia e Biodiversidade pela Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA).

E-mail: antony.bravo@aluno.unila.edu.br

CV: <http://lattes.cnpq.br/8637327095727792>

Luis Roberto Ribeiro Faria

Doutorar em Ciências Biológicas pela UFPR, professor adjunto da Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA).

E-mail: luiz.faria@unila.edu.br

CV: <http://lattes.cnpq.br/9552279377504096>

RESUMEN: Es razonable suponer que la transición abrupta entre ambientes asociado a los procesos de fragmentación pueda llevar a padrones bastante distintos en la coloración de los organismos. De esta manera, el presente trabajo busco testar la hipótesis de que habría variación en los patrones de coloración de ensambles de abejas y avispas (Insecta, Hymenoptera) en ambientes de interior y borde de bosque, evaluando las siguientes predicciones: (i) los organismos encontrados

en áreas de interior de bosque presentarían integumentos con colores más oscuros que los organismos encontrados en el áreas de borde; (ii) habría diferencia en la relación entre el tamaño del cuerpo y la coloración de los organismos en los dos ambientes. Fueron realizadas muestras de abejas y avispas, con el auxilio de platos-trampa, en áreas de interior y de borde de bosque en el Parque Nacional Iguazú. Luego de montados, los insectos fueron fotografiados y la coloración y tamaño del cuerpo de los individuos fueron medidos. Se realizó entonces un análisis de covarianza (ANCOVA) para testar el efecto del local en la coloración de los insectos, mientras se controló el efecto del tamaño de los individuos. Los resultados encontrados dieron soporte a la hipótesis planteada, una vez que las predicciones fueron confirmadas. Las abejas y avispas tendieron a tener colores más oscuros en el interior del bosque que en el borde, y la relación entre el tamaño del cuerpo y el color fue distinta en los dos ambientes, de forma que solo hubo tendencia a la covariación en estas dos variables en el interior del bosque, donde individuos mayores tendían a ser más oscuros.

PALABRAS CALAVE: Fragmentación de áreas verdes; hipótesis del melanismo térmico, Parque Nacional Iguazú.

**EFFECTS OF FRAGMENTATION ON THE MORPHOLOGY OF ORGANISMS:
VARIATION IN COLORING PATTERNS OF BEES AND WASPS (INSECTA:
HYMENOPTERA) IN A HIGHLY FRAGMENTED LANDSCAPE OF THE WEST OF
PARANÁ**

ABSTRACT: It is reasonable to assume that the abrupt transition between environments associated with fragmentation processes can lead to quite different patterns in the coloration of organisms. In this way, we aim to test the hypothesis that there is variation in the patterns of coloration of bees and wasp assemblies (Insecta, Hymenoptera) in indoor environments and forest edge, evaluating the following predictions: (i) organisms found in interior forest areas would have integuments with darker colors than the organisms found in the border areas; (ii) there would be a difference in the relationship between body size and the coloration of organisms in the two environments. We made samples of bees and wasps with the help of trap dishes, in interior and forest edge areas in the Iguazú National Park. After assembling the insects, we photographed and measured the color and body size of the individuals. Then, we performed a covariance analysis (ANCOVA) to test the effect of the local on the coloration of the insects, while controlling the effect of the size of the individuals. Our results supported the hypothesis, once the predictions were confirmed. Bees and wasps tended to have darker colors inside the forest than at the edge, and the relationship between body size and color was different in the two environments, so that there was only a tendency to covariate in these two variables inside the forest, where bigger individuals tended to be darker.

KEYWORDS: Fragmentation of green areas; Thermal melanism hypothesis, Iguazú National Park.

RESUMO: É razoável supor que a transição abrupta entre ambientes associados a processos de fragmentação pode levar a padrões bastante diferentes na coloração dos organismos. Desta forma, o presente trabalho procurou testar a hipótese de que haveria variação nos padrões de coloração de assembleias de abelhas e vespas (Insecta, Hymenoptera) em ambientes internos e na borda da floresta, avaliando as seguintes previsões: (i) organismos encontrados em áreas florestais interiores teriam tegumentos com cores mais escuras do que os organismos encontrados nas áreas de borda da floresta; (ii) haveria uma diferença na relação entre o tamanho do corpo e a coloração dos organismos nos dois ambientes. Foram feitas amostras de abelhas e vespas, com a ajuda de pratos-armadilha, em áreas internas e de borda da floresta no Parque Nacional do Iguaçu. Após a montagem, os insetos foram fotografados e a cor e o tamanho do corpo dos indivíduos foram medidos. Uma análise de covariância (ANCOVA) foi então realizada para testar o efeito do local na coloração dos insetos, enquanto o efeito do tamanho dos indivíduos é controlado. Os resultados encontrados

corroboram a hipótese, uma vez confirmadas as previsões. As abelhas e as vespas tendiam a ter cores mais escuras dentro da floresta do que nas bordas, e a relação entre tamanho e cor do corpo era diferente nos dois ambientes, de modo que havia apenas uma tendência a covariável nesses duas variáveis dentro da floresta, onde indivíduos maiores tendiam a ser mais escuros.

1 | INTRODUCCIÓN

El proceso de fragmentación forestal viene afectando negativamente las dinámicas de las poblaciones de insectos polinizadores (Gonçalves et al., 2014) elementos críticos para la manutención de los servicios ecosistémicos en ambientes naturales y en paisajes agrícolas. La naturaleza adaptativa de los colores para la regulación de la temperatura del cuerpo de los insectos en diferentes condiciones ambientales es central en la biología de estos organismos, pero la explotación cuantitativa de la variación en los patrones de coloración de los insectos parece bastante aislada (ej. Williams, 2007). Y considerando que en ambientes fragmentados hay, en muchos casos, una transición abrupta entre ambientes, es razonable suponer que las diferentes presiones encontradas en ambientes de interior de bosque, borde y matriz puedan llevar a patrones bastante distintos en la coloración de los organismos encontrados en áreas de bosque y de matriz. El presente trabajo buscara testar la hipótesis de que hay variación en los patrones de coloración en ensambles de Hymenoptera (Insecta) en ambientes de bosque (el interior de fragmentos) y de borde de bosque, a partir de la evaluación de las siguientes predicciones (i) los organismos encontrados en áreas de interior de bosque presentarían integumentos con colores más oscuros que los organismos encontrados en el áreas de borde; (ii) habría diferencia en la relación entre el tamaño del cuerpo y la coloración de los organismos en los dos ambientes.

2 | FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

La fragmentación de hábitats ha sido considerada hace mucho un objeto central en la Biología de la Conservación (e.j. Meffe & Carroll, 1997) y lleva a las especies a nuevos ambientes de áreas reducidas, mayor aislamiento e nuevas dinámicas ecológicas (Ewers & Didham, 2006). Y este es el escenario en el Bosque Atlántico de interior (donde se encuentra la región de la Triple Frontera): aunque los bosques hayan cubierto una gran parte del este del Paraguay, el noreste de Argentina y el sureste del Brasil, hoy poco queda de la cobertura original, y esos remanentes son altamente fragmentados (Holz & Placci, 2005). Considerando que en ambientes fragmentados hay en muchos casos, una transición abrupta entre ambientes de

bosques (el interior de fragmentos) y áreas abiertas (la matriz), pasando por la interfaz entre los dos ambientes (el borde), es razonable suponer que las diferentes presiones encontradas en cada uno de estos ambientes puede llevar a patrones bastante distintos en la coloración de los organismos encontrados en estas áreas. El balance térmico en organismos ectodérmicos depende fuertemente de la capacidad del animal de ganar y conservar calor y de su flexibilidad en la termorregulación (e.j. Olalla-Tárraga et al. 2006; Schweiger et al. 2016). Es importante resalta que los mecanismos de termorregulación son totalmente dependientes del tamaño del cuerpo de los individuos, y que las relaciones entre tamaño de cuerpo y capacidad de termorregulación no son lineares (Olalla-Tárraga et al., 2006). La hipótesis del melanismo térmico (*thermal melanism hypothesis* e.j. Watt, 1968) predice que individuos oscuros tendrían ventaja en climas fríos o menos soleados ya que se calientan más rápido y alcanzan temperatura de equilibrio más altas que individuos de coloración más clara (Clusella-Trullas et al., 2008). Teniendo en cuenta que la temperatura corporal influencia gran parte de los procesos fisiológicos de los organismos, las diferencias en las tasas de calentamiento y temperatura de equilibrio en individuos con coloración de baja y alta reflectancia, es esperado que estas características influencien el *fitness* de los organismos (Hochachka & Somero, 2002; Clusella-Trullas et al., 2008; Harris et al., 2013). Afirmaciones sobre la ventaja adaptativa de colores más claras/oscuras para insectos encontraron evidencias en trabajos realizados en mariposas (e.j. Kingsolver, 1983; Roland, 2006), escarabajos (Brakefield, 1985), saltamontes (Unsicker et al., 2008; Harris et al. 2013), avispas (e.j. Käpälä, 1974) y abejas (e.j. Williams, 2007). La mayor parte de las investigaciones en este asunto, sin embargo, tienen como foco algunas pocas especies. Abordajes que tratan de la variación en la coloración en asambleas de insectos son bastante restrictos, donde la mayor parte de los ejemplos envuelven el análisis de esta variación a lo largo de gradientes altitudinales (e.j. Harris et al. 2013).

3 | METODOLOGIA

La colecta de datos en campo se realizó en el Parque Nacional Iguazú, específicamente en el camino del “Poço Preto” y la ruta dentro del parque, siendo estas el área de interior y el área de borde respectivamente. Las colectas fueron efectuadas entre noviembre y diciembre de 2016, y fueron utilizados platos-trampa amarillos y azules, método reconocido como capaz de capturar especies de abejas y avispas de distintos grupos (Gonçalves et al., 2014). En cada colecta fueron distribuidas 20 trampas en cada ambiente, que eran colocadas en torno de las 9:00 h, y dejados hasta las 16:00 h, lo que abarcaría el periodo de mayor actividad de estos organismos. Luego del montaje en alfileres entomológicos de los individuos

colectados, se tomaron fotografías 3D estandarizadas de los especímenes en microscopio estereoscópico y las fotos fueron tomadas en blanco y negro ya que lo que se pretende es medir en una escala de grises. También mediante software específico (AxioVision) fueron realizadas las medidas da distancia intertegular de los individuos, siendo esta la variable asumida como capaz de estimar adecuadamente el tamaño del cuerpo de abejas y avispas. A partir de las fotos individuales, se realizó un análisis en el programa ImageJ, en este se midió la coloración en la escala de grises del mesoscuto de cada espécimen. Para este procedimiento, las fotos fueron transformadas en archivos de 8 bits, de forma que cada pixel tendría un valor atribuido, variando de 0 (totalmente negro) a 255 (totalmente blanco). La mediana de los valores de los píxeles en el mesoscuto, fue considerada como medida de color del individuo. Este método fue adaptado del presentado por Zeuss et al. (2014). Luego de la construcción del banco de datos, las medidas extremas de cada variable, i.e outliers fueron removidas y se realizaron tests de normalidad (Shapiro-Wilk) para cada una de las variables continuas. Se realizó entonces en análisis de covarianza (ANCOVA) procedimiento utilizado para testar el efecto de un factor categórico (en el caso, el local, interior o borde de bosque) en la variable dependiente (en el caso, la coloración de los individuos) en tanto controla el efecto de un cofactor continuo (en el caso, el tamaño de los individuos). Todos los procedimientos fueron realizados en el programa R (R Core Team, 2016).

4 | RESULTADOS

Fueron analizados el color y el tamaño del cuerpo de 195 individuos de abejas y avispas colectados en borde (N=148) e interior de bosque (N=47). El análisis de covarianza reveló un efecto significativo del local (interior o borde de bosque) en la coloración de los individuos, de forma que los organismos presentan colores más oscuros, i.e. de menor reflectancia, en el interior del bosque ($F_{1,191} = 41,713$; $p = 8,54E-10$). El análisis reveló además que hay una interacción significativa entre local y tamaño de los individuos con relación a la variación en el color ($F_{1,191} = 7,911$; $p = 0,005$). Es posible percibir entonces que la manera como el color responde a la variación en el tamaño de los individuos es diferente en el borde y en el interior del bosque. Las regresiones lineares mostraron que solo hay efecto significativo del tamaño del cuerpo en la coloración en el interior del bosque ($t = 2,118$; $p = 0,039$; como muestra la Figura 1) donde organismos mayores tienden a ser más oscuros. En el borde del bosque por otro lado, no hay efecto significativo del tamaño en el color de los individuos ($t = 1,231$; $p = 0,232$; como muestra la Figura 1).

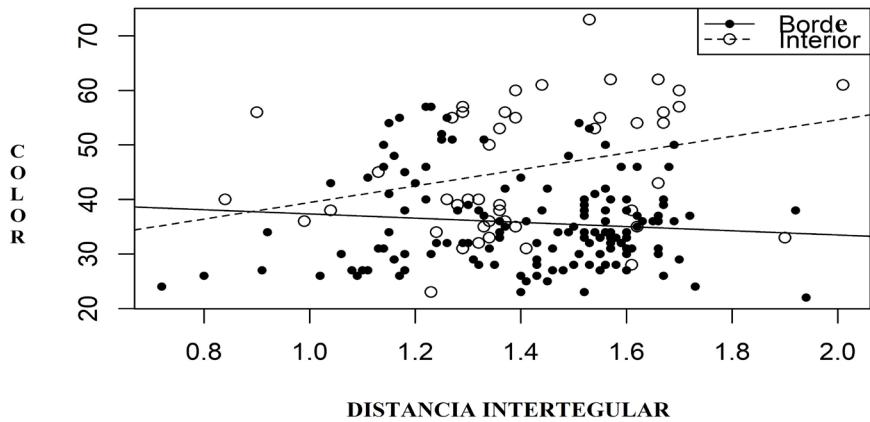


Figura 1. Distribución de los individuos colectados en el borde e interior de bosque (variable categórica), de acuerdo a su coloración (variable dependiente; eje vertical) y su tamaño (cofactor continuo; eje horizontal)

5 | DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta la hipótesis del melanismo térmico (Watt, 1968; Clusella-Trullas et al. 2008). La mayoría de los insectos necesitan alcanzar temperaturas corporales por encima de la temperatura ambiente para volar, forrajeo o apareamiento. Sin embargo, ser oscuro es solo ventajoso en climas fríos, o ambientes fríos, como el caso del interior del bosque. Asimismo, en áreas con altas temperaturas e insolación, los insectos necesitan protegerse contra el sobrecalentamiento, tal vez eligiendo horarios con menor radiación solar (ajuste comportamental). A altas temperaturas, las especies ectotérmicas con coloración ligera pueden ser activas durante un período más largo que las especies con coloración oscura, y pueden ser capaces de utilizar un rango térmico más amplio de hábitats. (Zeuss, 2013) reflectância (baja: vantajosa para regiones frias, alta: vantajosa en ambientes calientes) (e.j. Kingsolver 1987; Gibert et al. 1998; Ellers & Boggs 2004). Se necesita estudiar la posibilidad de cambios en la variación de la composición de abejas y avispas en ambientes fragmentados de áreas reducidas y las nuevas dinámicas ecológicas aparejadas (Ewers & Didham, 2006), así como la influencia en el fitness de los organismos (Hochachka & Somero, 2002; Clusella-Trullas et al., 2008; Harris et al., 2013).

6 | CONCLUSIÓN

Los resultados encontrados brindan soporte a la hipótesis planteada, una vez que las predicciones fueron confirmadas. Las abejas y avispas tienden a tener

colores más oscuros en el interior del bosque que en el borde, y la relación entre el tamaño del cuerpo y el color es distinta en los dos ambientes, de manera que solo hay una tendencia a la covariación en estas dos variables en el interior del bosque, donde individuos mayores tienden a ser más oscuros.

REFERENCIAS

- Brakefield, P.M. 1985. **Polymorphic Müllerian mimicry and interactions with thermal melanism in ladybirds and a soldier beetle: a hypothesis.** Biological Journal of the Linnean Society 26: 243-267.
- Clusella-Trullas, et al. 2008. **Testing the thermal melanism hypothesis: a macrophysiological approach.** Functional Ecology 22: 232-238.
- Ewers R.M. & R.K. Didham. 2006. **Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation.** Biological Reviews 81: 117-142
- Gonçalves, R.B. et al. 2014. **Bee and wasp responses to a fragmented landscape in southern Brazil.** Journal of Insect Conservation 18: 1193-1201.
- Harris, R.M. et al. 2013. **A test of the thermal melanism hypothesis in the wingless grasshopper Phaulacridium vittatum.** Journal of Insect Science 13:51.
- Hochachka, P.W. & G.N. Somero. 2002. **Biochemical Adaptation: mechanism and process in physiological evolution.** Oxford University Press, New York.
- Holz, S. & G. Placci. 2005. **Raízes socioeconômicas da perda da biodiversidade em Misiones.** p. 207-226. In: C. Galindo-Leal & I.G. Câmara (Eds.). **Mata Atlântica: biodiversidade, ameaças e perspectivas.** Fundação SOS Mata Atlântica, São Paulo/ Conservação Internacional, Belo Horizonte.
- Käpylä, M. 1974. **Diurnal flight activity in a mixed population on Aculeata (Hym.).** Annales Entomologici Fennici 40: 62-69.
- Kingsolver, J.G. 1983. **Thermoregulation and flight in *Colias* butterflies: elevational patterns and mechanistic limitations.** Ecology 64: 534-545.
- Meffe G.K. & C.R. Carroll 1997. **Principles of Conservation Biology.** Sinauer Associates, Sunderland.
- Olalla-Tárraga, M. Á., Rodríguez, M. Á., & Hawkins, B. A. (2006). Broad-scale patterns of body size in squamate reptiles of Europe and North America. Journal of Biogeography, 33(5), 781-793.**
- Roland J. 2006. **Effect of melanism of alpine *Colias nastes* butterflies (Lepidoptera: Pieridae) on activity and predation.** Canadian Entomologist 138: 52-58.
- Schweiger, A. H., & Beierkuhnlein, C. (2016). Size dependency in colour patterns of Western Palearctic carabids. nEcography, 39(9), 846-857.**
- Unsicker, S.B. et al. 2008. **Colour morph related performance in the meadow grasshopper *Chorthippus parallelus* (Orthoptera, Acrididae).** Ecological Entomology 33: 631-637.
- Watt, W.B. 1968. **Adaptive significance of pigment polymorphisms in *Colias* butterflies. I. Variation of melanin pigment in relation to thermoregulation.** Evolution 22: 437-458.

Williams, P. 2007. **The distribution of bumblebee colour patterns worldwide: possible significance for thermoregulation, crypsis, and warning mimicry.** Biological Journal of the Linnean Society 92: 97-118.

Zeuss, D.; et al. 2014. **Global warming favours light-coloured insects in Europe.** Nature Communications 5: 3874.

EFEITO DO PH E DA TEMPERATURA NA BIOSSORÇÃO DE LARANJA SAFRANINA POR *AIPHANES ACULEATA*

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 29/11/2019

de Engenharia de Alimentos

Maringá – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/8930542097391008>

Raquel Guttierres Gomes

Universidade Estadual de Maringá, Departamento
de Engenharia de Alimentos

Maringá – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/3085709303757001>

Rosângela Bergamasco

Universidade Estadual de Maringá, Departamento
de Engenharia Química

Maringá – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/2031806059477046>

Lennon Alonso de Araujo

Universidade Estadual de Maringá, Departamento
de Biotecnologia, Genética e Biologia celular
Maringá – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/1146874580366423>

Laiza Bergamasco Beltran

Universidade Estadual de Maringá, Programa de
pós-graduação em Ciências de Alimentos
Maringá – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/5826892663656572>

Eduarda Freitas Diogo Januário

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

<http://lattes.cnpq.br/7190851191932240>

Yasmin Jaqueline Fachina

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

<http://lattes.cnpq.br/6902664923349137>

Gabriela Maria Matos Demiti

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

<http://lattes.cnpq.br/5429529885884148>

Angélica Marquetotti Salcedo Vieira

Universidade Estadual de Maringá, Departamento

RESUMO: Corantes têm sido constantemente detectados nos recursos hídricos em virtude de sua ampla utilização em diversos ramos industriais como indústria de alimentos, têxtil e farmacêutica, que acabam gerando uma grande quantidade de efluentes que dificilmente são tratados de modo eficaz pelos métodos convencionais de tratamento de água. Métodos avançados como a biossorção se tornam uma ótima opção para remoção destes micropoluentes da água em virtude de seu excelente desempenho, baixo custo e possibilidade de utilização de diversos tipos de materiais como biossorvente. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o

efeito do pH e da temperatura no processo de biossorção de Laranja Safranina a partir da utilização do endocarpo do fruto de *Aiphanes aculeata*. Os resultados mostraram que o maior percentual de remoção (90%) foi em pH 10 e na temperatura de 55°C. Estes estudos contribuem para otimização do processo de biossorção de Laranja Safranina pelo endocarpo do fruto de *Aiphanes aculeata*.

PALAVRAS-CHAVE: Biosorvente. Corantes. Contaminantes. Tratamento de água. Efluentes.

EFFECT OF PH AND TEMPERATURE ON SAFRANINA ORANGE BIOSORPTION BY *AIPHANES ACULEATA*

ABSTRACT: Dyes have been constantly detected in water resources because of their widespread use in various industrial branches such as the food, textile and pharmaceutical industries, which end up generating a large amount of effluents that are hardly effectively treated by conventional water treatment methods. Advanced methods such as biosorption become a great option for removing these micro pollutants from water due to their excellent performance, low cost and the possibility of using various types of materials as biosorbent. Thus, the present study aimed to evaluate the effect of pH and temperature on the biosorption process of Orange Safranina from the use of *Aiphanes aculeata* fruit endocarp. The results showed that the highest removal percentage (90%) was at pH 10 and 55 ° C. These studies contribute to the optimization of the biosorption process of Orange Safranina by *Aiphanes aculeata* fruit endocarp.

KEYWORDS: Biosorbent. Dyes. Contaminants. Water treatment. Effluents.

1 | INTRODUÇÃO

Variados tipos de indústria (têxtil, papel, gráfica, farmacêutica, alimentícia, etc.) usam corantes durante a produção de seus produtos. Em relação ao aspecto ambiental, um dos principais problemas encontrados no tratamento de efluentes é a remoção da cor da água (FAYAZI et al., 2015) A descarga de águas residuais contendo corantes apresenta um grave problema de poluição, uma vez que os corantes dão cor indesejável à água e reduzem a penetração da luz solar, ocorrendo assim, uma interferência no crescimento de bactérias a um nível insuficiente para degradação biológica de impurezas, além disso a presença do corante dificulta a realização da fotossíntese, causando sérios danos à fauna e flora destes locais (DALLAGO et al., 2005). Em humanos, o contato com águas residuais contendo corantes pode causar sérios problemas de saúde, como dermatite alérgica, mutação e câncer além disso, podem levar à disfunção dos rins, fígado e cérebro (PEIXOTO et al., 2013).

Os corantes geralmente têm estrutura aromática complexa e, portanto, a maioria deles é altamente resistente à quebra por tratamentos químicos, físicos

e biológicos. O Laranja Safranina (cloreto de 3,7-dimetil-10-fenilfenazina-10-iodo-2,8-diamina) é um corante orgânico solúvel em água, amplamente utilizado nas indústrias têxteis (GUPTA et al., 2007). No entanto, o Laranja Safranina pode causar queimaduras nos olhos podendo ser responsável por lesões permanentes na córnea, além de causar irritação na pele e danos ao trato respiratório (MOSTAFA et al., 2019).

Muitos métodos têm sido propostos para o tratamento de efluentes contendo corantes, tais como: flocação, coagulação, precipitação, adsorção, bioabsorção, filtração por membranas, técnicas eletroquímicas, ozonização e descoloração fúngica (VADIVELAN; KUMAR, 2005). Entre eles a bioabsorção se apresenta como uma alternativa interessante economicamente em substituição a adsorção convencional, propondo a utilização de produtos residuais; devido seu baixo custo, alta seletividade e eficiência. Vários trabalhos vêm sendo realizados utilizando materiais usualmente descartados com o intuito de avaliar o potencial bioabsorvente, destacando-se: o mesocarpo de coco, o bagaço de cana-de-açúcar, a casca de arroz, as cascas de semente de Moringa, as macrófitas aquáticas e a serragem de madeira (ARAUJO et al., 2018; OFOMAJA, 2008).

Visto a importância da pesquisa sobre novos bioabsorventes para remoção de corantes sintéticos do meio aquoso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do pH e da temperatura no processo de bioabsorção de Laranja Safranina a partir da utilização do endocarpo do fruto da palmeira *Aiphanes aculeata*, pertencente à família Arecaceae.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Preparação do Bioabsorvente

Os endocarpos usados como bioabsorvente (Figura 1) foram coletados na Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR. Depois de colhidos, eles foram triturados em um triturador industrial (Tecnal) e peneirados. Em seguida foram lavados com água quente em agitador magnético MS-H-Pro-Plus (Scilogex) e o material obtido foi seco por 24h em estufa a 100 °C.



Figura 1: Endocarpos de *Aiphanes aculeata*.

2.2 Preparação da solução de Laranja Safranina

O corante usado no estudo foi obtido da empresa INLAB (Diadema/SP). Cerca de 1 g do pó de Laranja Safranina foi dissolvido em 5 L de água destilada e a concentração foi quantificada em um espectrofotômetro UV-VIS (HACH DR 2800) em comprimento de onda de 520 nm, segundo curva de calibração. Adicionou-se água destilada à solução mãe até que esta atingisse a concentração inicial desejada de 50 mg L⁻¹.

2.3 Ensaios de biossorção

Pesou-se 0,05 g de biossorvente em um pote de adsorção contendo 25 ml de solução do corante Laranja Safranina (LS) com concentração inicial de 50 mg L⁻¹. A concentração final foi lida em espectrofotômetro e a porcentagem de remoção foi determinada. Os testes foram feitos em Shaker Tecnal modelo TE-4200 com agitação de 150 rpm por 24 horas. Variou-se a temperatura, sendo elas 25, 35, 45 e 55°C e os valores de pH: 4, 7 e 10.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 2, observa-se a influência do pH na remoção do corante Laranja Safranina.

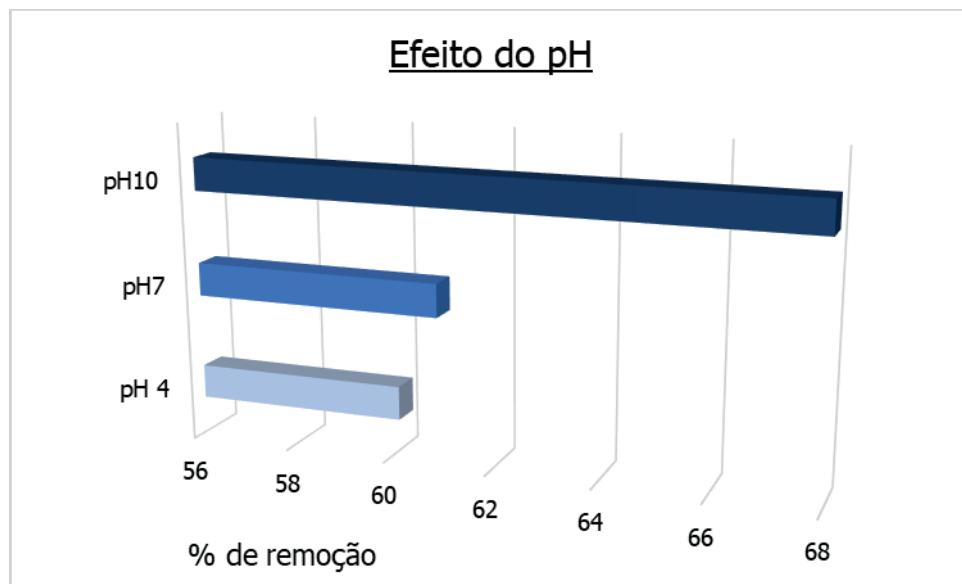


Figura 2: Influência do pH na remoção de Laranja Safranina.

Analizando os dados do ensaio de efeito de pH, pode-se verificar maior remoção de corante em pH 10, cerca de 68%, seguido por 61% de remoção no pH 7 e 59% no pH 4, indicando que a afinidade do corante LS pelo biossorvente aumenta em pH mais básico.

A figura 3 mostra o efeito da temperatura na remoção de LS da água.

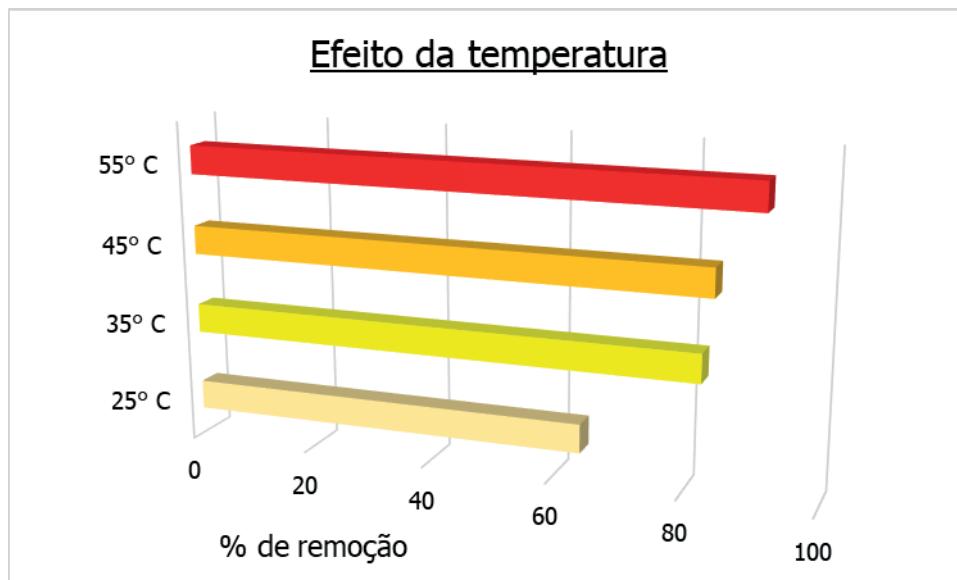


Figura 3: Efeito da temperatura na remoção de Laranja Safranina.

Os dados do efeito de temperatura mostram que quanto maior a temperatura, maior a remoção de LS. Na temperatura de 25°C, a remoção foi de 64%, seguido por 82% em 35°C e 84% em 45°C chegando a 90% em 55°C, o que pode indicar um comportamento endotérmico.

4 | CONCLUSÃO

Concluímos neste trabalho que o melhor pH para remoção do corante Laranja Safranina do meio aquoso foi em pH 10 e que o processo de biossorção apresenta um comportamento endotérmico, ou seja, com o aumento da temperatura a capacidade de remoção do contaminante também aumenta. Estes estudos contribuem para otimização do processo de biossorção de Laranja Safranina da água pelo endocarpo do fruto da palmeira *Aiphanes aculeata*.

AGÊNCIAS DE FOMENTO

CNPq, Purific Ltda.

REFERÊNCIAS

- ARAUJO, L. A., BEZERRA, C. O., CUSIOLI, L. F., SILVA, M. F., NISHI, L., GOMES, R. G., & BERGAMASCO, R. **Moringa oleifera biomass residue for the removal of pharmaceuticals from water**. Journal of Environmental Chemical Engineering, v. 6, p. 7192–7199, 2018.
- DALLAGO R.M; SMANIOTTO A; OLIVEIRA L.C.A. **Resíduos sólidos de curtumes como adsorventes para a remoção de corantes em meio aquoso**. Química Nova, v. 28, p. 433-437, 2005.
- FAYAZI M, AFZALI D, TAHER MA, MOSTAFAVI A, GUPTA VK. **Removal of Safranin dye from aqueous solution using magnetic mesoporous clay: Optimization study**. J Mol Liq, v. 212, p. 675-685, 2015.
- GUPTA VK, JAIN R, MITTAL A, MATHUR M, SIKARWAR S. Photochemical degradation of the hazardous dye Safranin-T using TiO₂ catalyst. J Colloid Interface Sci, v. 309, p 464-469, 2007
- MOSTAFA R.; ABUKHADRA; AYA FADL ALLAH. Adsorption Removal of Safranin Dye Contaminants from Water Using Various Types of Natural Zeolite. Journal Inorganic Chemistry Communications, v. 103, p. 30, 2019.
- OFOMAJA, A.E. **Kinetic study and sorption mechanism of methylene blue and methyl violet onto mansonia (Mansonia altissima) wood sawdust**. Chemical Engineering Journal, v. 143, p. 85–95, 2008
- PEIXOTO, F.; MARINHO, G.; RODRIGUES, K. **Corantes têxteis: uma revisão**. Holos, v. 5, p. 98-106, 2013.
- VADIVELAN V; KUMAR K.V. **Equilibrium, kinetics, mechanism, and process design for the sorption of methylene blue onto rice husk**. Journal of Colloid and Interface Science. v. 286, p.90–100, 2005.

EFEITO DA TEMPERATURA NO DESEMPENHO DE *Macrobrachium amazonicum* EM SISTEMA DE RECIRCULAÇÃO E EXTRAÇÃO DA QUITOSANA A PARTIR DO CEFALOTÓRAX PARA PRODUÇÃO DE BIOMEMBRANA

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 10/12/2019

João Pedro Silvestre Armani

Colégio Gabriela Mistral

Palotina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/8893855310969053>

Carlise Desbastiani

União de Ensino Superior do Paraná (UESPAR)

Palotina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/2670121526356703>

Eduardo Luis Cupertino Ballester

Universidade Federal do Paraná

Palotina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/7710902249475122>

camarões gera uma grande quantidade de resíduos, portanto técnicas para aproveitamento da carcaça do animal para extração de subprodutos de alto valor comercial também são muito importantes. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o crescimento de *M. amazonicum* em sistema de recirculação submetidos a diferentes temperaturas e confeccionar biomembrana a partir de produtos extraídos do cefalotórax desta espécie. Foram montados dois sistemas (Sistema 1 com 30 °C e Sistema 2 com 20 °C) com 3 tanques em cada sistema onde foram inseridos 15 camarões juvenis previamente pesados em cada tanque . A alimentação, sifongem e aferição da temperatura foram realizadas três vezes ao dia durante todo o experimento bem como aferição de outros parâmetros físicos e químicos . A extração e confecção da biomembrana foram realizadas seguindo metodologia específica. Existe uma relação positiva entre o aumento da temperatura e o peso dos camarões e é possível reutilizar partes que são descartadas para confeccionar biomembrana a partir da extração da quitosana do cefalotórax dos camarões.

PALAVRAS-CHAVE: Carcinicultura, *Macrobrachium amazonicum*, Sistema de Recirculação.

RESUMO: A pesca de camarões de agua doce é uma atividade de grande valor principalmente na região norte do Brasil, porém a criação de camarões de agua doce (carcinicultura) é atualmente uma atividade de pouca expressão econômica em nosso país necessitando mais estudos para seu desenvolvimento, principalmente em relação às espécies nativas. Estudos anteriores demonstraram que *Macrobrachium amazonicum* é a espécie brasileira com maior potencial para produção em cativeiro. Além disso, a produção de

EFFECT OF TEMPERATURE ON THE PERFORMANCE OF *Macrobrachium amazonicum* IN RECIRCULATION SYSTEM AND EXTRACTION OF CHITOSAN FROM CEPHALOTHORAX FOR THE PRODUCTION OF BIOMEMBRANE

ABSTRACT: The fishing of freshwater shrimp is a notable activity, especially in the north region of Brazil. However, the freshwater shrimp farming is, currently, an activity of low economical importance in our country. Therefore, it demands more studies for its development, specially about the native species. Previous studies showed that *Macrobrachium amazonicum* is the Brazilian species with the biggest potential for captive breeding. Besides, the shrimp breeding generates a big quantity of residues, so it is important to present techniques for reusing the shrimp's carcass in order to obtain subproducts of high commercial value. Thus, this work aims to assess the growing *M. amazonicum* in recirculation systems which were submitted to different temperatures, as well as to obtain biomembrane from the products extracted from this species' cephalothorax. Two systems (System 1 at 30 °C and System 2 at 20 °C) were assembled. Each of them had 3 tanks, where 15 previously weighed young shrimps, were inserted in. The feeding, siphoning and temperature measurement were carried out three times a day during all the experiment, as well as the measurement of other physical and chemical parameters. The extraction and obtainment of the biomembrane was carried out according to specific methodologies. There was a positive relation between the temperature increase and the shrimp's weight and it was also possible to reuse discarded parts to obtain biomembrane from the shrimp's cephalothorax chitosan.

KEYWORDS: Shrimp Farming, *Macrobrachium amazonicum*, Recirculation System.

1 | INTRODUÇÃO

Mundialmente existe um consumo em larga escala do camarão de água doce através da carcinicultura. Os dados mais recentes da FAO (2016) apontam para uma produção de aproximadamente 500 mil toneladas de camarões de água doce provenientes da produção em cativeiro agregando um valor de cerca de U\$ 2,6 bilhões. Outro fator que merece destaque é o crescimento da importância da produção de *Macrobrachium nipponense* uma espécie nativa da China, criada exclusiva naquele país, que atingiu uma produção de 257. 641 toneladas em 2014 e que desde 2010 tem superado a produção mundial de *Macrobrachium rosenbergii*, originalmente a principal espécie produzida em todo o mundo.

No Brasil a espécie exótica *M. rosenbergii* é a única produzida comercialmente em cativeiro, entretanto, apesar de haver sido registrado sucesso no início desta atividade com produções próximas a 1000 toneladas por ano no início da década de 90 (VALENTI, 1993) a atividade entrou em declínio e atualmente a produção é muito reduzida registrando valores próximos a apenas 100 toneladas por ano desde 2008

(FAO 2016). Por outro lado, as espécies nativas *Macrobrachium amazonicum* (Heller 1862), *Macrobrachium acanthurus* (Weigmann 1836) e *Macrobrachium carcinus* (Linnaeus 1758) são exploradas por meio da pesca principalmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (VALENTI, 2007; MACIEL e VALENTI, 2009) e representam uma importante fonte de renda para centenas de famílias de pescadores artesanais destas regiões. Estimativas não publicadas apontam uma produção que pode atingir de 20.000 a 40.000 toneladas por ano, através da pesca destas espécies apenas na região Norte (Eduardo Ballester – comunicação pessoal).

Entre as espécies nativas brasileiras *M. amazonicum* é a que apresenta maior potencial para produção em cativeiro (MORAES-VALENTI e VALENTI 2010, MARQUES e MORAES-VALENTI 2012). Este camarão pode atingir 16 cm e 30 g (MORAES-VALENTI & VALENTI, 2010). Sua carne apresenta textura mais firme e sabor mais acentuado em relação à carne de *M. rosenbergii*, sendo mais bem aceita nos mercados consumidores e sendo amplamente consumido pelas populações de baixa, média e alta renda na região amazônica (MORAES-RIODADES & VALENTI, 2001) e nordeste do Brasil (NEW et al., 2000).

Em nosso país existem diversas espécies nativas de camarões de água doce com potencial para criação comercial. A principal é o *M. amazonicum* (camarão da Amazônia) que se encontra melhor adaptada para esta atividade, superando outras espécies em virtude de características como: crescimento rápido, hábito alimentar, alta fertilidade e fecundidade, além de boa aceitação no mercado.

A espécie *M. amazonicum* que é conhecido como camarão-da-amazônia, destaca-se, pois a espécie nativa com maior ocorrência nas águas interiores desta região (Odinetz-Collart, 1993). Apesar de ser uma espécie endêmica da região Amazônica (Odinetz – Collart, 1991), também é encontrada nas bacias dos rios Paraná e São Francisco. Apresenta ampla plasticidade ecológica e morfológica que facilita sua criação em sistema de recirculação.

Em nossa cidade, através do Laboratório de Carcinicultura da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, muitas pesquisas vem sendo realizadas, inclusive o cultivo desta espécie por produtores da cidade e região. Como é uma prática recente em nosso município e com objetivo de introduzir o método científico para os alunos do ensino fundamental II e instigar o espírito científico desses jovens alunos buscou-se trabalhar com a fase juvenil da espécie *M. amazonicum*. Uma espécie fácil de cultivar que responde rapidamente as alterações físicas e químicas. Dentre essas variáveis, a temperatura é uma das principais e, estudos anteriores demonstram que o desempenho dos camarões pode ser afetado diretamente por esta variável (HENNIG e ANDREATTA, 1998).

Os juvenis desta espécie foram cedidos gentilmente pelo laboratório de carcinicultura da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina. Este projeto

foi desenvolvido nas dependências do Colégio Gabriela Mistral no município de Palotina – PR, durante um período de dois meses. A realização do experimento no próprio colégio serviu para facilitar a participação dos alunos nas atividades de alimentação dos camarões, sifonagem dos tanques e monitoramento das variáveis de qualidade da água.

2 | OBJETIVOS DA PESQUISA

- Avaliar a influência da temperatura sobre o desempenho zootécnico de *M. amazonicum* produzido em sistema de recirculação.
- Realizar a extração da quitosana a partir docefalotórax do *M. amazonicum* e confeccionar biomembrana como subproduto.

3 | QUESTÃO PROBLEMA

- A temperatura é mesmo um fator que influencia no desempenho zootécnico desta espécie?
- Se as partes descartadas do camarão são jogadas nos lixões, por que não utilizá-las para desenvolver subprodutos?

4 | HIPÓTESES DA PESQUISA

- Existe uma relação positiva entre o aumento da temperatura e o desempenho zootécnico do *M. amazonicum*;
- A temperatura influencia no consumo de ração da espécie estudada;
- É possível confeccionar biomembranas extraíndo a quitosana docefalotórax de *M. amazonicum*.

5 | DESCRIÇÃO DE MATERIAIS E MÉTODOS

- Tipo de pesquisa

A pesquisa utilizada neste trabalho foi quali-quantitativa de natureza aplicável com comparação de temperatura entre os tratamentos. Paralelo a isso, foi realizado em levantamento bibliográfico em periódicos e artigos para levantamento de informações científicas.

- Descrição

A montagem do experimento iniciou no mês de Maio no Colégio Gabriela Mistral. Utilizaram-se quatro palhetes como base para que houvesse uma diferença no nível de altura, fazendo com que a água caísse nos tanques para os filtros por

meio da pressão atmosférica (IMAGEM 1). Os palhetes foram agrupados de dois em dois e em cada agrupamento foram posicionadas três caixas d'água de 100 litros para que servissem de abrigo aos camarões. No chão foram colocadas duas caixas para que servisse de filtro, uma para cada sistema. Posicionaram-se tubos e conexões de modo com que a água dos tanques que abrigavam os crustáceos fosse até o filtro para que fosse filtrada e a água já filtrada voltasse para os tanques.



Imagen 1 – Sistemas montados sob os palletes.

Fonte:Os autores, 2016.



Imagen 2 – Filtros biológicos.

Fonte:Os autores, 2016.

Nos filtros (IMAGEM 2) colocou-se pedras britas para que houvesse uma filtragem biológica e mantivesse as bactérias degradadoras de amônia, visto que esta substância é tóxica. Utilizaram-se aquecedores regulados de maneira diferente para atingir a temperatura desejada. Para que a água limpa subisse utilizou-se uma bomba submersa de 1200 L/h inserida no filtro.

Montou-se a caixa de reposição de água (IMAGEM 3) em uma caixa d'água de 100 litros que servia para retirar o cloro da água. Nela havia uma boia que impedia a água de transbordar, um compressor para fazer bolhas de ar com objetivo de evaporar parte do cloro presente na água. A água presente nesta caixa servia de reposição e a cada sifonagem era necessário repor. Vale ressaltar que esta água deveria estar sem cloro, pois este inibe a respiração dos camarões.



Imagen 3 – Caixa de reposição de água

Fonte: Os autores, 2016.

Como o objetivo do trabalho foi avaliar a influência da temperatura no desempenho zootécnico da espécie, montou-se dois sistemas que tiveram suas temperaturas ajustadas nas seguintes temperaturas com o auxílio de aquecedores: Sistema 1 (28 a 30°C) e o sistema 2 (20°C a 22°C). Os sistemas ficaram funcionando por 1 semana antes de colocarmos os crustáceos. Os camarões juvenis foram inseridos no experimento no dia 27 de Junho de 2016 cedidos gentilmente pelo Laboratório de Carcinicultura da UFPR – Setor Palotina dentro de sacos de transporte (IMAGEM 4).



Imagen 4 – Camarões dentro de sacos de transporte chegando ao experimento. Fonte: Os autores, 2016.

Ao chegarem foram aclimatados dentro dos tanques por 10 minutos para que a temperatura ficasse igual e não houvesse um choque térmico (IMAGEM 5). Na sequencia, abriu-se o saco de transporte e colocou-se uma pequena quantidade de água dentro dos sacos para que o pH ficasse idêntico para evitar o óbito desses organismos. Foram inseridos 15 juvenis de camarão em cada tanque (devido a densidade), totalizando 90 camarões juvenis no experimento.



Imagen 5 – Aclimatação dos camarões.

Fonte: Os autores, 2016.

Através de uma biometria inicial (IMAGEM 6), verificou-se o peso e o comprimento inicial dos juvenis para poder comparar os sobreviventes no final do experimento. Para isso, utilizou-se a balança analítica de precisão e paquímetro. Estes dados foram lançados em tabelas para comparação da biometria final através do Teste T.



Imagen 6- Biometria inicial dos juvenis do *M. amazonicum*.

Fonte: Os autores, 2016.

Depois da biometria inicial foi calculada a média do consumo diário de ração dos animais (0,2 g de ração por tanque). Através de observação, verificando se sobrava ou faltava ração em cada momento da alimentação, pesava-se semanalmente em balança analítica de precisão a ração para os sistemas.

Todos os dias durante esses dois meses de experimento a temperatura foi aferida com termômetro digital, os camarões foram alimentados e os tanques foram sifonados as 10h00min, 15h00min e 18h00min. Estes dados foram registrados no diário de bordo para posterior análise. Alguns parâmetros limnológicos de água foram aferidos no começo e no término do experimento para controle como pH, porcentagem de oxigênio dissolvido na água e a condutividade, além da temperatura que era conferida todos os dias.

- Passos para extração da quitosana

Como se trabalhou com a espécie *M. amazonicum* durante 60 dias, estes ainda eram muito pequenos para realizar a extração da quitosana a partir do céfalo-útrac, então se utilizou o céfalo-útrac da espécie *M. rosenbergii* cedido gentilmente pelo laboratório de catálise da UFPR – Campus Palotina. No primeiro momento, realizou-se a limpeza das carcaças, retirando as vísceras presentes com auxílio de luvas e pinças. Em seguida, as carcaças limpas foram torradas no forno em temperatura de 180° C e trituradas com liquidificador.

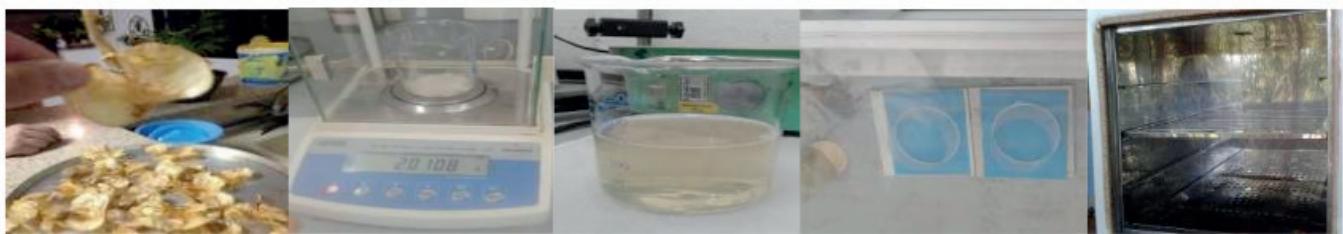


Imagen 8 – Passo a passo da limpeza da carapaça até a confecção da biomembrana.

Fonte: Os autores, 2016.

Realizada esta primeira etapa, partiu-se para a etapa seguinte que foi realizada no laboratório de catálise da UFPR – Setor Palotina, pois no Colégio onde foi realizado o experimento não tem capela e reagentes químicos necessários para realizar o processo de desmineralização, desproteinação e desacetilação.

Após passar pelos processos citados, pesou-se 2 gramas de quitosana em balança analítica de precisão e dilui-se em 150 mL de ácido acético 15% na capela e deixou-se dissolver em banho maria. Em seguida, verteu-se em placas de Petri e se levou na estufa para secar por 24 horas (IMAGEM 9).



Imagen 9 - Biometria inicial do peso e comprimento corporal dos juvenis antes do experimento.

Fonte: Os autores, 2016.

Os dados da temperatura dos dois sistemas, sobrevivência e consumo diário foram anotados e dispostos em planilha no Excel para posterior teste T – Student para comparação de médias entre os dois sistemas.



Imagen 11 – Biometria final do peso e comprimento corporal dos camarões no final do

experimento.

Fonte: Os autores. 2016.

6 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após sessenta dias de experimento verificou-se que o tamanho e o peso dos camarões visualmente eram maiores quando comparados ao inicio do experimento em ambos os sistemas.

Observando as imagens acima se verifica a diferença quando se compara os crustáceos do inicio e final do experimento. Com relação a sobrevivência dos indivíduos nos sistemas, levando-se em consideração que foram inseridos 15 indivíduos por tanque em cada um dos sistemas totalizando 90 camarões, verificou-se que no sistema 1 sobreviveram 39 camarões no total e no sistema 2 sobreviveram 32 camarões.

Com relação aos dados da média de comprimento, peso, ganho de peso, sobrevivência e temperatura, estes foram registrados em tabela e realizado um teste t para comparação de médias. As médias estão dispostas na tabela 1.

TRATAMENTO	DESEMPENHO ZOOTÉCNICO / TEMPERATURA				
	Comprimento (cm)	Peso (g)	Ganho de Peso (g)	Sobrevivência (%)	Temperatura (°C)
S1R1	6,32±0,52	2,03±0,55	1,43	86	-
S1R2	5,95±0,89	1,85±0,67	1,25	86	-
S1R3	6,77±0,63	2,47±0,64	1,87	76	-
MFS1	6,27±0,76	2,05±0,64*	1,45±0,32*	82,6±3*	28,8±2,29
S2R1	4,71±0,47	0,83±0,23	0,23	67	-
S2R2	5,26±0,49	1,09±0,27	0,49	67	-
SER3	4,93±0,71	0,96±0,33	0,36	67	-
MFS2	4,97±0,59	0,96±0,29	0,36±0,13	67	23,4±1,88

Tabela 1 – Médias das variáveis analisadas a partir da análise de comparação de médias.

Sistema 1 (Com aquecimento)

Sistema 2 (Sem aquecimento)

*p<0,005 Diferença significativa

Observa-se que a média final do sistema 1 (MFS1) para o comprimento e peso foram maiores do que a média final do sistema 2 (MFS2). Pode-se afirmar que a temperatura tem influência no desempenho zootécnico desta espécie, pois com o

aumento no metabolismo os crustáceos comeram mais, logo ganharam mais peso e ficaram maiores, como mostra a media de ganho de peso na tabela 1. Sampaio et al (2009) afirmam que esta espécie é encontrada em águas com temperatura variando de 27,5 a 31 °C, e se a temperatura ficar muito abaixo desses valores pode influenciar em seu desempenho zootécnico.

A média de sobrevivência do sistema 1 foi maior que a média de sobrevivência do sistema 2 e acredita-se que a temperatura também tenha sido o fator determinante desta diferença.

Quanto ao consumo de ração, inicialmente todos os juvenis foram alimentados com 0,2 g em todos os tanques independentes do horário e do sistema e terminaram o experimento comendo no sistema 1 (1,0 g) diário de ração nos três tanques e no sistema 2 (0,6 g) diário de ração nos três tanques. Isso corrobora com o que dizem Araujo e Valenti (2005, pg 69) “constatou-se que a frequencia diária de oferecimento de alimento afetou o ganho de peso e sobrevivência nessa espécie, mesmo nos tratamentos com os menores oferecimentos de alimento”.

Durante o experimento verificou-se que as fêmeas do sistema 1 ficaram ovadas e todos os camarões deste sistema sofreram a ecdise evidenciando a importância da temperatura no desempenho zootécnico desta espécie, como afirmam os autores SAMPAIO et al (2007).

Com relação à produção da biomembrana, verificou-se que é possível sim realizar esses passos para a confecção da mesma. Como isso envolve técnicas que precisam de aparelhagem e reagentes específicos, o próximo passo deste trabalho será aperfeiçoar a técnica para realizar a extração da quitosana no laboratório do colégio que estudamos. Para isto, testaremos outras concentrações de ácido acético que podem ter o mesmo efeito e outros ácidos que podem suprir a função do ácido acético 15%.

Pensa-se ainda em realizar uma biomembrana que possa ser utilizada no lugar do plástico filme para embalar frutas, comidas, utensílios, entre outras coisas. Para isso, novos testes serão realizados até chegarmos à membrana ideal. Para isso, se fará uma visita aos carcinicultores da cidade com objetivo de orientá-los tanto para o consumo próprio quanto para a venda que congelem as carcaças para que possamos dar seguimento ao experimento.

7 | CONCLUSÕES

As diferentes temperaturas influenciaram no desenvolvimento zootécnico da espécie *M. amazonicum* e é possível extrair a quitosana a partir da carcaça desses crustáceos para produção de biomembrana. Portanto, pode-se aceitar as hipóteses

construídas antes da realização do experimento.

A realização deste experimento com alunos do 8º ano do Ensino Fundamental pode demonstrar o que é e como aplicar o método científico. Ensinou como comparar tratamentos, o que é e como realizar um teste estatístico simples para comparação de médias (Teste T). Ensinou também como realizar um resumo para submeter em feiras científicas e como realizar a explanação do trabalho frente aos espectadores, seja leigos ou profissionais específicos da área.

Mostra que a união entre profissionais da universidade + alunos de colégio + pais + professores orientadores: aprendizado

REFERÊNCIAS

ARAUJO, M. C.; VALENTI, W. C. **Feeding habit of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum* larvae**. Aquaculture, v. 265, p.187-193, 2005.

DUTRA et al. **DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DE *Macrobrachium amazonicum* SOB DIFERENTES DENSIDADES DE ESTOCAGEM EM SISTEMA DE RECIRCULAÇÃO**. Rev. Bras. Eng. Pesca 9(1): 27-36, 2016.

FREITAS, U. et al. **Influência de um cultivo de camarão sobre o metabolismo bêntico e a qualidade da água**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. v.12, n.3, p.293–301, 2008.

HECHT, T. & PIENAAR, A.G. **A review of cannibalism and its implication in fish larviculture**. Journal of the World Aquaculture Society, 24:246-261, 1993.

MORAES-RIODADES et al. **Effect of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum* culture intensification on ponds hydrobiology**. Acta Limnologica Brasiliensis, n.3, p.293–301, 2008.

ODINETZ-COLART, O. **Strategie de reproduction de *Macrobrachium amazonicum* em Amazonie Centrale (Decapoda, Caridea, Palaemonidae)**. Crustaceana, pg. 253-270, 1991.

ODINETZ-COLLART, O. & L. C. MOREIRA. **Potencial pesqueiro de *Macrobrachium amazonicum* na Amazônia Central (Ilha do Careiro): variação da abundância e do comprimento**. Amazoniana. pg 399-413, 1993.

RIBEIRO, K. **Aspectos estruturais do hepatopâncreas, desenvolvimento ovocitário e caracterização hormonal de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* durante as fases de maturação gonadal**. Tese de doutorado- Centro de Aqüicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 98p. 2006.

RUSELL, D.J. & O'BRIAN, J.J. **Small-scale water recirculating system for experimental rearing of fish eggs and larvae**. Progressive Fish culturist, 50:245-247, 1998.

SAMPAIO, S. R. et al. **Camarões de águas continentais (Crustacea, Caridea) da Bacia do Atlântico oriental paranaense, com chave de identificação tabular**. Acta Biol. Par., Curitiba, v. 38 (1-2), p.11-34.2009.

VALENTI, W. C. **Camarão de Água Doce como agronegócio**. In. ANAIS DO I CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE AQÜICULTURA E BIOLOGIA AQUÁTICA, Vitória, SC, Brasil. Anais.

Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática (Aquabio) p. 52 2004

VETORELLI, M. P. **Variabilidade técnica e econômica da larvicultura do camarão- da-Amazônia** [Dissertação de Mestrado]. Jaboticabal (SP): Centro de aquicultura da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita (CAUNESP), 2004. 25

VINATEA LA. **Aquicultura e desenvolvimento sustentável. Subsídios para a formulação de políticas de desenvolvimento da aquicultura brasileira.** Ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 310 p, 1999.

PRODUÇÃO DE BISCOITOS COM FARINHA DA SEMENTE DE *Leucaena Leucocephala* (LAM.) DE WIT. (FABACEAE)

Data de aceite: 14/02/2020

Data de Submissão: 03/12/2019

Rosiane Resende Leite

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO
TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS

Av. Amazonas, 5.253, Nova Suiça, Belo Horizonte,
MG

Anna julia Oliveira

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO
TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS

Av. Amazonas, 5.253, Nova Suiça, Belo Horizonte,
MG

Maria Fernanda Santos Marins

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO
TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS

Av. Amazonas, 5.253, Nova Suiça, Belo Horizonte,
MG

Rubia Souza de Oliveira

ESCOLA ESTADUAL DOUTOR LUCAS
MONTEIRO MACHADO / MG

RESUMO: Este trabalho foi desenvolvido no Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais e teve como objetivo avaliar o aproveitamento da farinha de *Leucaena leucocephala* (FLL) na produção de biscoitos tipo cookies. A *L. leucocephala* é uma leguminosa arbustiva que apresenta grande potencial de

uso como planta forrageira na alimentação animal. O seu uso na alimentação humana é pouco conhecido e restrito ao consumo das sementes verdes. Foram produzidos biscoitos com a substituição parcial da farinha de trigo por FLL na proporção de 15% e 5%, e biscoitos padrão apenas com farinha de trigo. Antes da elaboração dos biscoitos foram realizados ensaios para averiguar a interferência da fitotoxina mimosina, presente na semente de *L. leucocephala*, nas mitoses da raiz de cebola (*Allium cepa*). Os ensaios foram realizados em triplicata com 3 tratamentos. Tratamento I: cebola e água (controle); tratamento II: cebola e água mais FLL da semente crua; tratamento III: cebola e água mais FLL da semente cozida e seca em estufa. Pelos resultados viu-se que a desnaturação do aminoácido mimosina pelo calor e a sua consequente inativação pode ser realizada permitindo que a semente cozida (tratamento III) seja utilizada na elaboração da FLL para fins comestíveis. O teste de aceitação inicial do cookie foi realizado apenas entre os integrantes da pesquisa e mostrou haver diferença quanto ao sabor entre as diferentes formulações e o padrão (usando a mesma receita), indicando que o biscoito elaborado com a FLL é mais saboroso. A farinha eleva o valor nutricional do produto sem alterar suas

propriedades físicas e características sensoriais, a utilização da farinha pode ser recomendada no preparo de alimentos alternativos enriquecidos, em relação aos alimentos tradicionais, desde que feito o devido tratamento com as sementes e testes sejam realizados conforme os padrões exigidos para alimentação humana.

PALAVRAS-CHAVE: Farinha de *Leucaena*; leguminosa; mimosina

ABSTRACT: This work was developed at the Federal Center of Technological Education of Minas Gerais and aimed to evaluate the utilization of *Leucaena leucocephala* flour (FLL) in the production of biscuits. *L.leucocephala* is a shrub legume that has great potential for use as a feed plant. Its use in human food is little known and restricts the consumption of green seeds. Cookies with partial substitution of wheat flour by FLL in the proportion of 15% and 5%, and standard cookies with flour only. Prior to the preparation of the biscuits, tests were carried out to verify the interference of the phytotoxin mimosina, present in the *L. leucocephala* seed, in the onion root mitosis (*Allium cepa*). Assays were performed in triplicate with 3 treatments. Treatment I: onion and water (control); treatment II: onion and water plus FLL of raw seed; treatment III: onion and water plus FLL from cooked and oven-dried seed. The results show that heat denaturation of amino acid mimosine and its inactivation can be performed by allowing cooked seed (treatment III) to be used in the creation of FLL for edible fins. The initial cookie acceptance test was performed only among the survey members and showed a difference in taste between the different formulations and the standard (using the same recipe), records the cookie made with the FLL is tastier. Flour elevates the nutritional value of the product without altering the effects and sensory capabilities. Flour utilization may be recommended for the preparation of improved alternative foods over traditional foods, provided it is made or used with seeds and testing executed to the standards required for human consumption.

KEYWORDS: *Leucaena* flour, legumes; mimosine

1 | INTRODUÇÃO

A *Leucaena leucocephala* (Figura 1) é uma planta arbórea da família Leguminosae, subfamília Mimosoideae, proveniente da América Central, porém numerosamente encontrada em regiões tropicais (TOKARNIA et al., 2000). Mesmo sendo altamente tolerante a seca, tende a preferir solos bem drenados e com pouca acidez. Seus tipos podem ser classificados de acordo com a velocidade de crescimento e hábito de ramificação.



A

B

Figura 1 – vagens (A) e sementes (B) de *Leucaena leucocephala*

Fonte: dados da pesquisa

Nos últimos anos, a indústria alimentícia vem utilizando fontes alternativas de vegetais com o objetivo de criar produtos mais saudáveis e ricos em fibras. Por isso, sementes de várias espécies se tornaram recursos alternativos para a alimentação humana, mostrando-se excelentes fontes naturais de fibras alimentares (AMBROSIO, 2006). Mas, não é fácil dispor de uma fonte alimentar de boa qualidade, com baixo custo e que possa ser ofertada com regularidade, de modo a suprir as necessidades da população em geral. Por isso, faz-se necessário a busca de alternativas que apresentem viabilidade e segurança.

A *Leucaena* possui grande valor proteico e, por conseguinte, é bastante utilizada nas dietas de ruminantes em geral. No entanto, não foi encontrado nenhum trabalho científico em que a destinação da planta fosse para o consumo humano, embora haja referência em sites da utilização das sementes verdes na dieta do povo mexicano. O vegetal contém em questão apresenta uma fitotoxina chamada mimosina, cuja natureza química é um aminoácido e deve ser inativado para que a semente (Figura 1) possa ser utilizada na alimentação. Segundo (NETO, 2010) a *L.leucocephala* possui em seus tecidos (folhas e sementes) um aminoácido não-protéico, o ácido β -[N-(3-hidroxi-4-oxopiridil)]- α -aminopropiônico que apresenta ação farmacológica antimilitótica e antimicrobiana, além de proteger a planta da radiação UV

Pressupondo-se o valor nutricional e a abundância dessa planta nas cidades brasileiras, a pesquisa proposta busca contribuir para que a população tenha disponível uma fonte de proteína de baixo custo. Portanto, considera-se fundamental que a investigação do melhor modo de adequação da referida planta à dieta comum da população, possa ser incentivada e estudos como este, focado no desenvolvimento de novos produtos, sejam muito importantes para indicar alternativas sustentáveis para a resolução de problemas relacionados a questões

nutricionais da população. Uma alternativa para o aproveitamento do valor nutricional *Leucaena leucocephala* é a transformação de suas sementes maduras em farinha, pois possui uma variedade de componentes, tais como fibras, vitaminas, minerais e proteínas. Um método cabível que nos possibilita usufruir desta planta triturando sua semente (pós-inativada) para preparação de alimentos.

Diante do exposto, esta pesquisa busca responder a seguinte indagação: O processo de cocção e secagem das sementes de *Leucaena leucocephala* é apto para inativar a mimosina e com isso possibilitar que as sementes sejam usadas como aditivo nutricional na alimentação humana?

Como já dito, a *Leucaena* contém uma fitotoxina chamada mimosina, cuja natureza química é um aminoácido. Assim, submetendo-se a semente, e, portanto, o aminoácido também, ao processo de cocção e secagem em estufa supõe-se que haverá a desnaturação desse aminoácido, indicando a possibilidade do processo de degradação deste composto e tornando disponível a utilização da semente para a elaboração da farinha sem danos à saúde.

Para averiguar se o processo de cocção inativa a mimosina experimentos foram conduzidos com a utilização de cebolas. A semente crua triturada e misturada à água impedirá o crescimento das raízes; a semente cozida e seca em estufa permitirá o crescimento já que a mimosina será inativada.

2 | OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a viabilidade da produção de biscoitos com características físicas e características sensoriais plausíveis e com boa qualidade proteica, a partir da complementação da farinha de trigo com Farinha de *Leucaena leucocephala* (FLL).

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o crescimento das raízes de cebola a partir da diluição da farinha na água utilizada para verificação da interferência nas mitoses;
- Preparar uma lâmina histológica de raiz de cebola para a visualização das fases da mitose ao microscópio óptico após serem a tratamentos variados para averiguar alterações celulares visíveis;
- Desenvolver formulações de biscoitos utilizando diferentes proporções da FLL;
- Avaliar a aceitação sensorial dos biscoitos produzidos com FLL em comparação com biscoitos elaborados com farinha de trigo.

3 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A planta *Leucaena leucocephala*

A *Leucaena leucocephala* é uma leguminosa de porte arbustivo ou arbóreo, pertence à família Leguminosaceae, subfamília Mimosoideae e gênero *Leucaena*. A planta apresenta grande ocorrência em quase toda a América, apresentando adaptação para o clima semi-árido (BREWBAKER & SORENSSON, 1990; LINS et al., 2007).

A *Leucaena* apresenta raízes profundas, o que lhe confere característica de tolerância à seca e, por isso, é considerada uma planta muito rústica (PRATES et al., 2000). Ela também é utilizada na recuperação de áreas degradadas, adubação verde, fins madeireiros, produção de carvão vegetal, sombreamento e quebra vento. Além de todos estes usos, o destaque desta planta é na sua utilização como alimento de animais ruminantes e monogástricos (ARRUDA et al. 2010). Na Tailândia, Indonésia e América Central as sementes maduras são moídas e utilizadas como uma farinha, ou torrado e utilizada para preparar uma bebida denominada coffee-like..

3.2 Características Nutricionais da *Leucaena*

Garcia et al. (1996) analisaram 65 trabalhos que incluíam *L.leucocephala* e viram que no geral a planta apresenta a seguinte constituição considerando uma planta inteira: 22% de proteína bruta; 35% de fibra bruta; 39,5% de fibra detergente neutro; 35% de fibra detergente ácido; 7,9 de lignina; 8% de matéria mineral, 1,1% de tanino e 2,1% de mimosina. Ainda, segundo o autor, quando comparada a outras leguminosas, a *L. leucocephala* apresenta altos teores de fibra, de caroteno e de minerais (com exceção do fósforo). As sementes são relativamente ricas nos essenciais aminoácidos isoleucina, leucina, fenilalanina e histidina. A lisina e a metionina também estão presentes em quantidades moderadas.

3.3 Mimosina

A mimosina (β -N-(3-hydroxy-4-pyridone)- α -aminopropanoic acid) (Figura 2) é um aminoácido não-protéico encontrado em *Leucaena leucocephala* que apresenta importantes bioatividades, tais como: efeito antimitótico, ação alelopática, antimicrobiana e inibidor de apoptose neuronal. Esta fitotoxina tem um papel fundamental na resistência da planta a uma grande variedade de agentes fitopatogênicos.

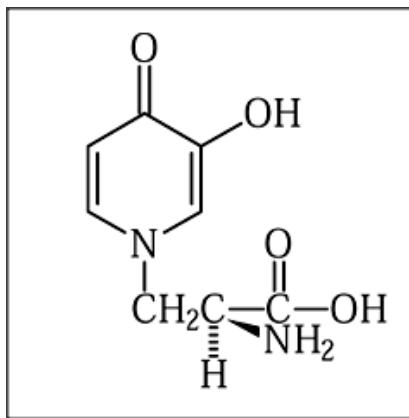


Figura 2 - Estrutura molecular da mimosina

Fonte: PIRES et al., 2001

Beng e Curran (1972, *apud* Lima 1982, p 15) afirmam que se houver tratamento nas folhas da *Leucaena*, pode haver redução do conteúdo de mimosina. Dizem que os métodos mais citados são a secagem das folhas em alta temperatura reduzindo o teor em 80%, ou imersão das folhas em solução de sulfato ferroso, o qual leva à precipitação da mimosina. Ele contém uma quantidade considerável de grupos fenólicos de ligação ao ferro. A molécula da mimosina possui um domínio responsável por quedar metais, especificamente aqueles de transição como o Fe+3. Os quelatos, na medicina, têm como principais aplicações tratamentos por envenenamentos e a correção de deficiências nutricionais minerais. As constantes de estabilidade dos quelatos entre mimosina e vários íons metálicos foram encontrados: Fe³⁺; Al³⁺; Cu²⁺; Pb²⁺; Ca²⁺; Mg²⁺ (TSAI E LING, 1973).

4 | MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido junto ao laboratório da coordenação de Ciências (Campus I), e junto ao laboratório de Solos (Campus II) do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais no ano de 2015/2016. Parte da pesquisa foi realizada na residência dos estudantes do primeiro ano do Ensino Médio, com supervisão dos pais. As sementes utilizadas para os ensaios foram coletadas entre junho e setembro de 2015 e no ano de 2016 diretamente das plantas situadas à margem da lagoa da Pampulha em Belo Horizonte/Minas Gerais.

O trabalho foi dividido em duas etapas:

Etapa I - Ensaio biológico - Ensaio para averiguação das mitoses nas raízes das cebolas nos meios testados com três tratamentos diferenciados.

Etapa II - Elaboração de um biscoito coockies com a farinha da semente de *Leucaena leucocephala*(FLL).

- **ETAPA IA - Ensaio biológico com o uso de cebolas (*Allium cepa*) e visualização das mitoses nas raízes destas:**

Antes da elaboração das amostras, as sementes foram lavadas (Figura 3) em água corrente e deixadas de molho por 15 minutos em solução de hipoclorito de sódio a 20% (para cada 100 ml de água, utilizou-se 20ml de água sanitária). As sementes foram submetidas aos seguintes tratamentos em triplicata



Figura 3 – Sementes em tratamento

Fonte: Dados da pesquisa

Tratamento I: As sementes foram cozidas por 40 min em panela de pressão, seca em estufa por 4 dias, posteriormente moída e diluída em água. A essa diluição foram colocadas cebolas com as raízes submersas para verificação do crescimento apical.

Tratamento II: As sementes cruas foram moídas, diluída em água e feito o mesmo procedimento do tratamento I.

Tratamento III (controle): As cebolas foram colocadas apenas em um recipiente com água.

Visualização das Mitoses

Materiais: Solução de orceína acética 1%; Copos, potes de plástico, garrafa PET ou frasco de álcool cortados; palitos de dente; lâminas; lamínulas, pinças; lâmina de barbear; pipetas Pasteur; papel absorvente, papel toalha; placa de petri ou pires de material resistente ao calor; lamparina a álcool, vela, lamparina à álcool; pinça de madeira; microscópio óptico. Após crescimento das raízes por uma semana, cortou-se 2cm a partir da região apical (obtidos a partir dos três tratamentos) e transferido para uma placa de Petri contendo orceína acética. Esta placa foi aquecida com uma lamparina a álcool até que houvesse emissão dos vapores. Após este procedimento as raízes foram colocadas sobre uma lâmina e em seguida seccionada a região do meristema. Esta região foi mergulhada em gota de orceína e em seguida cobriu-se

com uma lamínula. O excesso do corante foi eliminado com auxílio de papel toalha.

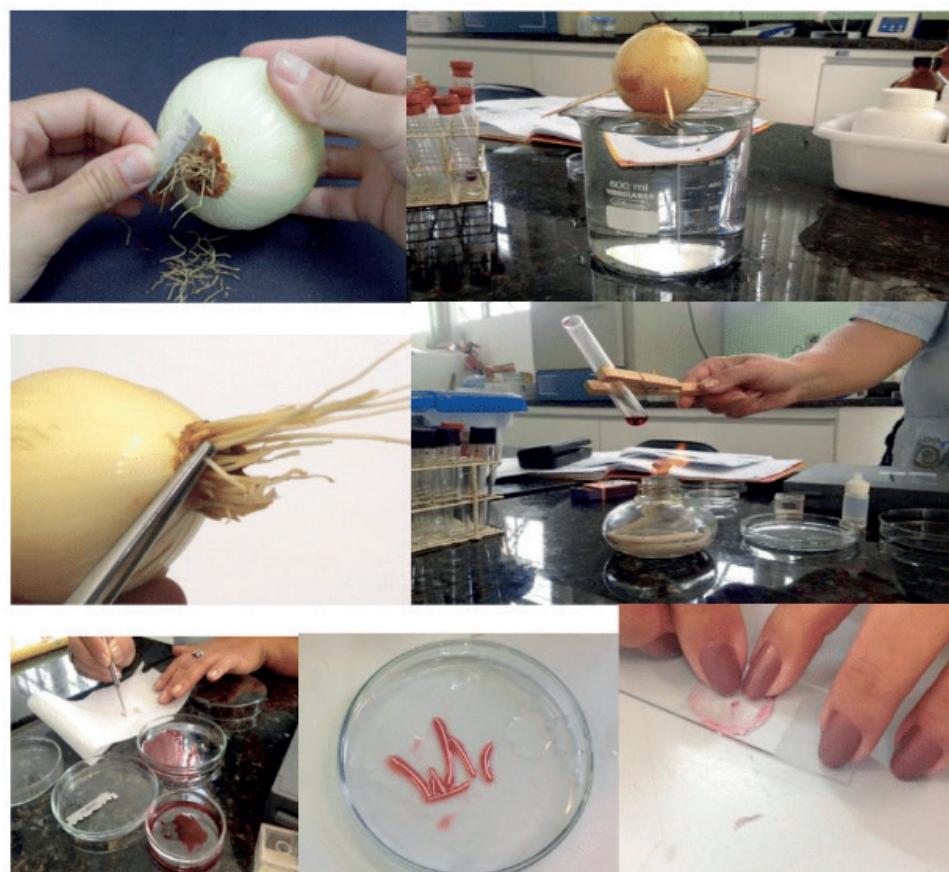


Figura 4 - Processo de crescimento das raízes de cebola para visualização das mitoses frente a ausência/presença da mimosina

Fonte: Elaboração própria

• **ETAPA IB - Visualização do Crescimento das Raízes**

Os três tratamentos foram novamente montados, só que em triplicata para visualização do crescimento das raízes conforme (Figura 4)

Tratamento I - Cebola + água; Tratamento II- Cebola + água com sementes cozidas, lavadas e secas em estufa por 4 dias a 36°C.; Tratamento III - Cebola + água com sementes cozidas, lavadas, secas em estufa por 4 dias a 36°C e com retirada da casca.



Figura 5– Tratamentos em triplicata

Fonte: Dados da pesquisa

• ETAPA II - ELABORAÇÃO DO BISCOITO COM A FLL

Matérias Primas Utilizadas na confecção dos biscoitos:

As matérias primas utilizadas foram a farinha de trigo especial (FT), a farinha de Leucena (FLL) através da moagem das sementes. Foram testadas três formulações sendo uma de trigo puro e três de misturas desta farinha com a FLL (Tabela 1).

INGREDIENTES/ PROPORÇÕES		
	FT	FLL
B1 - Padrão	100	-
B2 - FM-05	95 %	5 %
B3 - FM-15	85 %	15 %
FT = farinha de trigo <i>leucocephala</i>		FLL= farinha de <i>Leucena</i>

Tabela 1. Formulações utilizadas para a preparação dos biscoitos com as diferentes misturas de farinha de trigo e de FLL.

Fonte: Elaboração própria

O alto valor nutritivo e as características físico-químicas da proteína fazem com que a farinha possa ser utilizada na fortificação de cardápios consumidos pelas populações de baixa e alta renda, sem distinção

5 | RESULTADOS

O experimento com as cebolas mostrou que a mimosina interfere nas mitoses não apresentando crescimento das raízes quando estas foram colocadas com a semente triturada crua (Figura 6), mas quando colocada com semente triturada cozida houve um pequeno crescimento, o que indica que houve inativação pelo calor da mimosina. Portanto, para a elaboração do biscoito foi utilizada a semente cozida



Figura 6 – Resultado do experimento

Fonte: Dados da pesquisa

6 | ANÁLISE DE DADOS

O experimento com as cebolas mostrou que a mimosina interfere nas mitoses não apresentando crescimento das raízes quando estas foram colocadas com a semente triturada crua, mas quando colocada com semente triturada cozida houve um pequeno crescimento, o que indica que houve inativação pelo calor da mimosina. Portanto, para a elaboração do biscoito foi utilizada a semente cozida e seca em estufa.

A farinha produzida e utilizada na elaboração dos biscoitos não interferiu nas características destes. Houve uma mudança discreta no sabor fazendo que ele ficasse mais palatável, indicando que o biscoito elaborado com a FLL apresenta um melhor sabor. O teste de aceitação do cookie (feito entre os integrantes da pesquisa e seus familiares) indicou não haver diferença significativa quanto ao sabor entre as duas formulações e o padrão, mas ficou evidente que aquele elaborado com a FLL é mais saboroso.

Não foi possível visualizar diferenças significativas das células em divisão nos tratamentos 2 e 3 quando comparado com o tratamento 1.

7 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os testes indicaram que após tratamento térmico a mimosina não atua na diminuição das mitoses completamente. O biscoito foi elaborado utilizando a farinha produzida após o cozimento da semente e não houve alteração na textura. Outros testes deverão ser realizados para que esta semente possa ser usada com segurança pela população. Mas, no geral, foi possível inferir que a desnaturação correta da mimosina torna possível a utilização desta semente para fins comestíveis. Ainda, será enviado para um laboratório amostra da farinha para caracterização

das proteínas que compõem a farinha, de modo que esta possa ser utilizada na fortificação de cardápios consumidos pela população de baixa e alta renda, sem distinção.

REFERÊNCIAS

- AMBROSIO, C.L.B.; CAMPOS, F.A.C.S.; FARO, Z.P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista Nutrição**, v. 19, n. 2, p. 233-243, 2006
- AZEVEDO NETO, E. N. **Potencial Alelopático de Leucena e de Sabiá na Germinação, na Emergência e no Crescimento Inicial do Sorgo**. 2010. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal), 29f - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos - PB.
- ARRUDA, A.M.V.; MELO, A.S.; OLIVEIRA, V.RM.; SOUZA, D.H.; DANTAS, F.D.T.; OLIVEIRA, J.F. 2010. Avaliação nutricional do feno de leucena com aves caipiras. **Acta Veterinaria Brasilica**, 4: 162-167.
- BENGE, M.D. ; CURRAN, H. Bayani (Gigant Ipil-ipil (*Leucaena leucocephala*); a souce of fertilizer, feed and energy for Phillipines: Manila, USAID, 1976. 22 p.
- BREWBAKER, J.L.; SORENSSON, C.T. New tree crops from enterspecific *Leucaena* hybrids. In: JANICK, J., SIMON, J.E. (Ed). **Advances in new crops**. Portland: Timber press, 1990, p.283-289.
- GARCIA, G.W.; FERGUSON, T.U.,NECKLES, F.A; ARCHIBAL, K.A.E. The nutritive value and forage productivity of *Leucaena leucocephala*. **Animal Feed Science and Technology**, v.60, p.29-41, 1996.
- LIMA, P.C.F. **Comportamento de leucaena leucocephala (Lam) de Wit comparado com Prosopis juliflora (SW) DC e Eucalyptus alba Reintw ex Blume em Petrolina (PE), região semi-árida do Brasil**. 1982. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal do Paraná. Paraná, 1982
- LINS, C.E.L. ET AL. 2007. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares no crescimento de mudas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. em solos de caatinga sob impacto de mineração de cobre. **Revista Árvore** 31(2):355-363.
- NETO, OLIVEIRA, A.B. 2008. Germinação de semente de leucena (*Leucaena leucocephala*). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, 8: 166-172.
- PIRES, N.M.; PRATES, H.T.; FILHO, I.A.P.; JR.OLIVEIRA, R.S.de.; FARIA, T.C.L de Atividade alelopática da leucena sobre espécies de plantas daninhas. **Sci. agric.**, Piracicaba , v. 58, n. 1, p. 61-65, Mar. 2001 .
- PRATES, H.T.; PAES, J.M.V.; PIRES, M.N.; PEREIRA-FILHO, I.A.; MAGALHÃES, P.C. 2000. Efeito do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 35: 62-68.
- PINHEIRO, A.R.O; CARVALHO, M.F.C.C. Transformando o problema da fome em questão alimentar e nutricional: uma crônica desigualdade social. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.15, n.1, p.121-130, 2010.
- TOKARNIA C.H, DÖBEREINER J. & PEIXOTO P.V. 2000. Plantas Tóxicas do Brasil. Editora Helianthus, Rio de Janeiro. 310p.

TSAI, W, C, AND LING, K.H. Study on the stability constant of some metal ion chelatea of mimosine and 3,4-tihydroxypyridine. **Journal of the Chinese Biochemical Society** 2: 70-86, 1973.

HEUZE V., TRAN, G., 2015. Leucaena (Leucaena leucocephala). Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. Disponível em: <http://www.feedipedia.org/node/282> Last updated on September 9, 2015, 10:46

ETNOVARIEDADES DE MANDIOCA CULTIVADAS NO ESTADO DE MATO GROSSO: CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA POR MEIO DE DESCRIPTORES DE FLORES E FRUTOS

Data de aceite: 14/02/2020

Eliane Cristina Moreno de Pedri

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia (PPG-Bionorte), Alta Floresta, Mato Grosso.
<https://orcid.org/0000-0002-7044-581X>

Elisa dos Santos Cardoso

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia (PPG-Bionorte), Alta Floresta, Mato Grosso.
<https://orcid.org/0000-0001-9477-1743>

Auana Vicente Tiago

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia (PPG-Bionorte), Alta Floresta, Mato Grosso.
<https://orcid.org/0000-0001-9556-9491>

Kelli Évelin Müller Zortéa

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia (PPG-Bionorte), Alta Floresta, Mato Grosso.
<https://orcid.org/0000-0003-0545-6130>

Mariéllen Schmith Wolf

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Licenciatura Plena e Bacharelado em Ciências Biológicas, Alta Floresta, Mato Grosso.
<https://orcid.org/0000-0003-3056-8476>

Larissa Lemes dos Santos

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Licenciatura Plena e Bacharelado em Ciências Biológicas, Alta Floresta, Mato Grosso.
<https://orcid.org/0000-0001-7610-6694>

Joameson Antunes Lima

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (PPG-Bionorte), Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas (PGMP), Alta Floresta, Mato Grosso.
<https://orcid.org/0000-0001-8711-8252>

Angelo Gabriel Mendes Cordeiro

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Licenciatura Plena e Bacharelado em Ciências Biológicas, Alta Floresta, Mato Grosso.
<https://orcid.org/0000-0003-2657-7994>

Edimilson Leonardo Ferreira

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Licenciatura Plena e Bacharelado em Ciências Biológicas, Alta Floresta, Mato Grosso.
<https://orcid.org/0000-0001-5398-4347>

Ana Paula Roveda

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Licenciatura Plena e Bacharelado em Ciências Biológicas, Alta Floresta, Mato Grosso.
<https://orcid.org/0000-0003-4752-7128>

Patrícia Ana de Souza Fagundes

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos

Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Licenciatura Plena e Bacharelado em Ciências Biológicas, Alta Floresta, Mato Grosso.
<https://orcid.org/0000-0002-6790-5635>

Ana Aparecida Bandini Rossi

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Curso de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia (PPG-Bionorte), Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos (PPGBioAgro) e Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas (PGMP), Alta Floresta, Mato Grosso.

<https://orcid.org/0000-0002-8318-5375>

RESUMO: A caracterização fenotípica de espécies vegetais, por meio de caracteres morfológicos, permite identificar e diferenciar os indivíduos de uma mesma espécie. Esses caracteres são de avaliação simples, baixo custo e sofrem menor influência ambiental. Diante disso, objetivou-se neste estudo caracterizar etnovariedades de mandioca cultivadas no estado de Mato Grosso por meio de descritores fenotípicos de flores e frutos. Para tanto, foram selecionadas doze etnovariedades de mandioca oriundas da região norte-mato-grossense e cultivadas no município de Alta Floresta. A caracterização morfológica foi realizada aos seis meses pós-plantio (maio/2019), primeira floração das etnovariedades, de acordo com os descritores desenvolvidos para *Manihot esculenta*. Na caracterização foram utilizados seis descritores qualitativos. De maneira geral as etnovariedades avaliadas neste estudo apresentam flores com sépalas de coloração ‘roxa’, disco ‘laranja’, ovário ‘verde’, estigma ‘branco ou creme’ e anteras ‘amarelas’. Cinquenta e oito por cento das etnovariedades apresentam frutos com exocarpo rugoso. Portanto, há variabilidade fenotípica entre as doze etnovariedades de mandioca cultivadas no norte mato-grossense para as características morfológicas vegetativas avaliadas. Os descritores ‘cor do estigma’ e ‘cor das anteras’ não foram informativos, visto que as etnovariedades se concentraram em uma única classe.

PALAVRAS-CHAVE: Biologia floral; *Manihot esculenta*; Recursos genéticos.

CASSAVA LANDRACES CULTIVATED IN THE MATO GROSSO STATE: PHENOTYPICAL CHARACTERIZATION BY FLOWER AND FRUIT DESCRIPTORS

ABSTRACT: Phenotypic characterization of plant species by morphological characters allows the identification and differentiation of individuals of the same species. These characters are simple to evaluate, low cost and less influenced by the environmental. Therefore, this study aimed to characterize cassava landraces cultivated in the Mato Grosso State through phenotypic descriptors of flowers and fruits. Then, we selected twelve cassava landraces from northern Mato Grosso State, that were cultivated in the

municipality of Alta Floresta. Morphological characterization was performed at six months after planting (May/2019) when occur first flowering of landraces, according to the descriptors developed for *Manihot esculenta*. In the characterization, six qualitative descriptors were used. In general, the landraces present flowers with sepals 'purple', disc 'orange', ovary 'green', stigma 'white or cream' and anthers 'yellow'. Fifty-eight percent of landraces have fruits with a rough exocarp. Therefore, there is phenotypic variability among the twelve cassava landraces cultivated in northern Mato Grosso for the evaluated vegetative morphological characteristics. The descriptors 'stigma color' and 'anther color' were not informative, as landraces were concentrated in a single class.

KEYWORDS: Floral biology; *Manihot esculenta*; Genetic resources.

1 | INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz., Euphorbiaceae) é uma espécie vegetal comumente cultivada por agricultores em todas regiões do Brasil, quase que exclusivamente, para o consumo familiar (ALBUQUERQUE et al., 2009). Suas raízes são importante fonte de carboidratos, conferindo-lhe alto valor energético, sendo base de alimentação para milhões de pessoas em todo o mundo (CHISTÉ; COHEN, 2006; ZAINUDDIN et al., 2018).

A mandioca é uma planta monoica, portanto, apresenta flores femininas e masculinas dispostas na mesma planta, geralmente na mesma inflorescência. A flor feminina da mandioca apresenta cinco sépalas livres, disco liso, ovário tricarpelar, três estigmas largos, ondulados e carnosos. E as masculinas apresentam sépalas unidas até cerca da metade do seu comprimento, que envolve o disco sob o qual estão inseridas duas séries de estames e as anteras são de forma alongada e se encontram inclinadas para o interior (eixo) da flor (MATTOS et al., 2006).

As flores da mandioca são visitadas por coleópteros, vespas, abelhas (*Apis mellifera*) e abelhas irapuá (*Trigona spinipes*), sendo estes atraídos pelo odor das flores, pólen e néctar. Na espécie, a autopolinização é impedida, pois as flores femininas se abrem primeiro que as masculinas (protoginia) (SILVA et al., 2001; CEBALLOS; CRUZ, 2002).

Ao longo do tempo a mandioca vêm sendo propagada vegetativamente, contudo manteve a reprodução sexuada ativa, conferindo a espécie ampla variabilidade genética e distintas etnovariedades que recebem nome de acordo com a localidade de cultivo (GUSMÃO; MENDES NETO, 2008; SILVA et al., 2001), por isso a importância de caracterizá-las, evitando assim duplicações de acessos.

Os descritores morfológicos são toda característica que permite identificar e diferenciar os acessos ainda em campo (FUKUDA; GUEVARA, 1998). Esses

descritores apresentam alta herdabilidade e expressam-se em todos os ambientes e, portanto, são constantemente utilizados por serem de fácil visualização, baixo custo e sofrer menor influência ambiental (VIEIRA et al., 2009). Conforme Santos et al. (2011) estudos que avaliam a variabilidade fenotípica de espécies vegetais por meio de caracteres morfoagronômicos são um pré-requisito para a preservação da espécie, bem como para seu melhoramento.

Diante disso, objetivou-se neste estudo caracterizar etnovariedades de mandioca cultivadas no estado de Mato Grosso por meio de descritores fenotípicos de flores e frutos.

2 | METODOLOGIA

Foram avaliadas doze etnovariedades comerciais de mandioca oriundas dos municípios de Nova Mutum (NMU), Lucas do Rio Verde (LCA), Sinop (SNP), Itaúba (ITA), Nova Santa Helena (SHE) e Guarantã do Norte (GUA), ambos localizados no norte de Mato Grosso. As etnovariedades foram coletadas e cultivadas no município de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil (Figura 1A) para posterior avaliação.

O experimento foi implantado na Chácara Nossa Senhora Aparecida (9°57'00,8"S, 56°05'44,4"W), na Comunidade Central, em Latossolo Vermelho-amarelo distrófico (EMBRAPA, 2013) (Figura 1B). O clima do município de Alta Floresta é do tipo Am, com estação chuvosa e seca, temperatura média entre 23 °C e 29 °C, e precipitação anual variando entre 2.500 e 3.100 mm (ALVARES et al., 2013).

A caracterização morfológica das flores e frutos foi realizada aos seis meses pós-plantio (maio/2019), período da primeira floração das etnovariedades, seguindo os descritores desenvolvidos por Fukuda e Guevara (1998) para a espécie *Manihot esculenta* Crantz (Tabela 1; Figura 2).

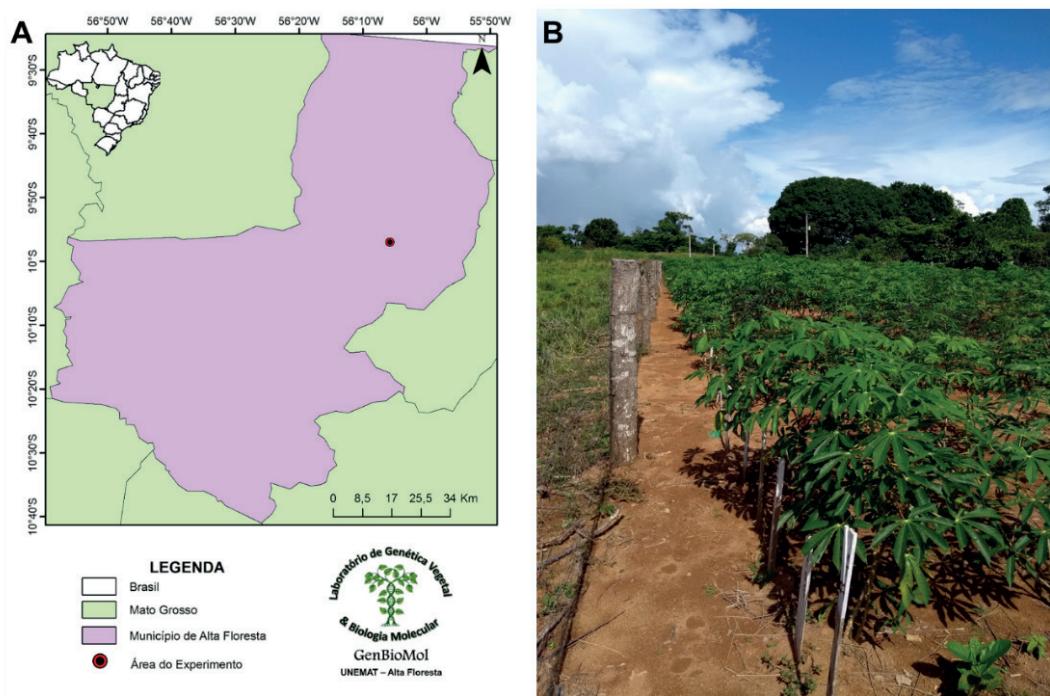


Figura 1. A) Localização geográfica da área do experimento, situado na zona rural do município de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil; B) Campo experimental.

Descritores	Classes fenotípicas
Cor das sépalas (CS)	branca ou creme, laranja, verde, vermelha, roxa
Cor do disco (CD)	branco ou creme, laranja, vermelho, roxo
Cor do ovário (CO)	branco ou creme, laranja, verde, vermelho, roxo
Cor do estigma (CE)	branco ou creme, laranja, verde, vermelho, roxo
Cor das anteras (CA)	creme, amarela, outras
Exocarpo do fruto (EXO)	liso, rugoso

Tabela 1. Descritores complementares (flores e frutos) utilizados na caracterização das doze etnovariedades de mandioca cultivadas no estado de Mato Grosso, Brasil.

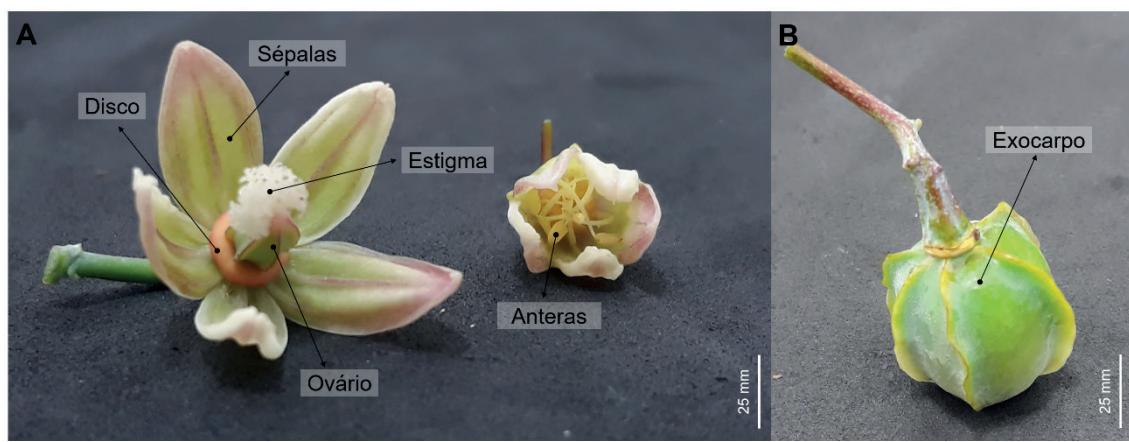


Figura 2. Descritores qualitativos de flores e frutos utilizados para caracterização das etnovariedades de mandioca cultivadas no norte de Mato Grosso. (A) Flores de mandioca: Detalhe para as sépalas, disco, ovário e estigma da flor feminina (F) e para as anteras da flor masculina (M). (B) Fruto: Exocarpo.

Para a caracterização das etnovariedades de mandioca foram utilizados os dados qualitativos obtidos mediante observação e classificação dos descritores.

Os dados foram tabulados com auxílio do software Excel 2013 para apresentação da frequência absoluta das classes fenotípicas de cada descritor e para frequência relativa das mesmas, sendo esta obtida por meio da fórmula 1:

$$\text{Frequência relativa} = \frac{\text{Frequência absoluta}}{\text{Total da amostra}} \times 100$$

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

As etnovariedades de mandioca avaliadas neste estudo apresentam polimorfismo quanto as características morfológicas de flores e frutos. Os dados de cada descritor foram distribuídos em classes, para análise do poder discriminativo de cada um (Tabela 2). Observa-se uma distribuição equitativa das diferentes classes dos descritores, com exceção da cor do estigma e da cor das anteras nos quais houve concentração de etnovariedades em uma única classe, ou seja, todas as etnovariedades apresentam estigma branco ou creme e anteras amarelas.

Descritores	Classes fenotípicas	Frequência absoluta
	Roxa	08
Cor das sépalas	Branca ou Creme	03
	Verde	01
Cor do disco	Laranja	11
	Vermelho	01
Cor do ovário	Verde	10
	Roxo	02
Cor do estigma	Branco ou creme	12
Cor das anteras	Amarela	12
Exocarpo	Rugoso	07
	Liso	05

Tabela 2. Frequência absoluta entre as classes dos seis descritores morfológicos (flores e frutos), avaliados em doze etnovariedades de mandioca cultivadas no Mato Grosso.

Neste estudo, quatro descritores morfológicos, sendo três das flores (cor das sépalas, cor do disco e do ovário) e um do fruto revelaram polimorfismo entre as doze etnovariedades de mandioca cultivadas em Alta Floresta, MT (Tabela 2), podendo então, serem exploradas em programas de cruzamento com a espécie. Aud et al. (2011) destacam que, apesar da maioria das características morfológicas não estarem relacionadas a atributos agronômicos de interesse, a presença desta variabilidade é de fundamental importância para a descrição de futuras variedades.

Sigla	Etnovariedades	Flores				Frutos	
		CS	CD	CO	CE	CA	EXO
NMU01	Camanducaia	Roxa	LAR	Roxo	BC	Amarela	Liso
NMU02	Paraná	BC	VER	Verde	BC	Amarela	Liso
LCA03	Amarela 03	Roxa	LAR	Verde	BC	Amarela	Rugoso
SNP06	Branca	BC	LAR	Verde	BC	Amarela	Liso
SNP07	Amarelinha	Verde	LAR	Verde	BC	Amarela	Rugoso
ITA01	Casca roxa	Roxa	LAR	Roxo	BC	Amarela	Rugoso
ITA02	Mandioca pão	Roxa	LAR	Verde	BC	Amarela	Rugoso
ITA03	Mandioca seis meses	Roxa	LAR	Verde	BC	Amarela	Liso
ITA06	Branca 01	Roxa	LAR	Verde	BC	Amarela	Rugoso
SHE05	Cacau branca	BC	LAR	Verde	BC	Amarela	Liso
SHE06	Branca 02	Roxa	LAR	Verde	BC	Amarela	Rugoso
GUA02	Cacau roxa	Roxa	LAR	Verde	BC	Amarela	Rugoso

Tabela 2. Caracterização fenotípica de doze etnovariedades de mandioca cultivadas no norte de Mato Grosso. CS= Cor das sépalas; CO= Cor do disco; CO= Cor do ovário; CE= Cor do estigma; CA= Cor das anteras; EXO= Exocarpo dos frutos; BC= Branco ou creme; LAR= Laranja; VER= Vermelho.

As etnovariedades *Branca* e *Cacau branca*, oriundas dos municípios de Sinop e Nova Santa Helena, respectivamente, foram similares entre si e apresentam sépalas branca ou creme, disco laranja, ovário verde, estigma branco ou creme, anteras amarelas e exocarpo do fruto liso, conforme destacado na Figura 3.



Figura 3. Flores e frutos das duas etnovariedades de mandioca que apresentaram similaridade. A e B) *Branca*; C e D) *Cacau branca*. Barra: 25 mm.

Cinco das doze etnovariedades avaliadas (*Amarela 03*, *Mandioca pão*, *Branca 01*, *Branca 02* e *Cacau roxa*), oriundas de distintos municípios (Lucas do Rio Verde, Itaúba, Nova Santa Helena, Guarantã do Norte), apresentam sépalas roxa, disco laranja, ovário verde, estigma branco ou creme, anteras amarelas e exocarpo do fruto rugoso, sendo, portanto 100% similares para estes descritores (Figura 4).

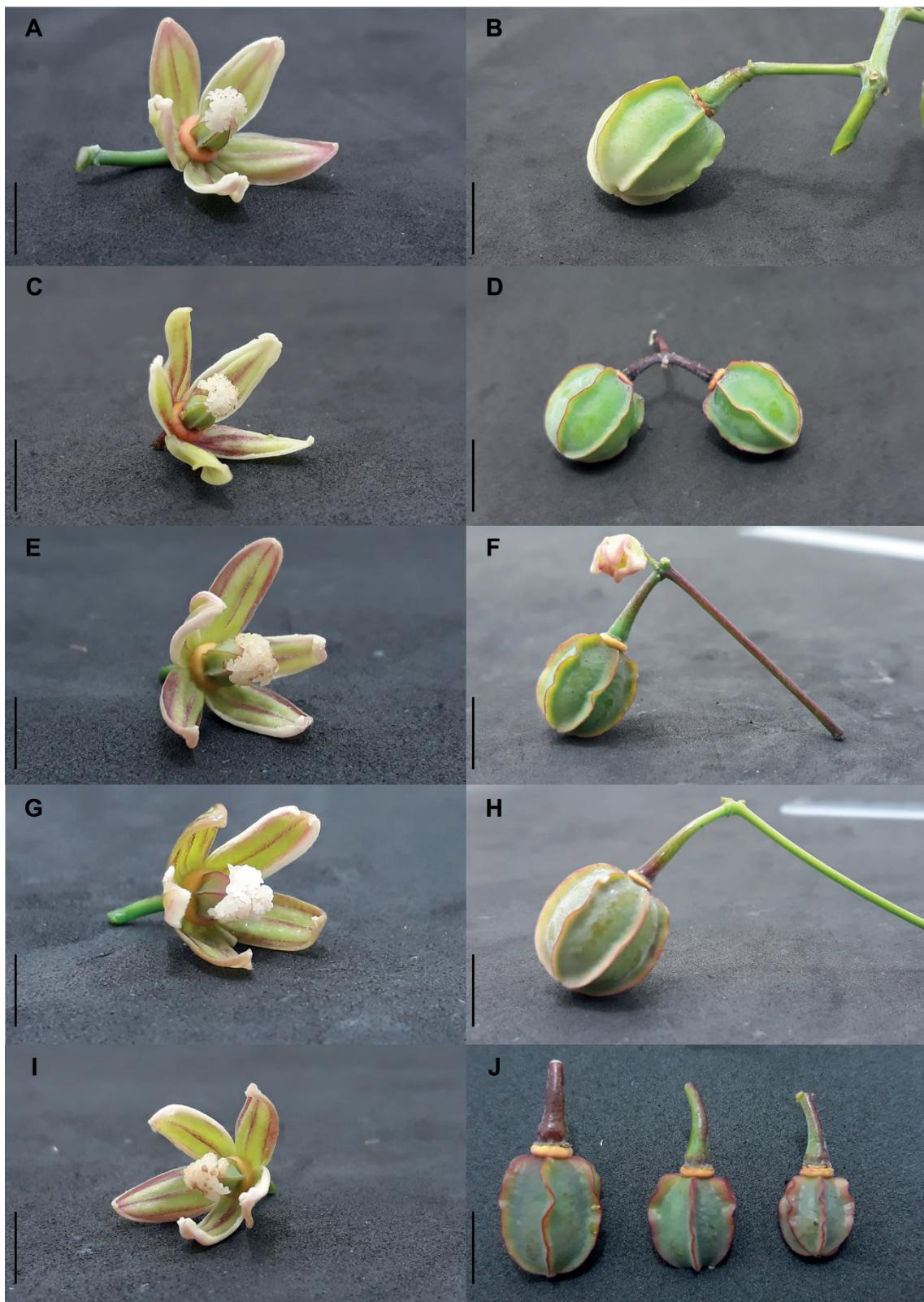


Figura 4. Flores e frutos das cinco etnovariedades de mandioca que apresentaram similaridade. A e B) Amarela 03; C e D) Mandioca pão; E e F) Branca 01; G e H) Branca 02; I e J) Cacau roxa. Barra: 25 mm.

As outras cinco etnovariedades caracterizadas (*Camanducaia*, *Paraná*, *Amarelinha*, *Casca roxa*, *Mandioca seis meses*) apresentam pelo menos uma distinção entre os descritores fenotípicos das flores e/ou frutos, como por exemplo as etnovariedades *Camanducaia* e *Mandioca seis meses*, que se distinguiram apenas para a cor do ovário, em que se apresentam como roxo e verde, respectivamente

(Figura 5).



Figura 5. Flores e frutos das cinco etnovariedades de mandioca que apresentaram dissimilaridade. A e B) *Camanducaia*; C e D) *Paraná*; E e F) *Amarelinha*; G e H) *Casca roxa*; I e J) *Mandioca seis meses*. Barra: 25 mm.

A variabilidade genética encontrada nas etnovariedades por meio dos descritores fenotípicos de flores e frutos pode ser verificada pela frequência relativa dos descritores nas classes fenotípicas apresentadas na Figura 6. O descritor cor da sépala apresentou três classes fenotípicas, sendo o que revelou mais polimorfismo. A maioria das etnovariedades avaliadas apresentam flores com sépalas de coloração 'roxa' ($n=8$), disco 'laranja' ($n=11$), ovário 'verde' ($n=10$), estigma 'branco ou creme' ($n=12$) e anteras 'amarelas' ($n=12$). Cinquenta e oito por cento dos frutos

apresentam exocarpo rugoso (n=7).

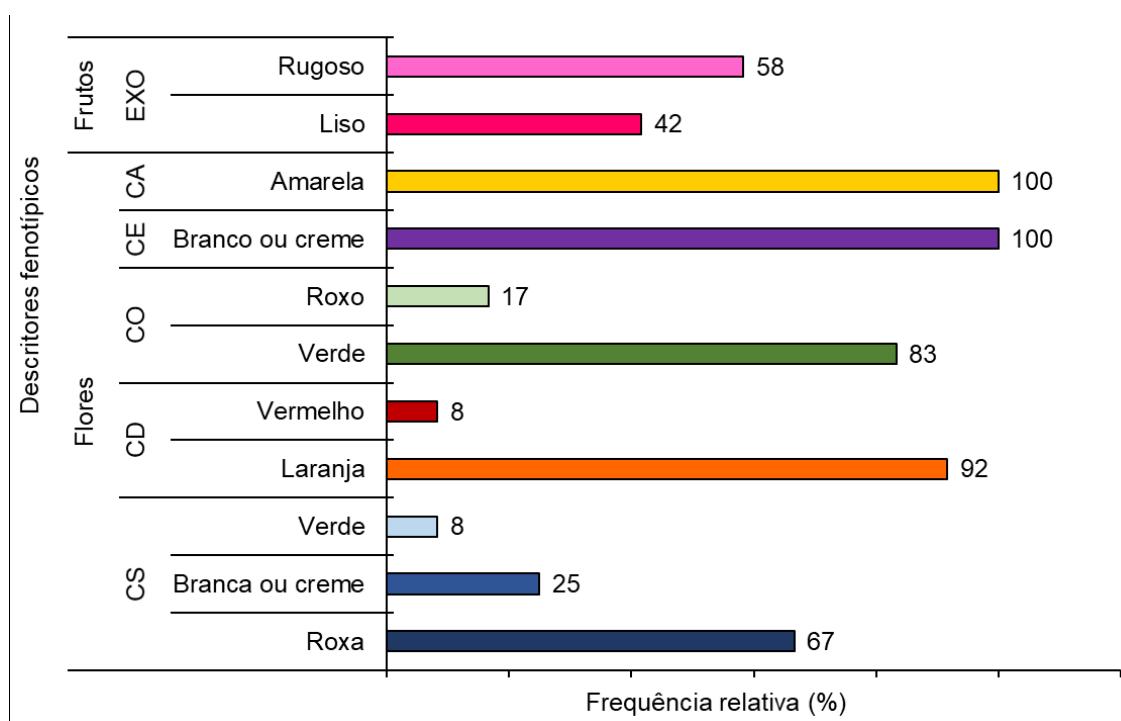


Figura 6. Frequência relativa (%) das classes fenotípicas encontradas nas doze etnovariedades de mandioca. CS= Cor das sépalas; CO= Cor do disco; CO= Cor do ovário; CE= Cor do estigma; CA= Cor das anteras; EXO= Exocarpo dos frutos.

4 | CONCLUSÕES

Os descritores fenotípicos de flores e frutos da mandioca foram eficientes na caracterização das doze etnovariedades, revelando similaridades e/ou dissimilaridades entre o material avaliado. Os descritores ‘cor do estigma’ e ‘cor das anteras’ não foram informativos, visto que as etnovariedades se concentraram em uma única classe.

Há diversidade fenotípica entre as etnovariedades cultivadas no norte mato-grossense para as características morfológicas vegetativas avaliadas, portanto, destaca-se a importância dos acervos locais mantidos e conservados por agricultores familiares, pois constituem fontes de genes para estudos que envolvam a espécie *Manihot esculenta*.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, J.A.A.; SEDIYAMA, T.; SILVA, A.A.; SEDIYAMA, C.S.; ALVES, J.M.A.; NETO, F.A. Caracterização morfológica e agronômica de clones de mandioca cultivados no Estado de Roraima. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, n. 4, p. 388-394, 2009.
- ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013. DOI: 10.1127/0941-2948/2013/0507
- AUD, F.F.; AGUILAR-VILDOSO, C.I.; SANTOS, V.S.; OLIVEIRA, E.J. de. Descritores morfológicos para caracterização de acessos do banco ativo de germoplasma de *Manihot esculenta* Crantz. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 14.; FEIRA BRASILEIRA DA MANDIOCA, 1., 2011, Maceió. Mandioca: fonte de alimento e energia: **Anais...** Maceió: ABAM: SBM, 2011. 1 CD ROM. Melhoramento genético. Resumo n. 234.
- CEBALLOS, H.; CRUZ, G.A. Taxonomía y morfología de la yuca. In: OSPINA, B.; CEBALLOS, H. (Coord.). **La yuca en el tercer milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización**. Cali: CIAT, 2002. p. 16-32.
- CHISTÉ, R.C.; COHEN, K.O. **Estudo do processo de fabricação da farinha de mandioca**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 2006. 76p. (Documentos 267).
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013.
- FUKUDA, W.M.G.; GUEVARA, C.L. **Descritores morfológicos e agronômicos para a caracterização de mandioca (Manihot esculenta Crantz)**. Cruz das Almas: CNPMF, 1998. 38p.
- GUSMÃO, L.L.; MENDES NETO, J.A. Caracterização morfológica e agronômica de acessos de mandioca nas condições edafoclimáticas de São Luís, MA. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 15, n. 2, p. 28-34, 2008.
- MATTOS, P.L.P.; FARIAS, A.R.N.; FERREIRA FILHO, J.R. **Mandioca: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 176p.
- SANTOS, R.M.C.; LEMOS, R.C.; RÊGO, E.R.; CASALI, V.W.D.; COCA, G.C.; BORÉM, A.; FINGER, F.L. Caracterização de frutos e flores de pimenteira silvestre. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 2, p. S3069-S3076, 2011.
- SILVA, R.M.; BANDEL, G.; FARADLDO, M.I.F.; MARTINS, P.S. Biologia reprodutiva de etnovariedades de mandioca. **Scientia Agrícola**, v. 58, n. 1, p. 101-107, 2001.
- VIEIRA, E.A.; FIALHO, J.F.; SILVA, M.S. **Caracterização morfológica de acessos coloridos de mandioca**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2009. 15p.
- ZAINUDDIN, I.M.; FATHONI, A.; SUDARMONOWATI, E.; BEECHING, J.R.; GRUISSEM, W.; VANDERSCHUREN, H. Cassava post-harvest physiological deterioration: From triggers to symptoms. **Postharvest Biology and Technology**, v. 142, p. 115-123, 2018. DOI: 10.1016/j.postharb.2017.09.004

CAPÍTULO 20

ESTUDO FITOQUÍMICO E POTENCIAL BIOLÓGICO DE FOLHAS DE *Schinus molle* L. (ANACARDIACEAE)

Data de aceite: 14/02/2020

(CESCAGE)

Data de submissão: 20/12/2019

Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/4317810224498089>

Vanessa Lima Gonçalves Torres

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/5904092305175226>

Adalci Leite Torres

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/1415327946551430>

Vitoldo Antonio Kozlowski Junior

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/4882769728391824>

Jane Manfron Budel

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/8072139191011151>

Lorene Armstrong

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/8526235808552652>

Rosi Zanoni da Silva
Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – PR
<http://lattes.cnpq.br/2210163097389379>

Camila Dias Machado
Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – PR
<http://lattes.cnpq.br/7696567107383783>

Juliane Nadal Dias Swiech
Centro Universitário de Maringá (UNICESUMAR)
Ponta Grossa – PR
<http://lattes.cnpq.br/5384970359322174>

Traudi Klein
Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – PR
<http://lattes.cnpq.br/5859181907194146>

Luciane Mendes Monteiro
Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – PR
<http://lattes.cnpq.br/8503379540908380>

Wagner Alexander Groenwold
Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – PR
<http://lattes.cnpq.br/4149471626819738>

Daniela Gaspardo Folquitto
Faculdades Integradas dos Campos Gerais

RESUMO: *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) é conhecida popularmente como aroeira-salsa ou aroeirinha e usada na medicina tradicional como antiespasmódica, cicatrizante

e antimicrobiana. Os objetivos foram investigar a composição química, o doseamento de polifenóis e flavonoides totais e a análise do potencial antioxidante dos extratos alcoólico e hidroalcoólico 70% bem como das frações de *S. molle*. O extrato alcoólico e hidroalcoólico 70% contém alcaloides, antraderivados O e C heterosílicos, flavonoides, taninos e saponinas. O doseamento de polifenóis ($21,96\% \pm 0,0217$) foi maior no extrato hidroalcoólico 70% e flavonoides no extrato alcoólico ($34,607 \text{ mEqQ.g}^{-1} \pm 0,1045$). A fração hidroalcoólica diclorometano apresentou maior atividade antioxidante.

PALAVRAS-CHAVE: Aroeira, atividade antioxidante, saponinas, Screening fitoquímico, polifenóis.

PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL POTENTIAL STUDY OF LEAVES FROM *Schinus molle* L. (ANACARDIACEAE)

ABSTRACT: *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) is popularly known as aroeira-salsa or aroeirinha and it is used in the traditional medicine as antispasmodic, healing and antimicrobial. The objectives were to investigate the chemical composition, the polyphenols and total flavonoids assay and the analysis of antioxidant potential from alcoholic and hydroalcoholic 70% extract as well as the fractions from *S. molle*. The alcoholic and hydroalcoholic 70% extract have alkaloids, O and C heterosidic antraderivatives, flavonoids, tannins and saponins. The dosing of polyphenols ($21,96\% \pm 0,0217$) is higher in hydroalcoholic 70% extract and flavonoids in alcoholic extract ($34,607 \text{ mEqQ.g}^{-1} \pm 0,1045$). The dichloromethane hydroalcoholic fraction showed higher antioxidant activity.

KEYWORDS: Aroeira, Phytochemical screening, antioxidant activity, polyphenols, saponins.

1 | INTRODUÇÃO

A família Anacardiaceae R.Br. compreende 72 gêneros e aproximadamente 550 espécies usadas como ornamentais, alimentos e medicamentos. Dentre os importantes gêneros dessa família está *Schinus* L. que é formado por 29 espécies que habitam a América do Sul e Central (LORENZI; MATOS, 2002; MACHADO et al., 2019; THE PLANT LIST, 2019).

Schinus molle L. é uma planta aromática, conhecida como aroeira-salsa ou aroeira-periquita, anacauíta e molho (MACHADO et al., 2019). É uma árvore perene que atinge de 3 a 15 m de altura e que possui casca marrom escura, tardia e intensamente fissurada. As folhas são imparipenadas com raquis aladas e 20 a 40 folíolos. Os folíolos são de linear a lanceolados, apresentam margens inteira a pouco denteadas e medem 2-5cm x 0,4-0,8cm (MARTÍNEZ-MILLÁN; CEVALLOS-FERRIZ, 2005).

É utilizada na medicina tradicional como analgésico, antifúngico, antitumoral, antiespasmódico, diurético, antisséptico tópico e para tratar hipertensão, feridas, infecções bacterianas e asma (GOLDSTEIN; COLEMAN, 2004; MAEMA et al., 2016; DO ROSÁRIO MARTINS et al., 2014). Estudos farmacológicos relataram várias propriedades como anti-inflamatório (YUEQIN et al., 2003), antimicrobiano (GUERRA-BOONE et al., 2015), cicatrizante (SANTOS et al., 2013), sedativo (TAYLOR et al., 2016), tripanocida (MOLINA-GARZA et al., 2014) e repelentes e inseticidas (FERRERO et al., 2006; MACHADO et al., 2019).

Quimicamente *S. molle* possui flavonoides (MARZOUK et al., 2006), taninos, alcaloides, saponinas, terpenos e óleos essenciais (FERRERO et al., 2007). Em relação ao óleo essencial, os componentes majoritários foram β -pineno (14.7%), α -pineno (14.1%), limoneno (9.4%) e muurolol (11.8%) (MACHADO et al., 2019).

O valor terapêutico das plantas medicinais é atribuído aos metabólitos secundários, sendo que constituintes químicos que são denominados de marcadores químicos caracterizam o vegetal (MIGLIATO et al., 2007). Portanto, o conhecimento da composição química das espécies vegetais é de suma importância para a identificação do material vegetal. O potencial antioxidante de um vegetal tem importância medicinal para a prevenção de doenças degenerativas (NASCIMENTO et al., 2011). Os objetivos do trabalho foram investigar a composição química de *S. molle* L., quantificar polifenóis e flavonoides totais e avaliar o potencial antioxidante do extrato alcoólico e hidroalcoólico 70%.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico

As folhas de *S. molle* L. (Anacardiaceae) foram coletadas no Horto Medicinal do curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) (latitude 25°5'23" S e longitude 50°6'23" W) Brasil, em março de 2017. O material contendo inflorescências foi identificado por um taxonomista e depositado no Herbário da UEPG, sob os números de registro 20048, 22240 e 22239. O acesso ao material botânico foi registrado pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob número AD57C57, como requer a Legislação Brasileira.

Preparação dos Extratos e Frações

Folhas de *S. molle* secas (500g) foram utilizadas na preparação do extrato alcoólico (EABSM) e hidroalcoólico 70% (EHABSM) por turbólise, com etanol e maceração por 3 dias. Os extratos foram fracionados por partição líquido-líquido com

hexano (H), diclorometano (DCM) e acetato de etila (AE) e obteve-se as frações: FHBEASM, FDCMBEASM e FAEBEASM do EABSM e FHBEHASM, FDCMBEHASM e FAEBEHASM do EHABSM.

Screening fitoquímico

Identificação dos metabólitos secundários: alcaloides (Draggendorf, Mayer e Bourchardat), heterósidos cardiotônicos (Lafon, Liebermann-Buchard, Keller-Killiani), antraquinonas (Borntraëger), flavonoides (Shinoda, AlCl_3 , Taubouk, Pew, NaOH e HCl), taninos (gelatina, acetato de cobre e de chumbo, FeCl_3), cumarina e saponina.

Doseamento de polifenois totais pelo método de Folin-Ciocalteau

Preparação de três diluições sucessivas de 6/1,2/0,096 mg/mL de extrato alcoólico e hidroalcoólico 70% (0,015 g). Adicionou-se 1 mL do reativo Folin-Ciocalteau. Soluções ficaram em repouso por 30 min. ao abrigo da luz. Leitura em espectrofotômetro (760 nm). O padrão de ácido pirogálico em 0,5/0,025/0,002 mg/mL. Para fins de cálculos: $\text{TT} (\%) = [62,5 (\text{A1} - \text{A2}) \times \text{m2}] \div (\text{A3} - \text{m1})$, [m1: massa (g) da amostra; m2: massa do ácido pirogálico (g)]. Resultados expressos pela média/desvio padrão do teor de polifenois totais em % de ác. pirogálico.

Doseamento de flavonoides totais pelo método AlCl_3 2%

O extrato alcoólico e hidroalcoólico 70% e as frações acetato de etila foram diluídas em metanol (1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e 2 mL de AlCl_3 2% e 2 mL das amostras. Após 1 h foram realizadas as leituras em espectrofotômetro 420 nm por meio da curva de calibração do padrão de queracetina 5, 10, 15, 20, 25 e 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Resultados expressos em mEqQ.g.₁ de queracetina/g do extrato e frações, usando a equação com base na curva de calibração: $y = 0,1012x - 0,5032$; $R^2 = 0,9984$.

Determinação da atividade antioxidante pelo complexo fosfomolibdênio

Soluções padrões de rutina (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e ác. gálico (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$). EBASM, EBHASM, FHBEASM, FHBEHASM, FDCMBEASM, FDCMBEHASM, FAEBEASM e FAEBEHASM foram testados na concentração de 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em etanol. Misturou-se 3 mL do reativo (molibdato de amônio 4mM, fosfato de sódio 28 mM, ácido sulfúrico 3 M) e 300 μL de cada extrato. Este mesmo procedimento foi feito para os padrões e o branco (etanol). Os tubos foram incubados por 90 min a 95°C e depois resfriados. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (695nm). Para efeito de cálculo, a vitamina C e o ácido gálico foram considerados como 100% de atividade antioxidante.

Atividade antioxidante pela redução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)

A atividade antioxidante foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Rufino et al. (2007). Utilizou-se 100 μ L da solução de DPPH (0,8 mg/mL) e 20 μ L de metanol para o controle. Padrões de ác. gálico (1mg/mL) e vitamina C (1 mg/mL). Estes padrões sofreram diluições seriadas (500/25/12,5/6,25/3,125/1,5 μ g/mL). EABSM, EHABSM, FHBEASM, FHEBHASM, FDCMBEASM, FDCMBEHASM, FAEBEASM e FAEBEHASM sofreram diluições seriadas nas mesmas concentrações dos padrões. Misturou-se 20 μ L de cada amostra e 100 μ L da solução de DPPH. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (517nm). Resultados foram expressos pela IC 50 (fórmula: % inibição = $[(Ac - Aa)/Ac] \times 100$. Ac: absorbância da solução controle; Aa: absorbância dos extratos no tempo de 30 min.

Atividade antioxidante pelas espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Retirou-se 500 μ L da solução de gema de ovo (5% m/v) e 100 μ L de sol. de EABSM, EHABSM, HBEASM, FHBEASM, FDCMBEASM, FDCMBEHASM FAEBEASM e FAEBEHASM, foram dissolvidos em 1 mL de etanol (95%). Determinações foram feitas na concentração de 1000 ppm (m/v). A peroxidação lipídica foi induzida pela adição de 50 μ L de ABAP à 0,035%. Foi adicionado 1500 μ L de sol. de ác. acético (20%) e 1500 μ L de sol. de TBA à 0,035% (m/v) em sol. de SDS à 0,55% (m/v). O grupo controle foi preparado com os reagentes. As reações foram realizadas durante 1 h a 95°C. Após o resfriamento, as amostras foram centrifugadas com 1500 μ L de butanol a 1200 rpm por 3 min. A absorbância do sobrenadante foi realizada em 532 nm em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos pelo Índice Antioxidante da amostra em percentual (IA%). IA% = $(1-A/C) \times 100$, (C: absorbância do controle totalmente oxidado; A: média aritmética das absorbâncias dos extratos testados).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Screening fitoquímico

Foi detectado a presença de alcaloides, antraderivados O e C – heterosílicos, flavonoides, taninos e saponinas na sua composição química. Taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas, e além da presença de óleo essencial, esteroides e triterpenoides foram encontrados em *S. molle* (LORENZI, 2002).

Doseamento de polifenois totais pelo método de Folin-Ciocalteau

O doseamento de polifenois no EABSM foi de $16,9 \pm 0,064$ % e no EHABSM 70% foi de $21,96 \pm 0,0217$ %. O EHABSM 70% extraiu melhor os polifenois.

Polifenois é uma classe de metabólitos secundários que divide-se em diversas sub-classes, como antocianinas, proantocianinas, taninos, catequinas, flavonoides, flavononas, dentre outras. Essa classe de compostos é a grande responsável em garantir propriedades antioxidantes, sendo que previnem o desenvolvimento de várias patologias em organismos humanos (PERRON; BRUMAGHIM, 2009).

Os polifenois ainda conferem outras atividades como antitumoral, bactericida, fungicida e antiviral (SIMÕES et al., 2017).

Doseamento de flavonoides totais pelo método AlCl_3 2%

O doseamento de flavonoides totais (mEqQ.g-1) resultaram nos seguintes valores: EABSM ($34,607 \pm 0,1045$), EHABSM ($24,073 \pm 0,089$), FAEBEASM ($20,911 \pm 0,04$) e FAEBEHASM ($10,674 \pm 0,017$). Verificou-se que o teor de flavonoides é maior no EABSM, seguido do EHABSM, FAEBEASM e FAEBEHASM. O teor maior de flavonoides em EABSM pode ser explicada pela presença majoritária do flavonoide rutina, sendo que outros estudos comprovaram esse composto fenólico em extratos etanólicos de *S. molle* (MACHADO et al., 2008).

Compostos fenólicos foram encontrados anatomicamente em folhas de *S. molle* em células epidérmicas e subepidérmicas, no epitélio de ductos secretores e ao redor de feixes vasculares. Esses compostos reagiram com soluções de cloreto férreo e dicromato de potássio, no estudo histoquímico de Machado et al (2019).

A maior concentração de compostos fenólicos foi determinada em extratos aquosos da madeira de *S. molle*, entretanto a maior concentração de flavonoides totais foi encontrada em extratos metanólicos (SALEM et al., 2016).

Os resultados obtidos no presente trabalho também confirmam que a polaridade do solvente extrator influencia diretamente no processo extrativo, baseado no princípio da polaridade, sendo que semelhante dissolve semelhante.

Garzoli et al. (2019) ainda sugere que o uso de diferentes solventes com diferentes polaridades, interferem na extração dos metabólitos secundários ou dos compostos majoritários presentes em extratos de *S. molle*, principalmente em extratos de plantas machos ou fêmeas, ou de plantas floridas ou não-floridas.

Determinação da atividade antioxidante pelo complexo fosfomolibdênio

A atividade antioxidante (%) em relação à vitamina C demonstra FDCMBEHASM ($81,38 \pm 0,1107$), FAEBEASM ($49,87 \pm 0,0609$), FAEBEHASM ($37,29 \pm 0,0540$), FHBEHASM ($36,49 \pm 0,082$), FHBEASM ($14,29 \pm 0,0175$), EABSM ($11,68 \pm 0,035$),

EHABSM ($10,17 \pm 0,015$) e FDCMBEASM ($0,70 \pm 0,001$). FDCMBEHASM ($138,95 \pm 0,1107$), FAEBEASM ($85,16 \pm 0,0609$), FHBEHASM ($62,30 \pm 0,082$), FAEBEHASM ($63,68 \pm 0,0540$), FHBEASM ($24,40 \pm 0,0175$), EABSM ($19,94 \pm 0,035$), EHABSM ($17,36 \pm 0,015$) e FDCMBEASM ($1,20 \pm 0,0010$). Os resultados demonstram que a FDCMBEHASM apresentou a maior atividade antioxidante e FDCMBEASM o menor potencial antioxidante, Tabela 1.

Extratos de <i>Schinus molle</i> L.	AA% em relação à vitamina C	AA% em relação ao ácido gálico
EABSM	$11,68 \pm 0,035$	$19,94 \pm 0,035$
EHABSM	$10,17 \pm 0,015$	$17,36 \pm 0,015$
FHBEASM	$14,29 \pm 0,0175$	$24,40 \pm 0,0175$
FDCMBEASM	$0,70 \pm 0,001$	$1,20 \pm 0,001$
FAEBEASM	$49,87 \pm 0,0609$	$85,16 \pm 0,0609$
FHBEHASM	$36,49 \pm 0,082$	$62,30 \pm 0,082$
FDCMBEHASM	$81,38 \pm 0,1107$	$138,95 \pm 0,1107$
FAEBEHASM	$37,29 \pm 0,0540$	$63,68 \pm 0,0540$

TABELA 1 - Atividade antioxidante dos extratos e frações de *S. molle* L

Atividade antioxidante pela redução do radical DPPH

O resultado revela que a fração hidroalcoólica diclorometano apresentou maior potencial antioxidante ($6,25 \mu\text{g/mL}$) (Gráfico 1). FHBEASM, FDCMBEASM e FHBEHASM não tem ação antioxidante. Estudos realizados com o óleo essencial extraído dos frutos de *S. molle* evidenciaram baixa atividade antioxidante por meio da redução do radical DPPH, em comparação a *Schinus terebinthifolia* Raddi (BENDAOUD et al., 2010). Entretanto, a atividade antioxidante é maior para o óleo extraído das folhas do que dos frutos de *S. molle* (DO ROSÁRIO MARTINS et al., 2014).

Em outros estudos demonstraram a atividade antioxidante para o ensaio com DPPH, sendo que Salem et al. (2019) também confirmou a efetividade da atividade antioxidante para o óleo essencial e para os extratos aquosos.

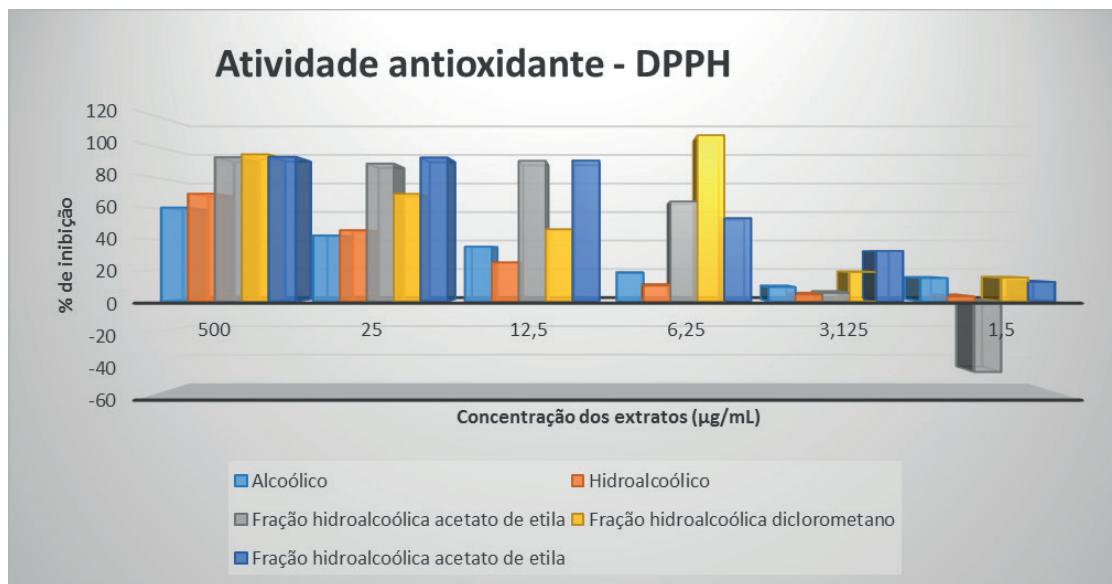


GRÁFICO 1 - Atividade antioxidante (Redução do radical DPPH)

Atividade antioxidante pelas espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

As análises por TBARS nos revelou que o potencial antioxidante de FHBEHASM é $143,072 \pm 0,0176$ e FDCMBEHASM é $108,511 \pm 0,0072$, conforme Tabela 2 abaixo.

Extratos de <i>Schinus molle</i> L.	Índice Antioxidante %
EABSM	$31,127 \pm 0,0169$
EHABSM	$39,410 \pm 0,0152$
FHBEASM	$39,628 \pm 0,0113$
FDCMBEASM	$44,634 \pm 0,0167$
FAEBEASM	$88,889 \pm 0,0293$
FHBEHASM	$143,072 \pm 0,0176$
FDCMBEHASM	$108,511 \pm 0,0072$
FAEBEHASM	$88,272 \pm 0,0787$

TABELA 2 - Atividade antioxidante TBARS das folhas de *S. molle* L

Ao analisar os testes antioxidantes de Fosfomolibdênio, DPPH e TBARS, conclui-se que FDCMBEHASM possui melhor potencial antioxidante ($108,511 \pm 0,0072$) por TBARS. FDCMBEHASM extraiu melhor os flavonoides metoxilados, responsáveis pela atividade antioxidante (SÁ et al., 2012). Portanto, a atividade antioxidante dos extratos de *S. molle* é garantida pela a presença de polifenóis, principalmente os flavonoides, dos quais são compostos que previnem o surgimento de espécies reativas de oxigênio, sendo esses os responsáveis pelo surgimento de diversas doenças (PERRON; BRUMAGHIM, 2009).

4 | CONCLUSÃO

Extrato alcoólico e hidroalcoólico 70% contém taninos, flavonoides, alcaloides, saponinas e antraderivados O e C heterosílicos. O extrato hidroalcoólico 70% tem maior teor de polifenois e o extrato alcoólico maior teor de flavonoides. A fração diclorometano do extrato hidroalcoólico 70% tem melhor ação antioxidante.

AGRADECIMENTOS

Bolsa de iniciação científica (PIBIC) da Fundação Araucária.

REFERÊNCIAS

1. BENDAOUD, H. et al. **Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi berries essential oils.** Journal of food Science, v. 75, n. 6, p. C466-C472, 2010.
2. DO ROSÁRIO MARTINS, Maria et al. **Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils.** Journal of ethnopharmacology, v. 151, n. 1, p. 485-492, 2014.
3. FERRERO, A. A. et al. **Biological activity of *Schinus molle* on *Triatoma infestans*.** Fitoterapia, v. 77, n. 5, p. 381-383, 2006.
4. FERRERO, A. A. et al. **Repellence and toxicity of *Schinus molle* extracts on *Blattella germanica*.** Fitoterapia, v. 78, n. 4, p. 311-314, 2007.
5. GARZOLI, S. et al. **Chemical investigations of male and female leaf extracts from *Schinus molle* L.** Natural product research, v. 33, n. 13, p. 1980-1983, 2019.
6. GOLDSTEIN, D. J.; COLEMAN, R. C. ***Schinus molle* L. (Anacardiaceae) Chicha production in the Central Andes.** Economic Botany, v 58, n. 4, p. 523–529, 2004.
7. GUERRA-BOONE, L. et al. **Antimicrobial and antioxidant activities and chemical characterization of essential oils of *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, and *Origanum majorana* from northeastern México.** Pakistan journal of pharmaceutical sciences, v. 28, 2015.
8. LORENZI, H. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum; 2002.
9. LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: Nativas e exóticas.** Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2002. 512 p.
10. MACHADO, D. G. et al. **Antidepressant-like effect of rutin isolated from the ethanolic extract from *Schinus molle* L. in mice: evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems.** European Journal of Pharmacology, v. 587, n. 1-3, p. 163-168, 2008.
11. MACHADO, C. D. et al. ***Schinus molle*: anatomy of leaves and stems, chemical composition and insecticidal activities of volatile oil against bed bug (*Cimex lectularius*).** Revista Brasileira de Farmacognosia, Curitiba, v. 29, n. 1, p. 1-10, Feb. 2019 .
12. MAEMA, L. P.; POTGIETER, M.; MAHLO, S. M. **Invasive alien plant species used for the**

treatment of various diseases in Limpopo Province, South Africa. African Journal Traditional, Complementary and Alternative Medicines, v. 13, n. 4, p. 223–231, 2016.

13. MARTÍNEZ-MILLÁN, M.; CEVALLOS-FERRIZ, S. R. S. **Arquitectura foliar de Anacardiaceae.** Revista Mexicana de Biodiversidad, v. 76, n. 2, p. 137–190, 2005.
14. MARZOUK, M. S. et al. **Antioxidant flavonol glycosides from *Schinus molle*.** Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, v. 20, n. 3, p. 200-205, 2006.
15. MIGLIATO, K.F. et. al. **Controle de Qualidade do Fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v.17, n.1, p. 94-101, jan/mar. 2007.
16. MOLINA-GARZA, Z. J. et al. **Anti-*Trypanosoma cruzi* activity of 10 medicinal plants used in northeast Mexico.** Acta tropica, v. 136, p. 14-18, 2014.
17. NASCIMENTO, J. C. et al. **Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 92, n. 4, p. 327 – 332, 2011.
18. PERRON, N. R.; BRUMAGHIM, J. L. **A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding.** Cell biochemistry and biophysics, v. 53, n. 2, p. 75-100, 2009.
19. RUFINO, M. S. M. et al. **Determinação da atividade antioxidante em frutas pela captura do radical livre DPPH.** Comunicado Técnico Embrapa, v.127, p. 1-4, 2007.
20. SALEM, M. Z. M et al. **Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of extracts from *Schinus molle* wood branch growing in Egypt.** Journal of wood science, v. 62, n. 6, p. 548-561, 2016.
21. SANTOS, A. C. A. D. et al. **Variation in the essential oils composition in Brazilian populations of *Schinus molle* L. (Anacardiaceae).** Biochemical Systematics and Ecology, n.48, p. 222–227, 2013.
22. SÁ, P. G. S. D. et al. **Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (Selaginellaceae).** Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada, v. 33, n. 4, p. 561-566, 2012.
23. SIMÕES, C. et al. (Org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6 ed. Porto Alegre: Editora UFRGS 2010, 1104p.
24. TAYLOR, A. et al. **Assessment of the analgesic, anti-inflammatory and sedative effects of the dichloromethanol extract of *Schinus molle*.** European review for medical and pharmacological sciences, v. 20, n. 2, p. 372-380, 2016.
25. THE PLANT LIST. ***Schinus* L.** Disponível em:<<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=Schinus>>. Acesso em: 16 dez. 2019.
26. YUEQIN, Z. et al. **Isolation of two triterpenoids and a biflavanone with anti-inflammatory activity from *Schinus molle* fruits.** Planta medica, v. 69, n.10, p. 893-898, 2003.

PRESCRIÇÃO DE FITOTERÁPICOS POR NUTRICIONISTAS – DE ACORDO COM ASBRAN

Data de aceite: 14/02/2020

Vanderlene Brasil Lucena

Unidade de Ensino Superior do Sul do Maranhão
- UNISULMA
Imperatriz-MA

Email: vanda_brasil@hotmail.com

Whandra Braga Pinheiro de Abreu

Unidade de Ensino Superior do Sul do Maranhão
- UNISULMA
Email: whandra_pinheiro@hotmail.com
Imperatriz-MA

Karuane Sartunino da Silva Araujo

Universidade Estadual da Regiao Tocantina do
Maranhao -UEMASUL
Email: karuane@gmail.com
Imperatriz-MA

Diana Augusta Guimarães de Lima

Unidade de Ensino Superior do Sul do Maranhão-
UNISULMA
Email: dianarecanto@hotmail.com
Imperatriz-MA

Thyago Santos Donadel

Unidade de Ensino Superior do Sul do Maranhão
- UNISULMA
Email: thyago.donadel@hotmail.com
Imperatriz-MA

RESUMO: O crescimento do uso de plantas medicinais, através da fitoterapia tem

aumentado na população, ampliando assim a prescrição por profissionais da área de saúde. Após a autorização do Conselho Federal de Nutrição, por meio da Resolução número 402/2007, os nutricionistas incorporaram os fitoterápicos ao tratamento dietoterápico de forma complementar. O objetivo da pesquisa foi identificar como está sendo realizada a prescrição de fitoterápicos por nutricionistas da cidade de Imperatriz. Aderiu-se a uma pesquisa quantitativa, descritiva e transversal, utilizando roteiro de questionário semiestruturado, aplicado aos prescritores de fitoterápicos atuantes no Maranhão. Dos 32 entrevistados, 97% eram mulheres entre uma média de idade de 25 a 29 anos através de pesquisa preconizada por aplicativo de formulário (Google Forms), entrevistando os profissionais. Verificou-se que 46,9% dos entrevistados concluiu a graduação de Nutrição há pelo menos 4 anos, 53,3% não realizou curso de especialização em fitoterapia, porém 53% realiza prescrição para os casos de obesidade, ansiedade entre outros. Os motivos para prescreverem ou não, vai desde a falta de conhecimento, passando pela ausência do tema na graduação até a credibilidade do produto. Portanto evidencia-se com base nos resultados que não está sendo estabelecido nas Resoluções nº 402/2007 e nº 525/2013, pois a maioria não possui especialização para

prescrição, sendo que a competência para prescrição de fitoterápicos e de preparações magistras é atribuída exclusivamente ao nutricionista portador de título de especialista ou certificado de pós-graduação lato *sensu* nessa área. Contudo, a legislação afirma que os nutricionistas só poderão realizar a indicação de medicamentos fitoterápicos e plantas medicinais, quando devidamente capacitados, no qual o medicamento em questão seja isento de prescrição médica, e que sua indicação terapêutica esteja relacionada com o seu campo de conhecimento específico.

PALAVRAS-CHAVE: Plantas medicinais, Fitoterápicos, Nutricionistas.

ABSTRACT: The growth in the use of medicinal plants through herbal medicine has increased in the population, thus increasing the prescription by health professionals. After the authorization of the Federal Council of Nutrition, through Resolution number 402/2007, the nutritionists incorporated the herbal medicines in the dietary treatment in a complementary way. The objective of the research was to identify how the prescription of herbal medicines is being performed by nutritionists from the city of Imperatriz. It adhered to a quantitative, descriptive and cross-sectional research, using a semi-structured questionnaire script, applied to phytotherapeutic prescribers working in Maranhão. Of the 32 respondents, 97% were women between an average age of 25-29 through a form application survey (Google Forms), interviewing professionals. It was found that 46.9% of respondents completed the degree of Nutrition at least 4 years ago, 53.3% did not take specialization course in herbal medicine, but 53% prescribe for cases of obesity, anxiety among others. The reasons for prescribing or not, ranging from lack of knowledge, through the absence of the subject in graduation to the credibility of the product. Therefore, it is evident from the results that are not being established in Resolutions No. 402/2007 and No. 525/2013, since most do not have specialization for prescribing, and the competence for prescribing herbal medicines and master preparations is attributed exclusively to nutritionist holding a specialist title or postgraduate certificate lato *sensu* in this area. However, the legislation states that nutritionists may only refer herbal medicines and medicinal plants, when properly trained, in which the drug in question is exempt from medical prescription, and that their therapeutic indication is related to their specific field of knowledge.

KEYWORDS: Medicinal plants, Herbal medicines, Nutritionists.

1 | INTRODUÇÃO

Na busca pelo corpo ideal, algumas pessoas utilizam plantas para auxiliar na perda de peso. Os fitoterápicos, de fato, quando utilizados de forma correta, podem auxiliar o paciente a obter bons resultados, em especial uma melhora em sua saúde (UYEDA, 2015).

A incorporação da fitoterapia na prática do nutricionista, ainda que

recomendada por organismos internacionais e regulamentada pelo Ministério da Saúde, significa um novo momento na qualificação desse profissional, de forma a permitir que os objetivos de segurança e eficácia propostos pela Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos sejam alcançados. Essas considerações são especialmente importantes quando se trata de prática que tem base teórica própria, e reconhecidos efeitos adversos e interação com outras plantas, medicamentos e alimentos (YPIRANGA, 1990).

Contudo a prescrição de medicamentos fitoterápicos, de produtos tradicionais fitoterápicos e de preparações magistrais de fitoterápicos, como complemento de prescrição dietética, é permitida ao nutricionista desde que seja portador do título de especialista em Fitoterapia. Regulamenta a prática da fitoterapia pelo nutricionista, atribuindo-lhe competência para, nas modalidades que especifica prescrever plantas medicinais, drogas vegetais e fitoterápicos como complemento da prescrição dietética e, dá outras providências (CFN, 525/2013).

Este trabalho tem como objetivo identificar como está sendo realizada a prescrição de fitoterápicos por nutricionistas em uma cidade no estado do Maranhão. E como objetivos específicos, apresentar as características sócio demográficas dos entrevistados, identificar a área e tempo de atuação dos profissionais, identificar a prevalência dos profissionais com especialização na área de fitoterapia, listar os fitoterápicos mais prescritos, além de identificar a prevalência em adultos.

2 | FITOTERÁPICOS

A palavra Fitoterapia deriva da junção de dois termos em grego, “*Phytón*” que significa vegetal e “*Therapeia*” cujo significado é terapia, originando o termo “terapia utilizando plantas”. A Organização Mundial de Saúde (OMS) define fitoterápicos como um termo amplo que inclui ervas, materiais à base de plantas, preparações à base de plantas e produtos acabados a base de ervas. O termo erva, inclui material de planta em bruto, tais como folhas, flores, frutos, sementes, caules, madeira, casca, raízes, rizomas ou outras partes da planta, que pode ser inteiro, fragmentado ou em pó e processadas por métodos locais e utilizado como estabelecido tradicionalmente (BUENO, 2016).

A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, foi aprovada através do decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006 onde fala que os nutricionistas poderão realizar a indicação de medicamentos fitoterápicos e plantas medicinais, desde que devidamente capacitados, que o medicamento em questão seja isento de prescrição médica, e que sua indicação terapêutica esteja relacionada com o seu campo de conhecimento específico (BRASIL, 2009).

Infelizmente, a maior parte dos fitoterápicos que são utilizados atualmente por automedicação ou por prescrição médica não tem o seu perfil tóxico bem conhecido. Por outro lado, a utilização inadequada de um produto, mesmo de baixa toxicidade, pode induzir problemas graves desde que existam outros fatores de risco tais como contraindicações ou uso concomitante de outros medicamentos (CAPASSO *et. al.*, 2000).

2.1 A história da fitoterapia

A utilização de plantas para o tratamento de doenças acontece em todo o mundo e há muito tempo. Médicos famosos na antiguidade, como Hipócrates e Avicenna, já faziam uso de plantas medicinais. Em países como a China, essa prática é seguida há muitos séculos. No Brasil, as plantas eram usadas pelos povos indígenas em rituais de cura, da mesma maneira que os povos africanos faziam sua associação com rituais religiosos (ALVES, 2004).

Historicamente o uso de plantas medicinais remonta a eras pré-históricas e a convivência do homem com estas é antropológica. Após ingerir determinada planta experimentou melhora ou piora de algum padecimento que o acometia. Observou, também, esses efeitos entre os animais do habitat que compartilhavam. Com o tempo pela observação pode chegar à alguns grupos de plantas que traziam alívio dos sintomas em detrimento de outras que os agravavam. E algumas delas, provavelmente, levando até mesmo à morte devido a uma maior toxicidade. Esse conhecimento foi passado para as próximas gerações, nascendo assim a fitoterapia enquanto prática terapêutica tradicional (ROSSATO, *et al.*, 2012).

2.2 Fitoterapia / Botânicos ou Fitoervas

A fitoterapia é a ciência do uso de substâncias derivadas de plantas para tratar e prevenir enfermidade. Tecnicamente essas plantas – inclusive suas folhas, flores, caules, rizomas e raízes – são chamados botânicos ou fitoervas, mas os termos erva e botânico são com frequência usados de modo permutável. Erva tecnicamente se refere apenas a uma planta com um caule não lenhoso que resseca a partir das extremidades dos ramos no inverno (MAHAN; ECOTT-STUMP, 2005).

A fitoterapia abrange a maior parte das especialidades médicas e o uso de fitoterápicos no tratamento de diversas enfermidades vem sendo cada vez mais utilizado. Sua segurança e qualidade estão asseguradas pela rigorosa legislação a qual estes estabelecimentos estão submetidos, segundo as normas da ANVISA. Segundo a Portaria nº 971, de 3 de maio de 2006, a fitoterapia é uma “terapêutica caracterizada pelo uso de plantas medicinais em suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de substâncias ativas isoladas, ainda que de origem vegetal” (SRIVASTAVA; SHANKAR; GUPTA, 2010).

2.3 Tipos de fitoterápicos

Para muitos produtos botânicos, os ingredientes ativos e o modo de ação foram definidos, outros ainda estão sendo pesquisados. A base científica para esse medicamento pode ser investigada com as mesmas ferramentas científicas que as drogas por prescrição (por exemplo, experiências clínicas duplo-cegas, controladas por placebo). As informações de pesquisa sobre fitoterapia como uma modalidade de terapia complementar estão começando a surgir (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2005).

A diversidade de espécies e famílias botânicas é um fator complicador na correta identificação das plantas medicinais. Devido ao regionalismo, uma mesma espécie pode apresentar uma variedade de nomes populares, por exemplo, a erva medicinal que no Norte/Nordeste é chamada de chá-de-pedestre, no Sul/Sudeste é conhecida como erva-cidreira-de-rama. Também pode ocorrer que um mesmo nome popular indique plantas medicinais diferentes em regiões distintas, como no caso espinheira-santa, nome popular que normalmente se refere ao gênero *Maytenus*, em algumas regiões são confundidas com outras espécies e famílias como a da família das leguminosas, devido à semelhança morfológica de suas folhas (GOBBO; LOPES, 2007).

O primeiro critério para a utilização das plantas medicinais é a identificação botânica. Um dos aspectos mais delicados na fitoterapia está na identidade das plantas. Por ser baseada em nomes vernaculares, a verdadeira identidade de uma planta recomendada pode variar enormemente de região para região. “Plantas, completamente distintas, podem ter o mesmo nome popular, algumas acumulam elevado número deles para a mesma espécie” (LORENZI; MATOS, 2008).

2.4 Aquisição de insumos, processos de preparação e estabilização da droga vegetal

A flora brasileira abriga uma riqueza imensurável quando se fala de tratamentos médicos naturais. As florestas do País guardam a maior biodiversidade do planeta, com mais de 50 mil espécies de plantas. Entre toda essa variedade, apenas 10% dos vegetais já têm a propriedade conhecida e explorada pelos fabricantes de medicamentos fitoterápicos. Para que seja possível extrair o melhor dessas plantas, é preciso seguir um processo rigoroso, desde o plantio até a manipulação dos extratos. Qualquer mudança dentro do processo altera o resultado final desejado (BRAGANÇA, 1996).

A parte da planta a ser utilizada também tem grande influência no tipo de medicamento que se quer obter, isto porque a distribuição das substâncias ativas numa planta pode ser bem irregular. Alguns grupos de substâncias localizam-se preferencialmente em partes específicas: os flavonoides, de maneira geral, estão

mais concentrados na parte aérea da planta. Na camomila, as substâncias estão mais concentradas nas flores (ARAUJO, 2002).

2.5 Espécies e Formas de Fitoterápicos

O Brasil abriga cerca de 55 mil espécies de plantas, aproximadamente um quarto de todas as espécies conhecidas. Quanto maior o número de espécies, maior o potencial de novos medicamentos. A despeito dos mais de 50 anos de pesquisa com plantas medicinais no país, o número de espécies estudadas ainda é muito reduzido (DI STASI, 1996).

Devido à grande extensão territorial, o Brasil tem, em cada região, características edafoclimáticas peculiares a cada região, que podem interferir no desenvolvimento das espécies nativas ou introduzidas, mesmo que as condições sejam semelhantes às do local de origem. Portanto, antes de iniciar o cultivo, especialmente em escala comercial, é necessário conhecer o comportamento da espécie em relação aos efeitos climáticos da região do plantio, os tratos culturais e os fatores bióticos que são responsáveis pelo desenvolvimento da planta. A falta de domínio tecnológico em todas as etapas de desenvolvimento levará, provavelmente, à baixa qualidade da biomassa e redução nos teores dos principais constituintes químicos do óleo essencial, assim como no rendimento (MARCHESE; FIGUEIRA, 2005).

3 | O NUTRICIONISTA

Todo nutricionista especialista pode prescrever métodos de tratamento caracterizado pela utilização de plantas medicinais em suas diferentes preparações, sem a utilização de substâncias ativas isoladas, ainda que de origem vegetal, sob orientação de um profissional habilitado. A fitoterapia engloba a utilização de plantas medicinais in natura, de drogas vegetais, de derivados de drogas vegetais e de medicamentos fitoterápicos (BRASIL, 2015).

O Código de Ética do Nutricionista, aprovado pela Resolução CFN nº 334/2004, que no seu artigo 1º estabelece o Princípio Fundamental de atender aos “princípios da ciência da Nutrição para contribuir para a saúde dos indivíduos e da coletividade” e determina, no inciso IV do artigo 5º, o dever do nutricionista de “utilizar todos os recursos disponíveis de diagnóstico e tratamento nutricionais ao seu alcance, em favor de indivíduos e coletividade sob sua responsabilidade profissional” (BRASIL, 2007).

3.1 Fitoterapia pelo profissional nutricionista

Resolução do Conselho Federal de Nutricionistas, que regulamenta a prática da Fitoterapia pelo nutricionista, atribui competência para, nas modalidades

que especifica prescrever plantas medicinais e chás medicinais, medicamentos fitoterápicos, produtos tradicionais fitoterápicos e preparações magistrais de fitoterápicos como complemento da prescrição dietética e dá outras providências (BRASIL, 2015).

A discussão da utilização pelo nutricionista da fitoterapia iniciou -se em 2002, sendo aprovada em 2007, a Resolução CFN nº 402 no Diário Oficial da União em 6 de agosto de 2007, regulamentando, então, a prescrição pelo profissional nutricionista de fitoterápicos de plantas in natura frescas, ou como droga vegetal nas suas diferentes formas farmacêuticas. (CFN, 2007).

É importante ressaltar que a prescrição destas substâncias exige do profissional o estudo de cada um dos princípios ativos, partes das plantas a serem utilizadas, modo de preparo, dosagens, contraindicações, reações adversas, dentre outros aspectos. O paciente confia em quem faz a prescrição, e este é um ato de extrema responsabilidade que pode, inclusive, prejudicar o paciente quando feito de maneira errada. Os nutricionistas têm em suas mãos mais uma ferramenta que, sendo utilizada com adequação, conhecimento e responsabilidade, são mais uma aliada na conquista de novos mercados (CFN, 2007).

4 | LEGISLAÇÃO DOS MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS

De acordo com a CFN nº 402/2007, o nutricionista terá total autonomia para prescrever os produtos objetos desta Resolução, quando julgar conveniente a necessidade de complementação da dieta de indivíduos ou grupos, atuando isoladamente ou como membro integrante de uma equipe multiprofissional de saúde (JANAU, *et. al.*, 2010).

Atualmente, a prescrição de fitoterápicos faz parte da rotina dos profissionais da saúde, tais como nutricionistas, enfermeiros e médicos. Os insumos farmacêuticos da categoria *dos* fitoterápicos são comercializados nas farmácias de manipulação, em diferentes formas (CFN, 2007).

A resolução CFN nº 402 de 2007, regulamenta a prescrição fitoterápica pelo nutricionista, na forma de planta in natura frescas, ou como droga vegetal nas suas diferentes formas farmacêuticas. Nela, evidencia-se a importância da formação do Nutricionista na prescrição de plantas medicinais, já que este conteúdo ainda não faz parte das matrizes curriculares de cursos de Nutrição. É fundamental, para a adequada prescrição de fitoterápicos, que o Nutricionista busque um profundo conhecimento científico na área, visto que vários fitoterápicos apresentam interações com nutrientes, medicamentos e até mesmo efeitos colaterais (KALLUF, 2007).

Desde que foi lançado, em 2006, o Título de Especialista em Nutrição é o

reconhecimento de sua capacitação técnica e científica, no desempenho das especialidades profissionais. Ele só pode ser conferido pela ASBRAN, seja por meritocracia ou por prova escrita, conforme a resolução CFN nº 416/2008, e abrange as áreas de alimentação coletiva, nutrição clínica, saúde coletiva e nutrição em esportes. Agora, também irá conferir o Título de Especialista em Fitoterapia, conforme Resolução publicada pelo CFN em 2015, título de especialista em fitoterapia (BRASIL, 2008).

Segundo o ato normativo, a partir de 2018 só poderão prescrever medicamentos fitoterápicos, como complemento de prescrição dietética, nutricionistas que sejam portadores do Título de Especialista em Fitoterapia, conferido pela ASBRAN. A prescrição também poderá ser feita por profissionais que iniciaram ou já concluíram a pós-graduação nesta área antes da publicação da Resolução em 2015. Podem se inscrever profissionais que tenham, no mínimo, dois anos de experiência como nutricionista, sendo um deles comprovado em Nutrição Clínica (CFN, 2013).

Ao adotar a estratégia de complementação dietética com fitoterápicos, o Nutricionista deve observar as indicações e ações terapêuticas do medicamento para que estejam em consonância com a área de competência profissional estabelecida na Lei Federal nº 8.234/1991 e a Resolução CNE/CES Nº 5/2001.

5 | METODOLOGIA

5.1 Tipo de estudo

A pesquisa realizada é do tipo descritiva, transversal e quantitativa.

5.2 Local de estudo

O estudo foi realizado no município de Imperatriz. Segundo IBGE (2018) é a segunda maior cidade do estado do Maranhão, tem uma população aproximada de 258 mil pessoas, geograficamente, Imperatriz faz fronteira com Cidelândia, São Francisco do Brejão, João Lisboa, Davinópolis, Governador Edison Lobão.

5.3 Universo e amostra

Incialmente pesquisou-se em órgãos como o CRN 6, e farmácias de manipulação da cidade de Imperatriz, porém não foi possível ter o acesso a dados e quantidade exata de profissionais, uma vez que, os órgãos não disponibilizaram esses dados, então a amostra foi obtida através de grupos de aplicativo de celular.

O universo desse estudo foi composto por 32 profissionais de nutrição que trabalham na cidade de Imperatriz e de outros estados ou cidades vizinhas que participam de grupos de aplicativo de celular direcionado para nutricionistas.

5.4 Critérios de elegibilidade

Foram incluídos neste estudo, profissionais que estavam interligados nos grupos de aplicativo de celular direcionado para nutricionistas que atuam na cidade de Imperatriz e região.

5.5 Coleta de dados

Por não ter acesso às informações dos órgãos foi utilizado a amostra por conveniência em rede (amostragem não probabilística) devido não disponibilizarem os contatos dos profissionais.

Foi utilizado para coleta de dados o instrumento contemplando questões objetivas através de um questionário das quais indagava-se sobre sexo, idade, quanto tempo de formado, se trabalha com prescrição de fitoterápicos, se tem especialização em fitoterapia, para que finalidade são indicados os fitoterápicos mais prescritos, para que idade é mais indicado o uso de fitoterápicos e se é explicado as contraindicações do uso.

A coleta de dados para esta pesquisa se desenvolveu em três momentos distintos. Inicialmente, foi apresentado para a orientadora do estudo, no qual é nutricionista, onde a mesma enviou para os grupos de aplicativo de celular direcionado aos nutricionistas no período de fevereiro a abril de 2019 convidando os profissionais a participarem e responderem o estudo, sendo devidamente esclarecidos quanto aos seus objetivos, riscos e benefícios.

O questionário foi aplicado através de um aplicativo de celular (*Google Forms*) e identificado por meio de números, portanto, foram assegurados o sigilo e o anonimato dos profissionais que compuseram a amostra do estudo. Assim, os riscos referentes à participação dos mesmos foram mínimos e decorrentes da possibilidade de algum tipo de constrangimento ou incômodo em responder ao questionário, contudo, as medidas de proteção e prevenção puderam minimizá-los ou extinguí-los.

No segundo momento foi feita outra tentativa para obter mais resposta no período de maio a julho de 2019. E para encerrar a pesquisa, no período de agosto a outubro de 2019, foi enviado para os grupos mais uma vez. Tanto na segunda e terceira tentativa as respostas que vieram foram checadas para não haver duplicidade de respostas. Dessa forma, o restante dos nutricionistas que não responderam o questionário, foi excluído.

5.6 Análises dos dados

Os dados foram agrupados, categorizados e apresentados por meio de gráficos, bem como de forma descritiva e foram tratados no *Software Excel* e *Google Forms*.

5.7 Aspectos éticos

Diretrizes e normas regulamentadoras estabelecidas na resolução devem ser cumpridas nos projetos de pesquisa envolvendo seres humanos que devem ainda atender aos fundamentos éticos e científicos também elencados na resolução nº 466/ 2012 do CNS.

Dentre as exigências da resolução, está a obrigatoriedade de que os participantes, ou representantes deles, sejam esclarecidos sobre os procedimentos adotados durante toda a pesquisa e sobre os possíveis riscos e benefícios conforme o TCLE (Apêndice B).

A resolução traz termos e condições a serem seguidos e trata do Sistema CEP/CONEP, integrado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP/CNS/MS do CN) e pelos Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) compondo um sistema que utiliza mecanismos, ferramentas e instrumentos próprios de inter-relação que visa à proteção dos participantes de pesquisa. Foi cumprido o que está preconizado na resolução nº 466/ 2012 do CNS.

6 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

No estudo foram avaliados 32 (trinta e dois) nutricionistas. Foi realizado um estudo com alguns nutricionistas prescritores e não prescritores de fitoterápicos para se obter informações sócio demográficas e de importância relevante para o trabalho.

Com a realização do questionário pôde-se coletar dados sobre o sexo dos entrevistados preconizados em 31 mulheres (97%) e 1 homem (3%). É uma característica sócio demográfica responsável por nos mostrar que atualmente no mercado de profissionais em um município do Maranhão, a maioria das mulheres optou pela área de prescrição como forma de crescimento profissional, enriquecimento curricular e especialização para atendimento à população.

A predominância feminina que trabalha na área de saúde tem sido evidenciada por muitos estudiosos, que observaram que as atividades de cuidar frequentemente de indivíduos, têm sido exercidas por mulheres (ROSA; CARLOTTO, 2005).

6.1 Idade e período de atuação no mercado dos entrevistados

Em relação à idade, os mesmos foram divididos em faixas etárias distintas, a faixa etária predominante foi de 22 a 26 anos preconizados em (41%). No gráfico 01, estão expressos os resultados referentes à idade:

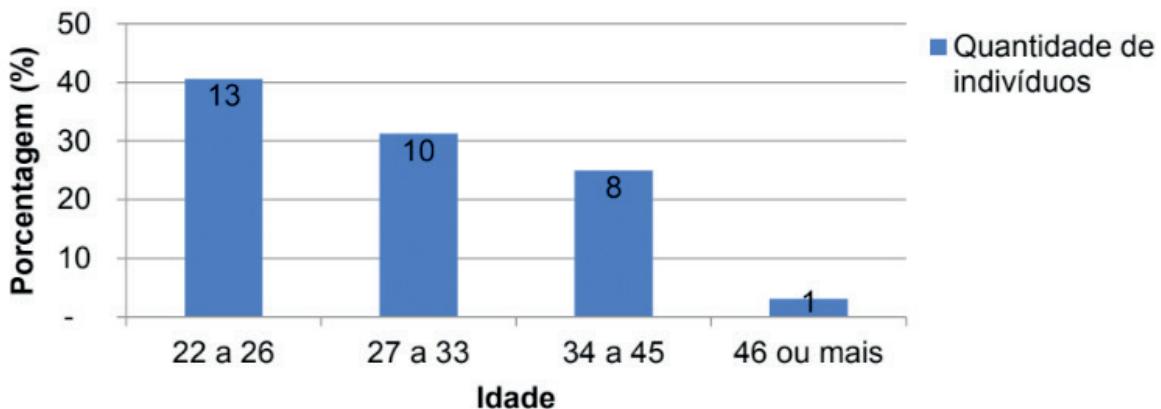


Gráfico 01 – Idade dos entrevistados

Fonte: Pesquisa de campo, 2019.

Nota-se que a maioria dos entrevistados têm idade inferior a 30 anos, indicando uma faixa etária mais jovem e que foram formados recentemente.

Segundo Silva (2017), é notável que essa relação idade e tempo de atuação no trabalho revelam o acúmulo de experiência, conhecimento, dedicação, compromisso, realização pessoal e profissional dos sujeitos da pesquisa.

Em relação ao período de atuação no mercado, 15 entrevistados contemplaram que a maior predominância de indivíduos formados é de 1 a 4 anos, preconizados em (46,88%), representado no gráfico 02:

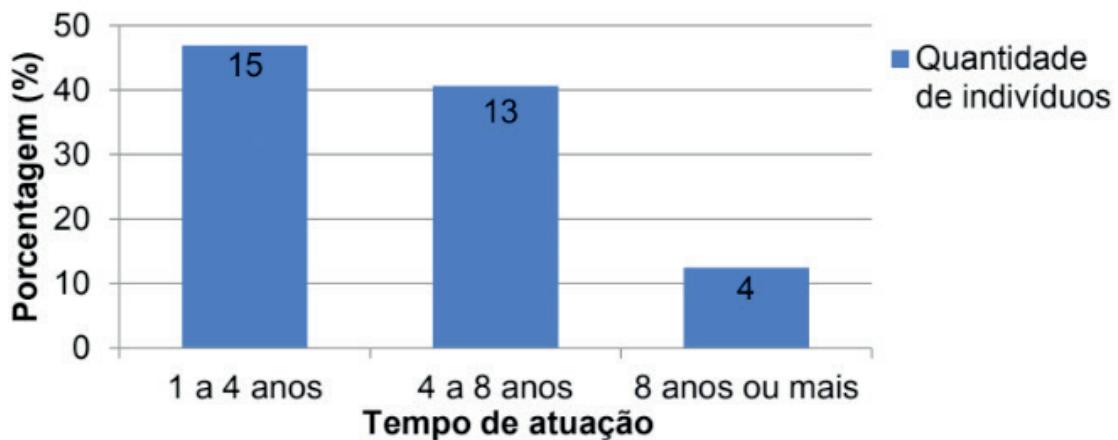


Gráfico 02 – Período de atuação no mercado

Fonte: Pesquisa de campo, 2019.

O período de atuação no mercado é um fator relevante para aquisição de experiência profissional, administração, prescrição e análise da necessidade em aprimorar as técnicas voltadas para a qualidade de vida e bem-estar dos indivíduos.

Esta nova realidade, referente à maior prescrição de plantas medicinais por agentes capacitados, sinaliza a busca e interesse dos profissionais de saúde em

adquirirem qualificação específica sobre o tema de plantas medicinais (OLIVEIRA; LUCENA, 2015).

6.2 Tipos de especialização

Com relação à área de especialização dos entrevistados, a área de nutrição clínica apresenta maior predominância com 11 indivíduos (34,38%), conforme o gráfico 03. Esta área é responsável por tratamentos de diversas doenças através da alimentação, onde provavelmente se há mais profissionais que optam por prescrição de medicamentos à base de plantas medicinais.

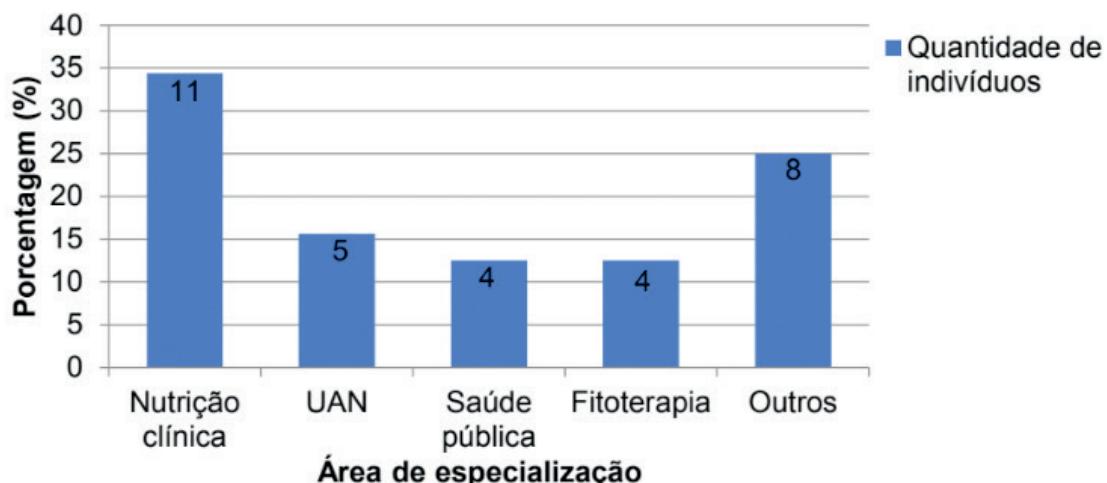


Gráfico 03 – Área de especialização dos entrevistados

Fonte: Pesquisa de campo, 2019.

Nascimento Júnior *et al.* (2016), relacionam a frequência de prescrições com a familiaridade dos profissionais com os medicamentos alternativos. Isso é reflexo dos conhecimentos adquiridos, seja pelo aprendizado no período acadêmico ou com cursos de qualificação sobre o tema e até mesmo pelo próprio consumo destes produtos pelos agentes responsáveis por prescrevê-los.

6.3 Prescrição, especialização e finalidades

A pergunta realizada aos entrevistados foi: Você trabalha com a prescrição de fitoterápicos? Os dados coletados respondidos indicam que a maior predominância foi de 17 indivíduos (53,1%), que não trabalham com prescrição de fitoterápicos e 15 respostas para indivíduos que trabalham com a prescrição, caracterizados por (46,9%).

A prescrição de fitoterápicos requer capacitação de profissionais qualificados como nutricionistas e especialistas em fitoterapia. Pelos resultados obtidos nessa pesquisa, pode-se avaliar que a maioria dos entrevistados não prescreve o uso de fitoterápicos, pois a maioria não possui especialização.

Pontes, *et al.*, (2007), menciona que muitos estudos indicam que grande parte dos profissionais de saúde não prescreve fitoterápicos, muitas vezes por falta de conhecimento e, 98% destes profissionais admitem que deveriam conhecer melhor a utilização das plantas medicinais.

Ao decorrer da realização do questionário foi solicitado que apenas os nutricionistas prescritores continuassem a pesquisa, e que os nutricionistas que não tivessem a prática de prescrição, encerrassem o questionário. Em relação à especialização dos prescritores, a maior predominância contempla a especialização na área em andamento, ao todo 9 respostas (60%), conforme demonstrado no gráfico 04:

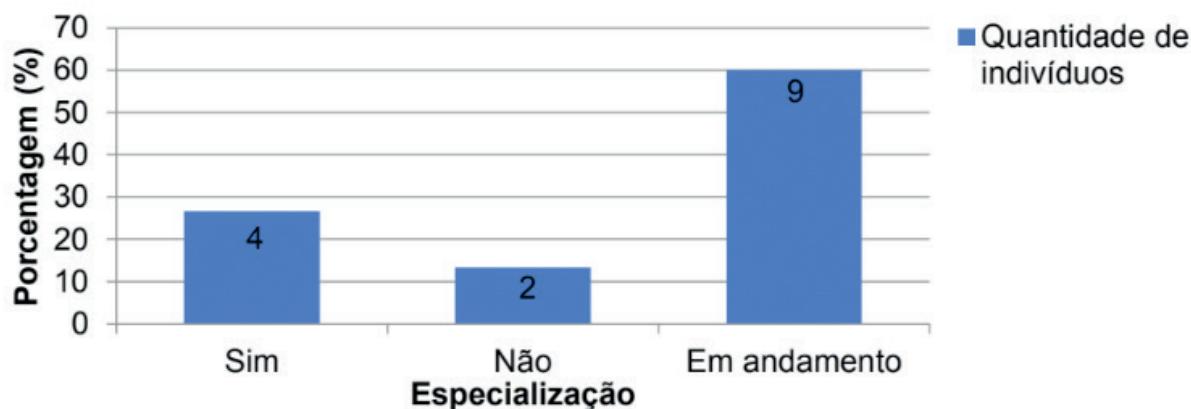


Gráfico 04 – Especialização em fitoterapia

Fonte: Pesquisa de campo, 2019.

A busca de jovens por especialização na área de fitoterapia ocorre devido ao grande interesse pela prescrição de medicamentos fitoterápicos, e conhecimentos aplicados na população que necessita da utilização dos fármacos, principalmente na atenção básica a saúde (BRASIL, 2009).

A diversificação das práticas de atendimento à saúde é de conveniência acadêmica, socioeconômica e cultural, sendo assim, a aplicação das plantas medicinais e fitoterápicas é um possível meio de ampliação da área de trabalho dos profissionais de saúde que ainda estão pouco informados e preparados para lidar com esses recursos alternativos (RIBEIRO; MOSEGUI; VIANNA, 2012).

Em relação para quais finalidades são utilizados os medicamentos fitoterápicos, houve predominância para emagrecimento, onde 7 pessoas (46,25%) responderam para esta opção conforme o gráfico 05:

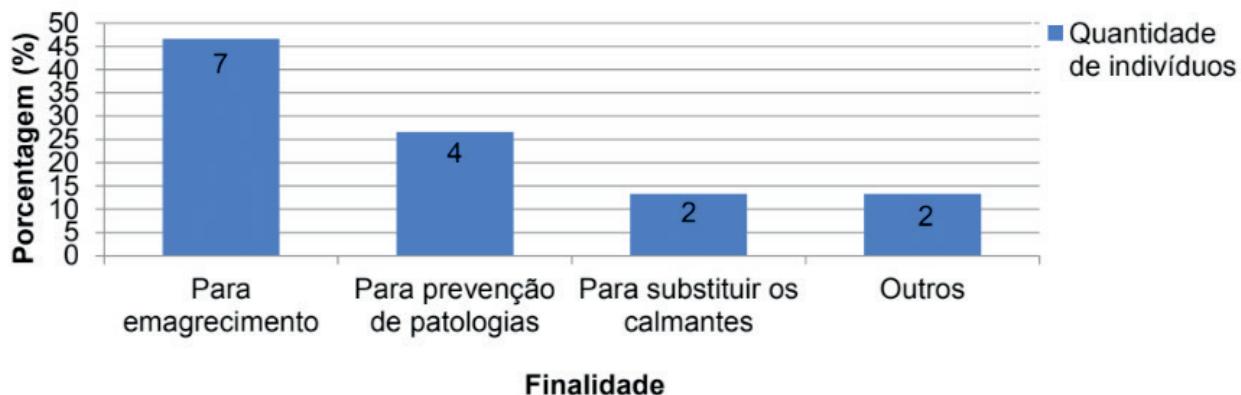


Gráfico 05 – Finalidade dos medicamentos fitoterápicos

Fonte: Pesquisa de campo, 2019.

Para quem realizava prescrição/orientação fitoterápica (plantas medicinais), as condições clínicas mencionadas foram para os casos de obesidade (emagrecedor), moderador de apetite, ansiedade, compulsão, insônia, dispepsia, retenção hídrica, constipação/diarreia, má digestão, hepatoprotetor.

Atualmente, o mercado brasileiro comercializa diversos medicamentos fitoterápicos, simples e associados, com atuação em várias áreas do organismo humano (BRASIL, 2019).

6.4 Grupos que utilizam fitoterápicos

O grupo que mais utiliza fitoterápicos, segundo os entrevistados, são os adultos. Em relação a essas faixas-etárias preconiza a maior predominância em 12 respostas (80%) para adultos, conforme o gráfico 06:

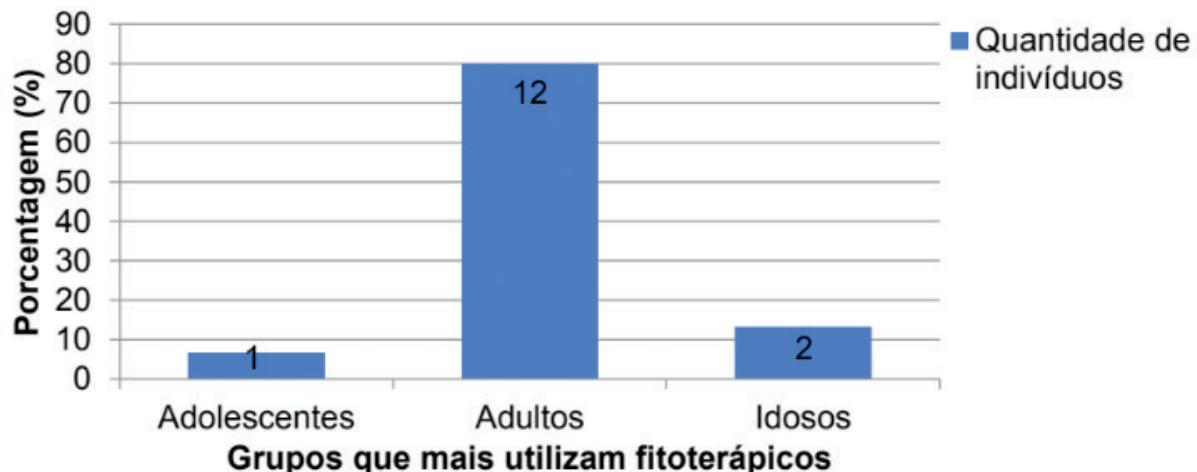


Gráfico 06 – Grupos mais indicados para o uso de medicamentos fitoterápicos

Fonte: Pesquisa de campo, 2019.

Foram expostos mais grupos na pesquisa, como crianças, gestantes e

atletas, porém não contemplaram resultados na coleta de dados, portanto para os entrevistados, esses grupos não contemplam requisitos para o uso de medicamentos à base de plantas medicinais.

No Brasil, o mercado de medicamentos fitoterápicos tem aumentado continuamente, acompanhando o crescimento da indústria farmacêutica como um todo. Apesar disso, estima-se que apenas 10% das pessoas consomem esse tipo de produto. Há um potencial ainda muito grande a ser explorado. O principal desafio esbarra no desconhecimento dos efeitos dos fitoterápicos principalmente pela classe médica (BRASIL, 2009).

Com relação às contraindicações, foi solicitado que os entrevistados respondessem com sim ou não, se há contraindicações informativas para a utilização dos medicamentos fitoterápicos. Foi preconizado com 10 respostas (66,6%), que se é fornecido as contraindicações, ao oposto das outras respostas, 5 pessoas (33,3%) indicaram que não há explicações para contemplar as contraindicações.

O profissional ao prescrever fitoterápicos, deve basear-se em evidências científicas quanto à indicação, critérios de eficácia e segurança dos produtos prescritos, bem como de suas contraindicações, efeitos colaterais, e interações com outras plantas, drogas vegetais, medicamentos e alimentos. Os fitoterápicos prescritos devem possuir indicações de uso relacionadas com o campo de atuação do nutricionista. Além destes aspectos técnicos, o nutricionista deve também observar os aspectos legais que regulamentam a notificação e o registro de plantas medicinais, drogas vegetais e fitoterápicos, observando sempre as restrições de prescrição e comercialização destes produtos (BRASIL, 2016).

7 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a realização da pesquisa foi possível coletar os dados necessários e de relevância para o trabalho, onde a predominância foi de mulheres, entre 22 a 26 anos, com tempo de atuação no mercado entre 1 a 4 anos, advindas da área de nutrição clínica, na qual a maioria não possui especialização, ou com a especialização em andamento, que prescrevem fitoterápicos com a finalidade para emagrecimento, e o grupo que mais utiliza desses produtos à base de plantas medicinais são os adultos, sendo fornecidas as informações acerca das contraindicações para os mesmos.

A realização de mais estudos voltados para a prescrição de fitoterápicos pelos nutricionistas torna-se importante, pois investigará, após o conhecimento e aprovação de resoluções mais recentes, a prática, adequação e percepção desses profissionais. Esse estudo mostrou-se relevante, pois, além de caracterizar alguns nutricionistas que prescrevem fitoterápicos, revelou as condições clínicas associadas

a essas recomendações, bem como desvelou os sentimentos de alguns profissionais diante dessa atividade.

REFERÊNCIAS

ALVES, Flávia Neves Rocha, **Desafios para o desenvolvimento de fitomedicamentos no Brasil no contexto da indústria farmacêutica**. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca; 2004.

ARAÚJO, Melvina Afra Mendes. **Das ervas medicinais à fitoterapia**. Ateliê Editorial, 2002.

BRAGANÇA, L. A. R. **Plantas medicinais antidiabéticas: uma abordagem multidisciplinar**. Niterói: EDUFF, v. 278, 1996.

BRASIL. **Conselho Federal de Nutricionistas**. Resolução CFN nº 402 de 2007. Regulamenta a prescrição fitoterápica pelo nutricionista de plantas in natura frescas, ou como droga vegetal nas suas diferentes formas farmacêuticas, e dá outras providências. Brasília, DF.

BRASIL, **CONASS. Conselho Nacional de Secretários de Saúde**. Atenção Primária–Seminário do CONASS para construção de Consensos, CONASS Documenta, v. 2, 2007.

BRASIL. **Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo**. Departamento de Apoio Técnico e Educação Permanente. Comissão Assessora de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Plantas Medicinais e Fitoterápicos. / Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo. – São Paulo: Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo, 2019. 4^a edição.

BRASIL. Ministério da saúde. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. **Momento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira**. 1 ed, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Instrução Normativa– IN Nº 5, de 11 de dezembro de 2008. Determina a publicação da “lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado”. **Diário Oficial da União** nº 242, Brasília, 12 de dezembro de 2008 (p.56 a 58).

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009. p.57.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 87, de 21 de novembro de 2008. Altera o Regulamento Técnico sobre as Boas Práticas de Manipulação em Farmácias. Brasília: **Diário Oficial da União**; 2008. p.22.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009. p. 26.

BRASIL. Conselho Federal de Nutricionistas. Resolução N° 556, de 11 de abril de 2015. Altera as Resoluções nº 416, de 2008, e nº 525, de 2013, e acrescenta disposições à regulamentação da prática da Fitoterapia para o nutricionista como complemento da prescrição dietética. Brasília: **Diário Oficial da União**; 2015.

BUENO, M. J. A. (Coord.) **Manual de plantas medicinais e fitoterápicos utilizados na cicatrização**

de feridas / coordenação de Maria José Adami Bueno; colaboração de Beatriz Bertolaccini Martinez e Jospe Carlos Bueno. Pouso Alegre: Univás, 2016.

CAPASSO, Raffaele et al. Phytotherapy and quality of herbal medicines. **Fitoterapia**, v. 71, p. S58-S65, 2000.

CONSELHO FEDERAL DE NUTRICIONISTAS (CFN). **Resolução CFN nº 402** de 6 de agosto de 2007. Disponível em: <http://www.cfn.org.br/novosite/pdf/res/2007/res402.pdf>. Acesso em 21 de Set. de 2019.

CONSELHO FEDERAL DE NUTRICIONISTAS. **RESOLUÇÃO CFN Nº 402/2007**. Regulamenta a prescrição fitoterápica pelo nutricionista de plantas in natura frescas, ou como droga vegetal nas suas diferentes formas farmacêuticas, e dá outras providências. Diário Oficial da União, 06 de agosto de 2007.

CONSELHO FEDERAL DE NUTRICIONISTAS. **Resolução CFN nº 525/2013**: Regulamenta a Pratica da Fitoterapia pelo Nutricionista, atribuindo-lhe competência para, nas modalidades que especifica, prescrever plantas medicinais, drogas vegetais e fitoterápicos como complemento da prescrição dietética e, dá outras providências. 2013.

DI STASI, Luiz Cláudio. Plantas medicinais: arte e ciência. **Um guia de estudo interdisciplinar**- Editora da Universidade Estadual Paulista-São Paulo -SP, 1996. 230 p.

GOBBO-NETO, Leonardo; LOPES, Norberto P. **Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários**. Química nova, v. 30, n. 2, p. 374, 2007.

JANAU, Sur T.K., MAITY L.N., DEBNATH P.K., BHATTACHARYYA D. **A clinical study on the management of generalized anxiety disorder with Centella asiatica**. Nepal Med Coll J. 2010 Mar;12(1):8-11. 18.

KALLUF, L. J. H. **A realidade da fitoterapia na prática do nutricionista**. CRN-3 Notícias, p. 36-7, 2007.

LORENZI, H.; MATOS, Francisco. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. 2 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.

MAHAN, L. Kathleen; ESCOTT-STUMP, Sylvia. **Krause, alimentos, nutrição & dietoterapia**. editora roca, 2005.

MARCHESE, José Abramo; FIGUEIRA, Glyn Mara. O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 7, n. 3, p. 86-96, 2005.

OLIVEIRA, D. M. S.; LUCENA, E. M. P. O uso de plantas medicinais por moradores de Quixadá-Ceará. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 3, p. 407– 412, 2015.

PONTES, Rossana Michelli F. de; MONTEIRO, Pedro Sadi; RODRIGUES, Maria Cristina Soares. O uso da fitoterapia no cuidado de crianças atendidas em um centro de saúde do Distrito Federal. **Comun. ciênc. saúde**, p. 129-139, 2007.

RIBEIRO Bruning, Maria Cecilia Ribeiro; MOSEGUI, Gabriela Bittencourt Gonzalez; VIANNA, Cid Manso de Melo. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu-Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência & saúde coletiva**, v. 17, p. 2675-2685, 2012.

ROSA, C. D., CARLOTTO M.S. Síndrome de Burnout e satisfação no trabalho em profissionais de uma instituição hospitalar. **Rev SBPH**, 2005. Disponível em: <http://pepsic.bvsalud.org/pdf/rsbph/v8n2/>

ROSSATO, Angela Erna et al. Fitoterapia racional: aspectos taxonômicos, agroecológicos, etnobotânicos e terapêuticos. 2012.

SRIVASTAVA, Janmejai K.; SHANKAR, Eswar; GUPTA, Sanjay. Chamomile: A herbal medicine of the past with a bright future. **Molecular medicine reports**, v. 3, n. 6, p. 895-901, 2010.

UYEDA M. Hibisco e o processo de emagrecimento: uma revisão da literatura. **Revista saúde em foco**, Teresina, Edição nº: 07/Ano: 2015.

YPIRANGA, Lúcia. Delimitação do objeto de trabalho do nutricionista: subsídios para uma discussão. **Saúde debate**, n. 29, p. 62-9, 1990.

POTENCIAL INSETICIDA E REPELÊNCIA PARA ALIMENTAÇÃO DE *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) SOBRE *Chinavia impicticornis* (STÅL, 1872) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 22/12/2019

Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/4149471626819738>

Daniela Gaspardo Folquitto

Faculdades Integradas dos Campos Gerais
(CESCAGE)

Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/4317810224498089>

Adalci Leite Torres

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/1415327946551430>

Vitoldo Antonio Kozlowski Junior

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/4882769728391824>

Jane Manfron Budel

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/8072139191011151>

Lorene Armstrong

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/8526235808552652>

Vanessa Lima Gonçalves Torres

Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/5904092305175226>

Rosi Zanoni da Silva

Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/2210163097389379>

Camila Dias Machado

Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/7696567107383783>

Juliane Nadal Dias Swiech

Centro Universitário de Maringá (UNICESUMAR)
Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/5384970359322174>

Traudi Klein

Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/5859181907194146>

Luciane Mendes Monteiro

Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – PR

<http://lattes.cnpq.br/8503379540908380>

Wagner Alexander Groenwold

Universidade Estadual de Ponta Grossa

RESUMO: Dentro da cultura da soja, a espécie *Chinavia impicticornis* (Hemiptera: Pentatomidae) é uma praga de grande importância no Brasil. Dentro das medidas de controle de pragas utilizadas para plantas

cultivadas, o controle químico é a principal. Várias medidas são propostas para reduzir o uso indiscriminado de inseticidas, sendo uma delas uso de plantas com caráter inseticida. A aroeira-salsa, *Schinus molle* L. (Anacardiaceae), é uma árvore estudada quimicamente por seus compostos apresentarem várias propriedades médicas e inseticidas. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de *S. molle* na mortalidade e preferência para alimentação de ninfas de 4º instar de *C. impicticornis* com o extrato alcoólico e hidroalcoólico a 70% das folhas de *S. molle*. Nas condições avaliadas, os resultados mostraram que os extratos hidroalcoólico e alcoólico de *S. molle* a 5% causaram baixa mortalidade em ninfas de 4º instar de *C. impicticornis* quando contaminados via tarsal e tópica. Houve não preferência para alimentação das ninfas de percevejos por vagens de feijão tratadas com ambos os extratos de *S. molle*. Concluiu-se que *S. molle* possui propriedades de repelência para a alimentação de *C. impicticornis*, porém, com baixo potencial para mortalidade de ninfas de 4º instar por contaminação tarsal ou tópica.

PALAVRAS-CHAVE: *Chinavia impicticornis*, *Schinus molle*, atividade inseticida .

INSECTICIDAL POTENTIAL AND FEEDING REPELLENCY OF *SCHINUS MOLLE* L. (ANACARDIACEAE) ON *CHINAVIA IMPICTICORNIS* (STÅL, 1872) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

ABSTRACT: Within the soybean culture, the species *Chinavia impicticornis* (Hemiptera: Pentatomidae) is a pest of great importance in Brazil. Several measures are proposed to reduce the indiscriminate use of insecticides, one of them being the use of insecticidal plants. Aromatic parsley, *Schinus molle* L. (Anacardiaceae), is a tree chemically studied for its compounds with various medical and insecticidal properties. The objective of this study was to evaluate the effect of *S. molle* on mortality and feeding preference of *C. impicticornis* 4th instar nymphs with alcoholic and hydroalcoholic extract at 70% of *S. molle* leaves. In the evaluated conditions, the results showed that the 5% *S. molle* hydroalcoholic and alcoholic extracts caused low mortality in *C. impicticornis* 4th instar nymphs when contaminated via tarsal and topical. There was no preference for the feeding of bed bug nymphs by bean pods treated with both extracts of *S. molle*. It was concluded that *S. molle* has repellent properties for *C. impicticornis* feeding, but with low potential for mortality of 4th instar nymphs by tarsal or topical contamination.

KEYWORDS: *Chinavia impicticornis*, *Schinus molle*, insecticide activity

1 | INTRODUÇÃO

Segundo França, et al. (1985), o controle químico é a principal forma de controle de pragas em plantas cultivadas, isso se deve a sua eficácia e facilidade de utilização. Porém, o controle de pragas com o uso de produtos derivados da

indústria química tem sido colocado em dúvida, devido aos malefícios causados pelo uso indiscriminado dos mesmos, como poluição da água e do ar, aumento da resistência de pragas e contaminação de alimentos; por isso aumentou-se o interesse por métodos alternativos de controle, como o uso de extratos de plantas ou produtos naturais de origem vegetal (OLIVEIRA, 2013).

Os efeitos dos inseticidas botânicos são variados, podendo causar tanto a morte quanto esterilidade ou repelência, podendo ainda modificar seu comportamento, desenvolvimento ou reduzir a alimentação (MOREIRA, 2016).

Dentro das pragas que causam problemas na cultura da soja no Brasil, *Chinavia impicticornis* é um inseto de grande importância econômica devido aos seus danos causados às plantações, e para um controle efetivo do mesmo é importante o uso de diversas formas de controle que visem reduzir o número de aplicações, bem como técnicas que prolonguem a vida útil de produtos disponíveis no mercado (CASTELO BRANCO; FRANÇA, 2000).

Em face às informações, são necessários estudos para a descoberta de substâncias que possam auxiliar a produção agrícola. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de extratos de *Schinus molle* na mortalidade de ninfas de 4º instar de *C. impicticornis* através de contaminação tarsal e tópica, assim como o seu potencial de repelência para alimentação.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Identificação da espécie

A espécie *Chinavia impicticornis* utilizada nessa pesquisa foi identificada por Ribeiro (2013), através da chave pictória proposta por Schwertner; Grazia (2007) e confirmada pelo Dr. Cristiano F. Schwertner da UNIFESP (Universidade Federal de São Paulo) por taxonomia.

Criação massal

Os percevejos utilizados no experimento foram obtidos da criação massal mantida no Labortatório de Entomologia Agrícola (LEA), pertencente à Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa – PR. A criação foi mantida na sala de criação do LEA, em temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 horas. Os percevejos adultos foram mantidos em gaiolas de acrílico com as laterais e tampa cobertas com tela de nylon, para permitir a livre circulação do ar. A alimentação dos percevejos foi constituída de feijão vagem e soja, esta depositada em uma placa de petri, enquanto a outra apenas colocada dentro da gaiola; foi depositada também na gaiola uma placa de petri contendo algodão embebido de água destilada.

Os ovos resultantes da cópula entre machos e fêmeas foram coletados e acondicionados em gerbox até que as ninfas eclossem e atingissem o quarto ínstar, quando foram transferidas para gaiolas de acrílico até chegarem à fase adulta. Quando adultos, foram transferidos para outra gaiola de acrílico para reprodução e consequente manutenção da criação.

Coleta e preparo dos Extratos

As folhas de *S. molle* L. (Anacardiaceae) foram coletadas no Horto Medicinal do curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) (latitude 25°5'23" S e longitude 50°6'23" W) Brasil, em março de 2017. O material contendo inflorescências foi identificado por um taxonomista e depositado no Herbário da UEPG, sob os números de registro 20048, 22240 e 22239. O acesso ao material botânico foi registrado pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob número AD57C57, como requer a Legislação Brasileira.

Os extratos foram preparados por turbólise, seguido de maceração, filtrados, concentrados em rotaevaporador e diluídos em água destilada a 5% (p/v).

Bioensaios

A pesquisa foi constituída de dois bioensaios: no bioensaio 1 foi feita a avaliação da mortalidade de ninfas de 4º instar por contaminação tarsal e tópica por extratos alcoólicos e hidroalcoólicos de folha de *S. molle*; já no bioensaio 2 onde foram testados a preferência por alimentação de ninfas de 4º instar de *C. impicticornis* em vagens de feijão tratadas com os extratos alcoólicos e hidroalcoólicos de folha de *S. molle*. Para os bioensaios foram utilizadas cubas de vidro com as dimensões de 8 cm de largura, 14 cm de comprimento e 5,5 cm de altura. As cubas foram fechadas com uma tampa de poliestireno, presas com um elástico para evitar a fuga dos percevejos. Para cada tratamento foram utilizadas 8 cubas com 10 percevejos de 4º instar em cada cuba, totalizando 80 percevejos por tratamento repetidos quatro vezes.

No bioensaio 1, os tratamentos foram constituídos de dois extratos de folhas de *S. molle* a 5% de concentração aplicados de duas formas visando a contaminação tarsal quando aplicado nas paredes da cuba e a contaminação por contato quando contaminação por aplicação tópica de 2 μ L no dorso do inseto.

Para o teste de contaminação tarsal, 4 cubas foram tratadas com o extrato alcoólico de folhas de *S. molle* a 5% e outras 4 com o extrato hidroalcoólico a 5% e posteriormente colocadas para secagem da calda por 20 horas em capela, sendo a testemunha tratada apenas com água destilada.

No teste de contaminação por contato com aplicação tópica, 10 ninfas de 4º

instar receberam cada uma 2 μ L de extratos alcoólicos ou hidroalcoólicos a 5% de concentração depositados no dorso do inseto e posteriormente colocados nas suas respectivas cubas. Para constituir a testemunha, 10 ninfas receberam 2 μ L de água deionizada no dorso individualmente. Nas cubas de cada tratamento, foi disponibilizado água para os insetos através de um eppendorf contendo algodão umedecido e uma vagem de feijão-vagem para a sua alimentação. A avaliação da mortalidade foi feita a cada 12 horas no primeiro dia e a cada 24 horas nos próximos 11 dias.

Para avaliar a preferência para alimentação (bioensaio 2), metade de uma vagem verde de feijão foi tratada, cada uma com seu respectivo extrato vegetal através de um borrifador e a outra metade tratada com água deionizada, ambas dispostas em sentidos opostos em cada extremidade da cuba de vidro, que continha marcação para identificação dos tratamentos das vagens. Posteriormente, 10 percevejos de 4º instar foram dispostos no centro da cuba e então observados seu comportamento para alimentação em livre escolha. Para a testemunha, as cubas foram montadas exatamente iguais aos demais tratamentos, porém, ambos os fragmentos de vagem foram tratados apenas com água deionizada. As avaliações foram feitas a cada 1 hora no primeiro dia, 2 horas no segundo dia foi, a cada 12 horas no terceiro e quarto dia e posteriormente a cada 24 horas.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos inteiramente casualizados com 4 repetições. Os dados foram tabulados e as médias submetidas à análise de variância e a diferença entre as médias, quando significativas, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade através do programa Assistat versão 7.7.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas condições avaliadas, os resultados mostraram que os extratos hidroalcoólicos e alcoólicos de *S. molle* a 5% causaram baixa mortalidade em ninfas de 4º instar de *C. impicticornis* quando contaminados via tarsal e tópica (Figura 1), sendo a aplicação tópica do extrato alcoólico a 5% a que proporcionou a maior mortalidade (37,5%). Isso indica que *S. molle* possui compostos bioativos que dependem do método de extração e apesar de sua baixa mortalidade, não se deve descartar a possibilidade de estudos fitoquímicos visando uma maior eficiência de suas substâncias no efeito deletério para ninfas de *C. impicticornis*.

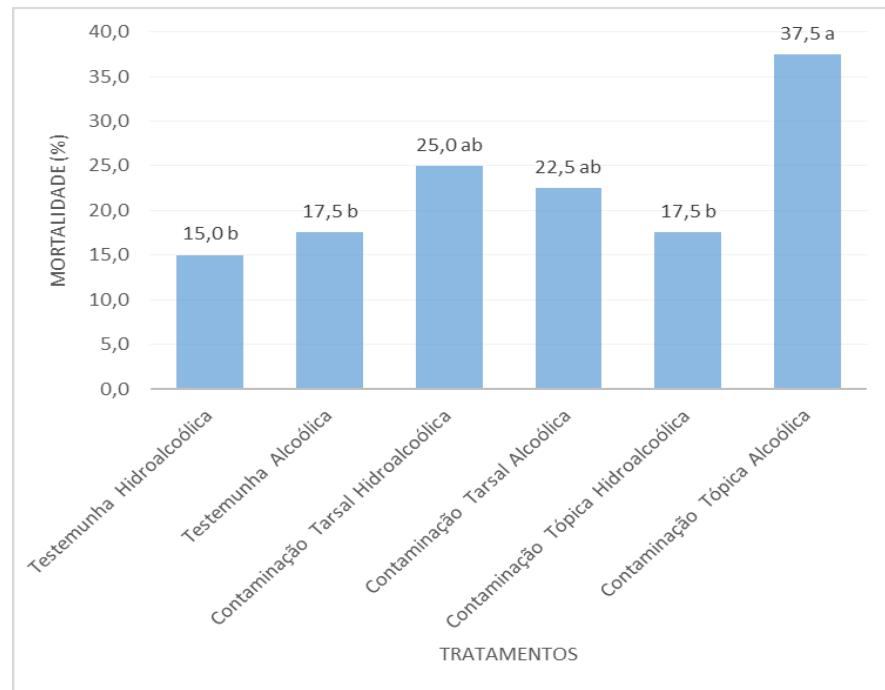


Figura 1 – Média de mortalidade (%) de ninfas de 4º instar de *C. impicticornis* contaminadas dorsal e tarsalmente por extratos hidroalcoólico e alcoólico de *S. molle*.

Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Observando a mortalidade cumulativa (Figura 2), pode-se observar que não houve mortalidade significativa entre os extratos e a testemunha nas primeiras 216 horas após o tratamento das ninfas. Apenas o extrato alcoólico por contaminação tópica evidencia mortalidade significativa após as 216 horas após o tratamento. Esse fato evidencia que este extrato não causa toxicidade aguda, porém pode desfavorecer o inseto fazendo com que seu custo energético seja afetado ocasionando redução em sua longevidade. Esse fato pode ser reforçado quando se observa o comportamento do inseto na Figura 4 em que os extratos alcoólicos de *S. molle* inibem a alimentação de ninfas de 4º instar de *C. impicticornis*. A inibição da alimentação pode reduzir a longevidade do percevejo por este reduzir acúmulo de reservas energéticas.

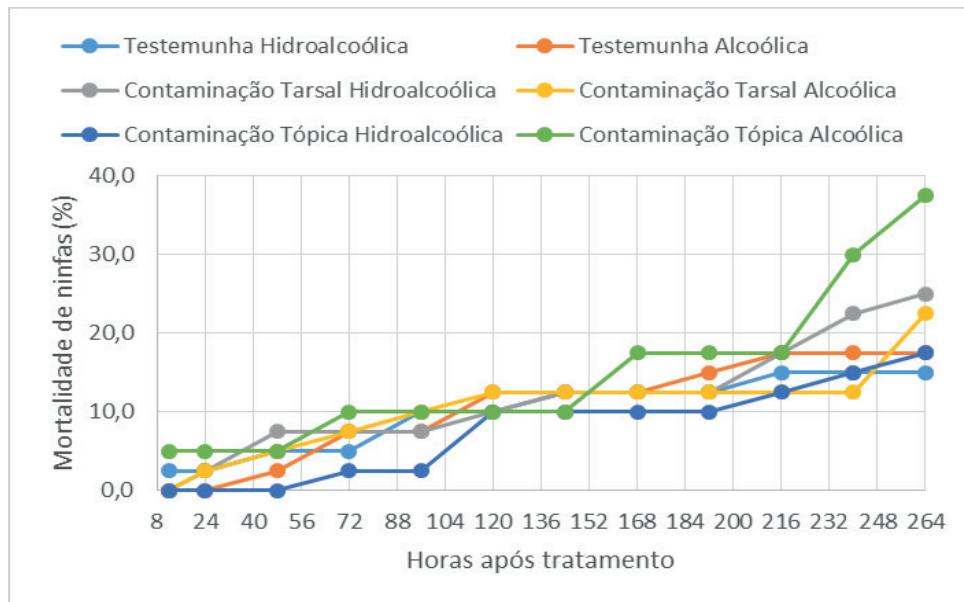


Figura 2 - Mortalidade cumulativa (%) de ninfas de 4º instar de *C. impicticornis* contaminadas dorsal e tarsalmente por extratos hidroalcoólico e alcoólico de folhas a 5% de *S. molle*.

Para a análise da avaliação da preferência para alimentação, pode-se observar as Figuras 3, 4 e 5 abaixo. Houve não preferência para alimentação das ninfas de percevejos por vagens de feijão-vagem tratadas com ambos os extratos de *S. molle* (Figuras 3 e 4), pois como observado na Figura 5 referente à testemunha, não ocorre um padrão no comportamento das ninfas de 4º instar de *C. impicticornis* quanto à frequência nas vagens tratadas apenas com água deionizada. Já para os extratos, nota-se claramente que as ninfas de *C. impicticornis* preferem frequentar áreas em que os alimentos não estejam contaminados pelos extratos. A repelência aqui constatada, condiz com ISMAN (2006), que relata que a atividade mais comum de óleos essenciais e de seus componentes é a repelência.

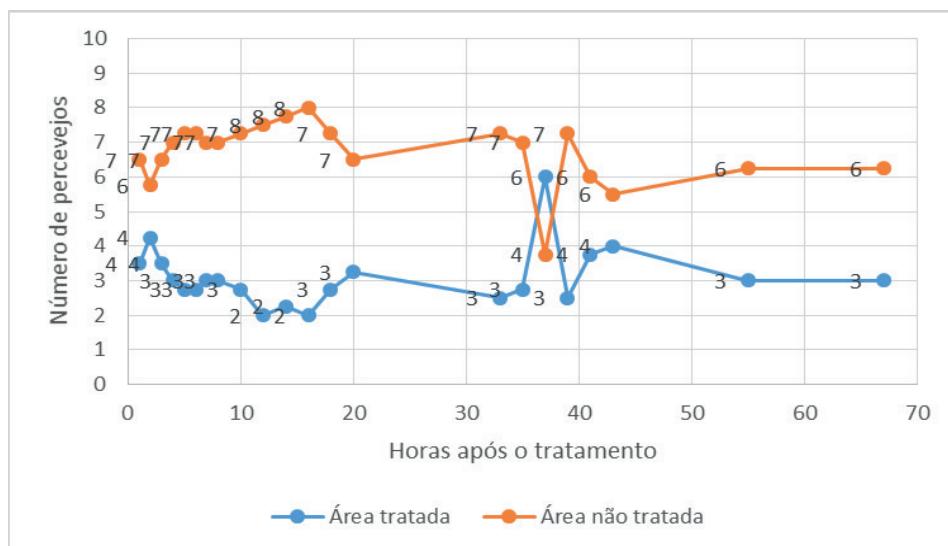


Figura 3- Número de ninfas de 4º instar do percevejo *C. impicticornis* em alimento tratado e não tratado com extrato hidroalcoólico de folhas de *S. molle*.

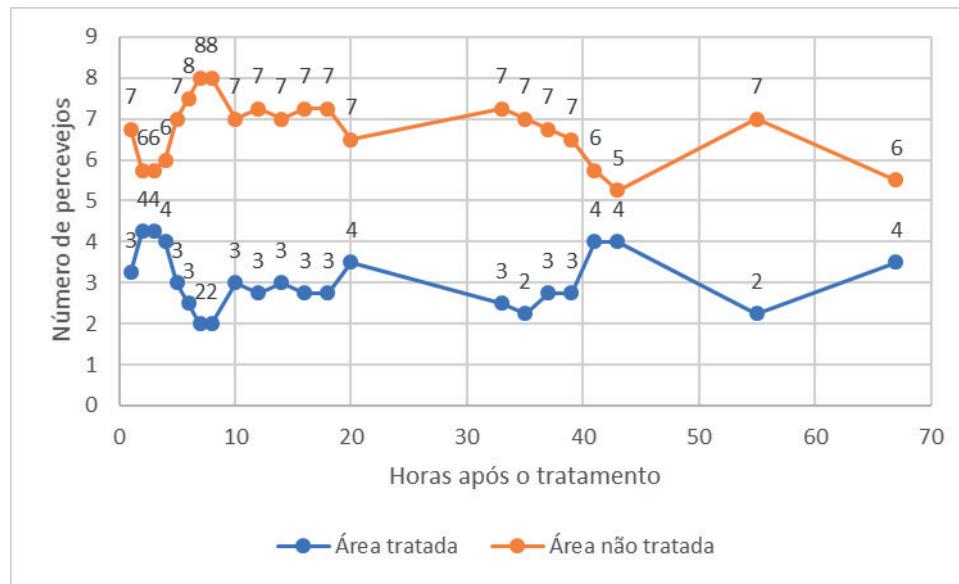


Figura 4– Número de ninfas de 4º instar do percevejo *C. impicticornis* em alimento tratado e não tratado com extrato Alcoólico de folhas de *S. molle*

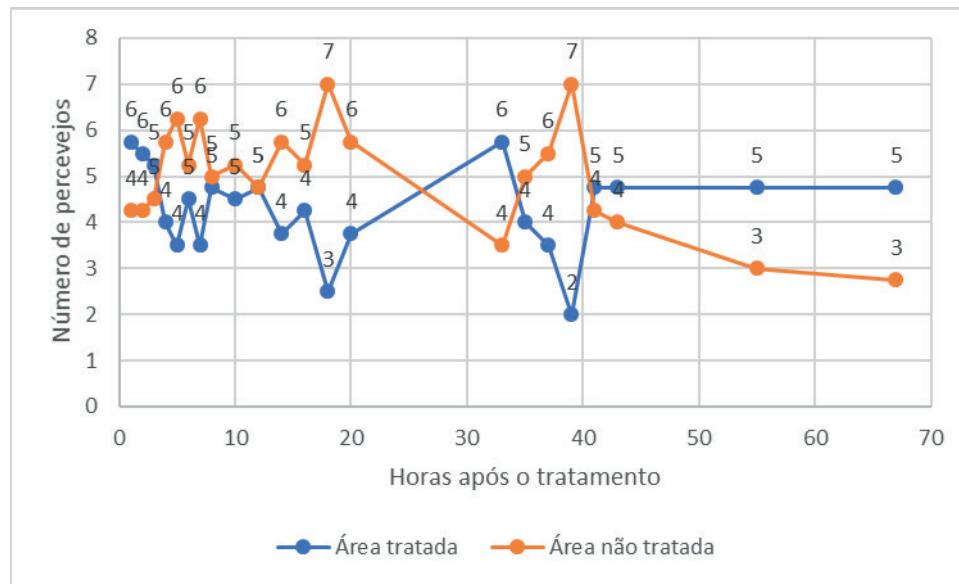


Figura 5- Número de ninfas de 4º instar do percevejo *C. impicticornis* em alimento tratado com água deionizada (Testemunha).

Segundo Dequech (2010), a não preferência é interessante do ponto de vista que a cultura cultivada seria menos atacada pela praga e que não ocorreria danos aos inimigos naturais.

Neste sentido, os resultados desta pesquisa indicam que *S. molle* possui propriedades que se enquadram em alternativas para o manejo de *C. impicticornis*. Novos estudos, principalmente fitoquímicos e seus efeitos biológicos, são recomendados para *S. molle* visando uma avaliação mais profunda no potencial desta planta para o manejo de pragas.

4 | CONCLUSÃO

Conclui-se que *S. molle* possui propriedades repelentes para a alimentação de *C. impicticornis* em feijão vagem, porém, com baixo potencial para mortalidade de ninfas de 4º instar por contaminação tarsal ou tópica. No entanto, enfatiza-se a importância de se realizarem mais estudos para se avaliar o efeito de *S. molle* sobre as pragas e seu comportamento em campo.

REFERÊNCIAS

- CAMPOS, L.C.A; CASTELO BRANCO, M.; JUNQUEIRA, A.M.R. **Suscetibilidade de três populações de traça – das – crucíferas a *Bacillus thuringiensis*.** Horticultura Brasileira, v.15, p. 40-42, 1997.
- CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F.H. **Previsão da eficiência de inseticidas para o controle da traça-das-crucíferas através do uso de doses discriminantes.** Embrapa Hortaliças, Brasília. (Boletim de Pesquisa 2 da Embrapa Hortaliças). 2000.
- CAVALCANTE, Giani Maria; MOREIRA, Alberto Fábio Carrano; VASCONCELOS, Simão Dias. **Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 41, n. 1, p. 09-14, 2006.
- CHEN, C., S. CHANG, L. CHENG; R.F. HOU. **Deterrent effect of the chinaberry extract on oviposition of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae).** Journal Applied Entomology, v.120, p.165-169. 1986
- FRANÇA, F. H.; CORDEIRO, C.M.T.; GIORDANO, L. DE B.; RESENDE A. M. **Controle da traça das crucíferas em repolho.** Horticultura Brasileira, v.3, p.50-51. 1985.
- ISMAN, M. B. **Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world.** Annual Review of Entomology, Palo Alto, v. 51, p. 45-66. 2006.
- MOREIRA, Márcio Dionízio et al. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. **Controle alternativo de pragas e doenças.** Viçosa: EPAMIG/CTZM, p. 89-120, 2006.
- OLIVEIRA, JULIANA MARIA. **Potencial de extratos vegetais no controle de *Polyphagotarsonemus latus*, *Tetranychus urticae* e *Myzus persicae*.** Viçosa, 1996. 57p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa. 2013.
- VILLAS BOAS, G. L.; CASTELO BRANCO, M.; GUIMARÃES, A. L. **Controle Químico da traça das crucíferas em repolho do Distrito Federal.** Horticultura Brasileira, v.8, p.10-11, 1990.

RISCOS DE ALIMENTOS GENETICAMENTE MODIFICADOS PARA O MEIO AMBIENTE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DE LITERATURA

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 03/12/2019

Isadora Farinacio Camillo

Instituto Federal do Paraná

Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/1981511842392664>

Ana Vitória de Brito Heler

Instituto Federal do Paraná

Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/2352263206629923>

Dorine Marcelino de Santana

Instituto Federal do Paraná

Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/9605824045738962>

comparar e discutir as abordagens do tema no meio científico, a partir de artigos da Plataforma SciELO, de modo a informar a população, despertando seu interesse sobre este importante avanço da biotecnologia. Em conclusão, os alimentos geneticamente modificados apresentam sim riscos para o meio ambiente, porém para que haja dados experimentais mais concretos é preciso continuar as pesquisas sobre tão relevante tema.

PALAVRAS-CHAVE: Alimentos. Biotecnologia. Meio Ambiente. Modificação Genética. Riscos.

RISKS OF GENETICALLY MODIFIED FOOD
TO THE ENVIRONMENT: A SYSTEMATIC
LITERATURE REVIEW

ABSTRACT: It is notable the great influence of the genetic modification in nowadays society, especially modification of plants consumed as food. Considering this prominent theme, is it possible to affirm that this world know technology will bring some risk for the environment? Big part of world produced foods are genetically modified, and there are a lot of times that producers and consumers do not know the consequences of this cultivation. With this in mind, in this systematic literature review, we seek to list, compare and discuss the approaches of

RESUMO: É notável a grande influência da modificação genética sobre a sociedade atual, especialmente a modificação de plantas consumidas como alimento. Considerando este tema de destaque, será possível afirmar que essa tecnologia trará algum risco para o meio ambiente? Grande parte dos alimentos produzidos mundialmente são geneticamente modificados, e muitas vezes os produtores e consumidores não sabem as consequências desse cultivo. Tendo isto em vista, nesta revisão sistemática de literatura buscamos elencar,

the theme in the scientific society, we used articles from the SciELO Platform, arousing public interest in this important advance in biotechnology. In conclusion, the genetically modified foods do pose risks to the environment, however, in order to have more concrete experimental data, it is necessary to continue research on this theme.

KEYWORDS: Food, Biotechnology, Environment, Genetic Modification, Risks.

1 | INTRODUÇÃO

Organismos geneticamente modificados (OGMs) são um grande avanço científico possibilitado pela biotecnologia e pela engenharia genética.

OGMs são seres vivos que tiveram seu material genético modificado objetivando ora alterar uma ou mais de suas características ora inserir uma nova característica, podendo também ser chamados de transgênicos (CAMARA et al., 2009; FRANCESE; FOLGUERA, 2018).

Foram desenvolvidos por pesquisadores da universidade de Stanford, na Califórnia, em 1973, a partir da tecnologia do DNA recombinante, técnica esta que consiste na transferência de genes entre organismos, unindo a biologia molecular e a engenharia genética (ALVES, 2004; CAMARA et al., 2009).

Alimentos geneticamente modificados, ou seja, OGMs com fins alimentícios, passaram a ser consumidos na década de 1980, quando iniciou-se a produção em escala comercial, que vêm aumentando desde então (COSTA et al., 2007).

Por ser uma tecnologia recente, os efeitos que o cultivo de alimentos geneticamente modificados acarreta no meio ambiente geram muita discussão no meio científico, trazendo uma grande polêmica para a sociedade, já que mesmo com tanta importância as pessoas muitas vezes não sabem as consequências dessa produção, ou nem estão cientes de que consomem estes alimentos (FURNIVAL; PINHEIRO, 2008).

Tendo em vista a relevância deste assunto, nesta pesquisa buscamos compreender se a utilização desta tecnologia trará algum risco para o meio ambiente. Deste modo, objetivamos ampliar o conhecimento da população e despertar seu interesse sobre alimentos geneticamente modificados.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa consiste em uma revisão sistemática de literatura baseada no Manual de Publicação da American Psychological Association (2012) e em considerações feitas por Soares, Picolli e Casagrande (2018), os quais caracterizam uma revisão sistemática aquela que define um problema, analisa criticamente e relaciona os resultados de trabalhos já publicados com o tema proposto e propõe o

próximo passo para a resolução do problema previamente estabelecido.

Para tanto, foram realizadas quatro buscas na plataforma SciELO, a primeira com as expressões “riscos”, transgênicos” e “alimentos”; a segunda com as expressões “riscos”, “transgênicos” e “meio ambiente”; na terceira foram utilizadas “riscos”, “organismos geneticamente modificados” e “alimentos”; e por fim a quarta busca foi feita com as palavras “meio ambiente”, “organismos geneticamente modificados” e “alimentos”. Em seguida, a partir da leitura do resumo dos trabalhos encontrados, foram excluídos aqueles que não se enquadrassem na proposta da pesquisa, ou seja, que não tratasse do assunto “riscos de alimentos geneticamente modificados para o meio ambiente. Por fim, foi feita a revisão dos artigos selecionados.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

As buscas realizadas resultaram em 17 artigos, tendo alguns aparecido em mais de uma busca. Dentre os 17 artigos encontrados, 7 adequaram-se à proposta da pesquisa, e serão discutidos a seguir.

Para Lewgoy (2000), a utilização de plantas geneticamente modificadas na agricultura traz o risco da transferência de genes imprevista ou indesejada, tanto vertical (entre organismos modificados e não modificados da mesma espécie) quanto horizontal (entre organismos modificados e não modificados de espécies diferentes), risco também apontado por Nodari e Guerra (2000, 2001), Camara et al. (2009) e Ribeiro et al. (2017).

Segundo Nodari e Guerra (2000, 2001), Leite (2007) e Ribeiro et al. (2017), a transferência de genes acarreta na poluição genética e na hibridização de espécies, tanto modificadas como não modificadas.

Leite (2007) destaca a possibilidade do surgimento de ervas daninhas resistentes a herbicidas na lavoura, assim como Nodari e Guerra (2000, 2001), que classificam este fenômeno como uma seleção de pragas resistentes, justamente pela transferência de genes, argumento utilizado por Francese e Folguera (2018) em seus apontamentos.

Por meio da transferência genética, Nodari e Guerra (2000, 2001) ressaltam a perspectiva do surgimento de novos patógenos ou agentes tóxicos, o que pode contaminar os alimentos produzidos.

Danos para organismos não-alvo, como insetos que se alimentam das espécies modificadas, podem acontecer, de acordo com Nodari e Guerra (2000, 2001), argumento reforçado nos trabalhos de Leite (2007) e Ribeiro et al. (2017).

Francese e Folguera (2018) destaca a contaminação de águas e solos, o que traz problemas para a plantação agrícola, risco apresentado nas pesquisas de Nodari e Guerra (2000, 2001).

Segundo Nodari e Guerra (2000, 2001), a inserção de uma espécie modificada em um meio pode acarretar no deslocamento ou até eliminação de espécies que habitavam o local, caracterizado por Francese e Folguera (2018) como risco de perda de biodiversidade nos ecossistemas em que a espécie modificada foi inserida, que pode ser fundamentado justamente pela contaminação de águas e solo (NODARI; GUERRA, 2000, 2001, FRANCESE; FOLGUERA, 2018), bem como pelo surgimento de organismos patógenos ou agentes tóxicos (NODARI; GUERRA, 2000, 2001). Este fenômeno poderia enquadrar-se como uma forma de efeito adverso a uma espécie não-alvo, risco previsto por Nodari e Guerra (2000, 2001), Leite (2007) e Ribeiro et al. (2017).

Camara et al. (2009), porém, afirma que apesar de trazer benefícios, ainda há incerteza sobre os riscos da utilização de organismos geneticamente modificadas, já que não há muitos dados experimentais de pesquisas sobre o tema, já que é uma tecnologia recente.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os alimentos geneticamente modificados revolucionaram a maneira com que pensamos e as técnicas que utilizamos para sustentar a todos que vivem no planeta Terra. Esta tecnologia, além de benefícios, traz para o meio ambiente o risco de desequilíbrio do ecossistema no qual a variedade foi aplicada, bem como a possibilidade de efeitos adversos a espécies não-alvo, assim como a geração de variedades de plantas daninhas e novos patógenos ou agentes tóxicos a partir da transferência genética quando aplicada. Assim, concluímos que mesmo trazendo benefícios, há riscos ambientais que devem continuar sendo estudados de forma aprofundada e mais frequente, já que há poucos estudos experimentais atuais sobre o assunto, o que pode indicar uma diminuição no interesse dos pesquisadores.

REFERÊNCIAS

ALVES, G. S. A biotecnologia dos transgênicos: precaução é a palavra de ordem. **Holos**, ano 20, out. 2004.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Manual de publicação da APA: American Psychological Association**. Tradução: Daniel Bueno. 6.ed. Porto Alegre: Penso, 2012.

CAMARA, M. C. C.; MARINHO, C. L. C.; GUILAM, M. C. R.; NODARI, R. O. Transgênicos: avaliação da possível (in)segurança alimentar através da produção científica. **História, Ciências, Saúde-manguinhos**, [s.l.], v. 16, n. 3, p.669-681, set. 2009. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s0104-59702009000300006>>. Acesso em: 18 set. 2019.

COSTA, T. E. M. M., DIAS, A. P. M., SCHEIDEGGER, E. M. D., MARIM, V. A. Avaliação de risco dos organismos geneticamente modificados. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 16, n.

1, p.327-336, jan. 2011. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s1413-81232011000100035>>. Acesso em: 18 set. 2019.

FRANCESE, C. F.; FOLGUERA, G. Saberes simplificados, tecnociencia y omisión de riesgos. **Runa**, [s.l.], v. 39, n.2, p.5-27, dez. 2018.

FURNIVAL, A. C.; PINHEIRO, S. M. A percepção pública da informação sobre os potenciais riscos dos transgênicos na cadeia alimentar. **História, Ciências, Saúde-manguinhos**, [s.l.], v. 15, n. 2, p.277-291, jun. 2008. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: / / /, <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-59702008000200003>. Acesso em: 18 set. 2019.

LEITE, M. Arautos da razão: a paralisia no debate sobre transgênicos e meio ambiente. **Novos Estudos - Cebrap**, [s.l.], n. 78, p.41-47, jul. 2007. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s0101-33002007000200006>>. Acesso em: 18 set. 2019.

LEWGOY, F. A voz dos cientistas críticos. **História, Ciências, Saúde-manguinhos**, [s.l.], v. 7, n. 2, p.503-508, out. 2000. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s0104-59702000000300019>>. Acesso em: 18 set. 2019.

NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Implicações dos transgênicos na sustentabilidade ambiental e agrícola. **História, Ciências, Saúde-manguinhos**, [s.l.], v. 7, n. 2, p.481-491, out. 2000. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s0104-59702000000300016>>. Acesso em: 18 set. 2019.

NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Plantas transgênicas e seus produtos: impactos, riscos e segurança alimentar (Biossegurança de plantas transgênicas). **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 1, p.105-116, jan. 2003. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s1415-52732003000100011>>. Acesso em: 18 set. 2019.

RIBEIRO, M. I.; COUTO, C.; RIBEIRO, R.; SILVA, S. Perceção sobre o conhecimento e confiança dos consumidores nos produtos transgênicos. **Revista de Ciências Agrárias**, Bragança, v. 40, n. , p.266-273, 2017. Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.19084/rca16234>>. Acesso em: 18 set. 2019.

SOARES, S. V.; PICOLLI, I. R. A.; CASAGRANDE, J. L. Pesquisa Bibliográfica, Pesquisa Bibliométrica, Artigo de Revisão e Ensaio Teórico em Administração e Contabilidade. **Administração: Ensino e Pesquisa**, [s.l.], v. 19, n. 2, p.308-339, 1 maio 2018. ANGRAD. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.13058/raep.2018.v19n2.970>>. Acesso em: 18 set. 2019.

WATANABE, Y. **Alimentos transgênicos**. 2011. 30f. Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização em Genética) - Universidade Federal do Paraná, Votorantim, 2011.

OCORRÊNCIA DE BORBOLETAS FRUGÍVORAS (NYMPHALIDAE: LEPIDOPERA) EM FRAGMENTOS DE MATA ATLÂNTICA NA RESERVA BIOLÓGICA GUARIBAS, MAMANGUAPE-PB

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 10/12/2019

Janderson James Barbosa

Laboratório de Ecologia Aplicada e Conservação (LEAC), Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

João Pessoa, Paraíba

<http://lattes.cnpq.br/8192905363422796>

Rafael Petrucci Marques Pinto

Laboratório de Ecologia Comportamental e Psicobiologia (LECOPSI), Universidade Federal da Paraíba (UFPB). João Pessoa, Paraíba

<http://lattes.cnpq.br/5091649833685311>

David Lucas Amorim Lopes

Laboratório de Anatomia Vegetal (LAVEG), Universidade Federal da Paraíba (UFPB). João Pessoa, Paraíba

<http://lattes.cnpq.br/5091649833685311>

Afonso Henrique Leal

Núcleo de Gestão Integrada Mamanguape (NGI Mamanguape), Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio).

Mamanguape, Paraíba.

<http://lattes.cnpq.br/9933043207151023>

Getúlio Luis de Freitas

Reserva Biológica Guaribas (REBIO Guaribas), Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). Mamanguape, Paraíba.

<http://lattes.cnpq.br/6387322704004619>

RESUMO: A ordem Lepidoptera é composta por 13% de espécies de borboleta e apresenta 3.288 espécies no Brasil, ocorrendo em grande abundância no bioma brasileiro Mata Atlântica. Neste bioma categorizado como floresta tropical com alto índice de biodiversidade, é possível realizar atividades de monitoramento de várias espécies que, neste trabalho, há ênfase nos lepidópteros, que são de fácil execução de amostragem por apresentarem grande riqueza de espécies e ciclo de vida curto. O presente estudo teve como objetivo caracterizar a comunidade de borboletas frugívoras da Reserva Biológica (REBIO) Guaribas. Para a coleta de dados, foram dispostas 4 séries de armadilhas espaçadas por 500m e realizou-se 4 revisões com intervalo de 48hs entre elas. As iscas foram feitas com bananas maceradas e caldo de cana, que fermentaram por cerca de 48hs. Sabendo que as borboletas frugívoras (as quais consomem frutas fermentadas e excretas de plantas) são de fácil captura em armadilhas com iscas, foi observado que a subfamília Satyrinae foi a mais evidenciada na ocorrência, devido a região neotropical encarregada pela maior riqueza de satiríneos no mundo e sua disposição homogênea.

PALAVRAS-CHAVE: Mata Atlântica; Monitoramento; Biodiversidade; Borboletas

OCCURRENCE OF FRUIT FEEDING-BUTTERFILES (LEPIDOPTERA: NIMPHALIDAE) IN ATLANTIC FOREST FRAGMENTS IN THE GUARIBAS BIOLOGICAL RESERVE, MAMANGUAPE-PB

ABSTRACT: The order Lepidoptera is composed of 13% butterfly species and has 3,288 species in Brazil, occurring in great abundance in the Brazilian Atlantic Forest biome. This biome is categorized as a tropical forest with a high biodiversity index, and it is possible to carry out monitoring activities of several species. In this study, emphasize the Lepidoptera, which are easy to perform sampling because they have great species richness and a short life cycle. The present study aimed to characterize the community of fruit-feeding butterflies of Guaribas Biological Reserve. As sampling method, we set up 4 sets of 500m spaced traps were arranged and 4 revisions were made with 48h intervals between them. The baits were made with macerated bananas and sugarcane juice, which fermented for about 48 hours. Knowing that frugivorous butterflies (which consume fermented fruit and plant excreta) are easy to catch in baited traps, it was observed that the subfamilie Satyrinae were the most evident in the occurrence, due to the neotropical region responsible for the largest richness of Satyrini in the world and its homogeneous disposition.

KEYWORDS: Atlantic Forest; Monitoring; Biodiversity; Frugivorous Butterflies.

1 | INTRODUÇÃO

Distribuída ao longo da costa leste, sudeste e sul do Brasil e sendo um bioma de floresta tropical, a Mata Atlântica expõe agregações de ecossistemas florestais muito variáveis e com grandes alternâncias na pluviosidade e no relevo geográfico, somado a diferenciadas organizações florísticas. Tais fatores proporcionam a grande biodiversidade encontrada nesse local (PINTO *et al.*, 1997; OLIVEIRA-FILHO; FONTES, 2000; SILVA; CASTELETI, 2003;).

Regiões geográficas possuem assimétricos arranjos de espécies, proporcionados por abundância de recursos, competição e características físicas. A utilização dos recursos irá resultar em diferentes composições das populações - as espécies que recorrem a recursos restritos podem restringir sua distribuição a determinados locais de uma região. Já espécies que usam recursos diversos tendem a atingir uma maior variedade de áreas, resultando numa maior densidade (BROWN, 1984).

As borboletas equivalem a 13% de um total de 146.000 espécies da ordem Lepidoptera no mundo, sendo encontradas no Brasil 3.288 espécies. As quais são

divididas em seis famílias: Hesperiidae, Lycaenidae, Nymphalidae, Papilionidae, Pieridae e Riodinidae (BROWN JR.; FREITAS, 1999). Essa ordem é caracterizada por ser identificada em variados habitats, manifestando uma gama de interações ecológicas com outros organismos, servindo como biomassa alimentar em vários níveis tróficos superiores.

Além disso, apresentam desenvolvimento holometábolo, emergindo do ovo uma lagarta, a qual sofrerá modificações morfofisiológicas, formando a pupa - estágio praticamente séssil - até o desenvolvimento da forma adulta. (FREITAS *et al.*, 2003; MACHADO *et al.*, 2010).

Partindo do hábito alimentar dos indivíduos adultos, as borboletas podem ser divididas em guildas. As nectarívoras, que se alimentam principalmente de néctar das flores, e as frugívoras, de frutas fermentadas, excrementos de plantas e animais em decomposição. Na família Nymphalidae, encontram-se todas as borboletas frugívoras, sendo distribuídas em quatro subfamílias: Satyrinae, Charaxinae, Biblidinae e Nymphalinae (tribo Coeini) (WAHLBERG *et al.*, 2009; LAMAS, 2004).

Os Lepidópteros são um grupo bastante familiarizado cientificamente, por serem de fácil identificação (MACHADO *et al.*, 2010), destacando as borboletas frugívoras, as quais são amplamente acessíveis a coletas em armadilhas com iscas. Portanto, são muito utilizadas em análises comparativas de amostragem (DEVRIES *et al.*, 1997).

Segundo o Programa Nacional de Monitoramento da Biodiversidade do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), essas atividades são de grande importância por possibilitarem que o pesquisador analise a longo prazo as alterações nas populações e/ou ecossistemas, bem como os resultados das práticas de conservação nos fragmentos estudados. Assim, o objetivo do presente estudo foi realizar um levantamento da biodiversidade das tribos de borboletas frugívoras encontradas na Reserva Biológica Guaribas (REBIO Guaribas).

2 | METODOLOGIA

2.1 Área de estudo

O presente estudo recebeu a autorização SISBIO nº 55008-1 e ocorreu na REBIO Guaribas (6° 43' 17" S e 35° 10' 4" W), uma unidade de conservação (UC) de proteção integral de gestão do ICMBio. A Reserva Biológica Guaribas localiza-se nos municípios de Mamanguape e Rio Tinto, no litoral norte da Paraíba. O bioma da região é Mata Atlântica e a UC é composta por um mosaico de florestas e em o solo arenoso apresenta formações savânicas. A área é formada por três áreas distintas, denominadas SEMA 1, 2 e 3, remanescentes de um intenso processo de

fragmentação e exploração. Foi fundada com o objetivo de reintrodução do primata que dá o seu nome, Guariba (*Alouatta belzebul*), que estava praticamente extinto na UC (ARRUDA, 2013).

2.2 Coleta de dados

A pesquisa foi realizada entre setembro e outubro de 2018 no maior fragmento da UC: SEMA 2 (Figura 1). Foi utilizada a Trilha do Inhão, que tem 2km de extensão, para situar as armadilhas dispostas a partir dos 100m até os 1600m. Foram dispostas 4 séries de armadilhas espaçadas por 500m, buscando interdependência de cada setor. Cada série era composta por 4 armadilhas com distância de 30m entre elas, exceto as que cruzavam a trilha, onde a distância dobrava para 60m (Figura 2). As armadilhas instaladas eram do tipo VanSomeren-Rydon (a 1m do solo) e consistem de tubos de 110 cm de altura x 35 cm de diâmetro feitos com tela, com um funil interno (30 cm de altura e 22 cm de largura na abertura) para evitar que as borboletas escapassesem.

O tubo foi anexado em acima de uma plataforma de poliestireno tereftalato, sobre a qual a isca foi colocada (adaptada de SHUEY, 1997), (Figura 3). Foram efetuadas 4 revisões com intervalo de 48hs entre elas. As iscas foram feitas com bananas maceradas e caldo de cana, que fermentaram por cerca de 48hs. Durante as coletas, as borboletas eram marcadas na asa anterior esquerda para que não fossem contabilizadas em futuras revisões (recaptura).

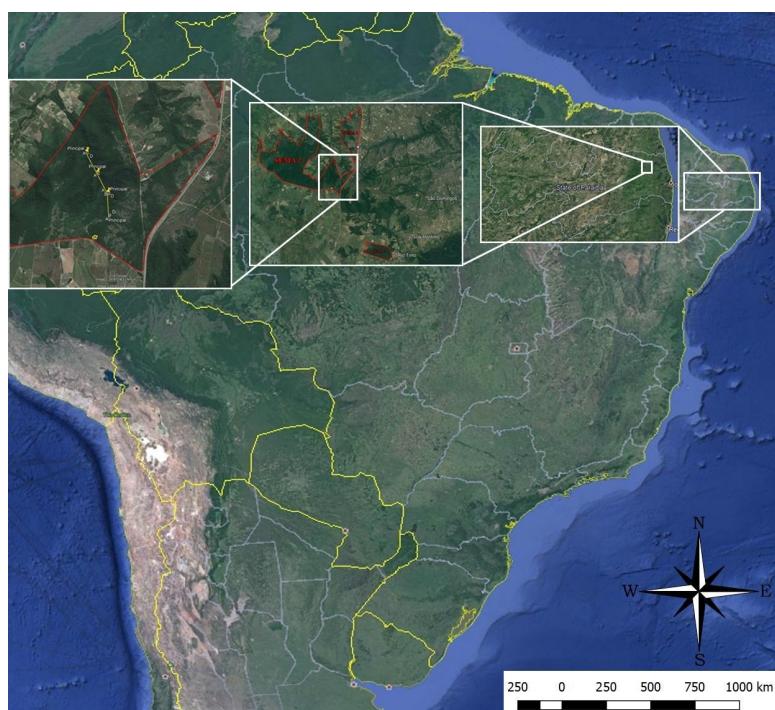


Figura 1: Imagem do Google Earth com destaque na região Nordeste do Brasil. Zoom na área do fragmento SEMA 2.

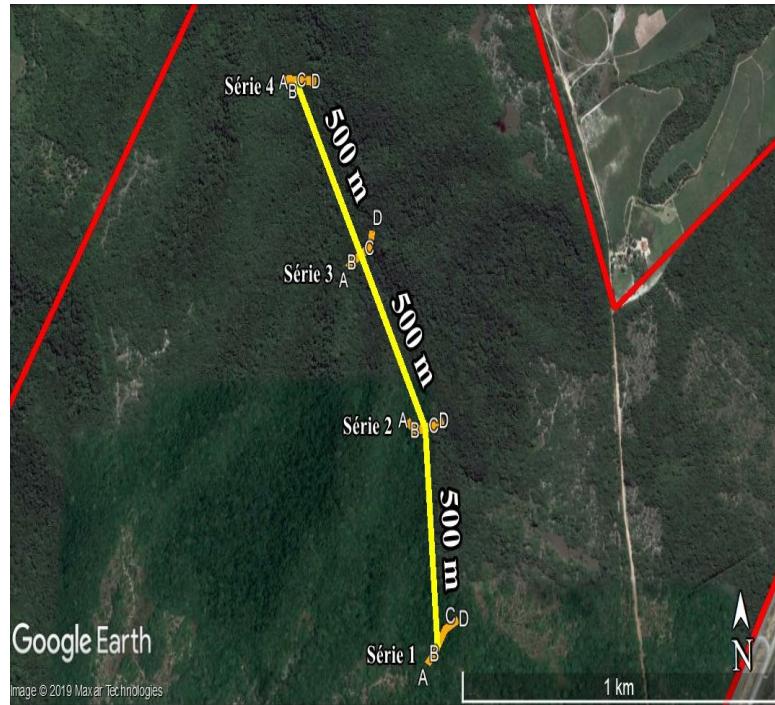


Figura 2: Imagem do Google Earth com destaque na região SEMA 2, evidenciando a trilha principal (trilha do Inhão, na vertical) e as trilhas secundárias (na horizontal) nas quais as armadilhas estão localizadas.



Figura 3: Armadilha do tipo VanSomeren-Rydon utilizada na coleta de dados.

2.3 Análise dos dados

Foram capturadas borboletas de 8 das 13 tribos descritas conforme o Guia de Identificação de Tribos de Borboletas Frugívoras cedido pelo Ministério do Meio Ambiente (Figura 4).



Figura 4: Guia de Identificação de Tribos de Borboletas Frugívoras.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi obtido o valor total de 266 indivíduos distribuídos nas séries de armadilhas.

Como mostrado no Quadro 1, é possível observar as diferenças de abundância entre as tribos. No Guia de Identificação de Tribos de Borboletas constam 13 tribos, no entanto, as tribos Biblidini, Callicorini, Epiphilini, Melanitini e Haeterini não foram capturadas durante a vigência do estudo. É possível que indivíduos dessas tribos não ocorram na SEMA 2 da REBIO Guaribas. A série 3 apresentou a maior quantidade de indivíduos capturados totalizando 105 espécimes. No que se refere à tribo com mais abundante, foi constatada a Satyrini com 84 indivíduos capturados.

Para demonstrar a variação de abundância entre as tribos, pode-se observar o Gráfico 1. Verificou-se no monitoramento que a maior abundância foi de indivíduos da tribo Satyrini, com 31,6%. Logo após, indivíduos da tribo Ageroniini, com 26,3%. A tribo com menos representatividade no estudo foi Epicaliini, com apenas 1,1%.

As tribos acima apresentadas, fazem parte de quatro subfamílias, sendo elas: subfamília Satyrinae (tribos Morphini, Brassolini, Satyrini), subfamília Nymphalinae (Coeini), subfamília Charaxinae (Anaeini e Preponini) e subfamília Biblidinae (Ageronini, Biblidini e Epicaliini).

Tribos	Série 1	Série 2	Série 3	Série 4	Total
Ageroniini	12	44	13	1	70
Anaeini	1	0	3	1	5
Brassolini	0	2	3	1	6
Coeini	4	10	28	3	45
Epicaliini	0	3	0	0	3
Morphini	4	3	17	8	32
Preponini	4	6	10	1	21
Satyrini	16	19	31	18	84
Total	41	87	105	33	266

Quadro 1: Número de indivíduos de acordo com série e tribo; total de indivíduos de cada série e tribo.

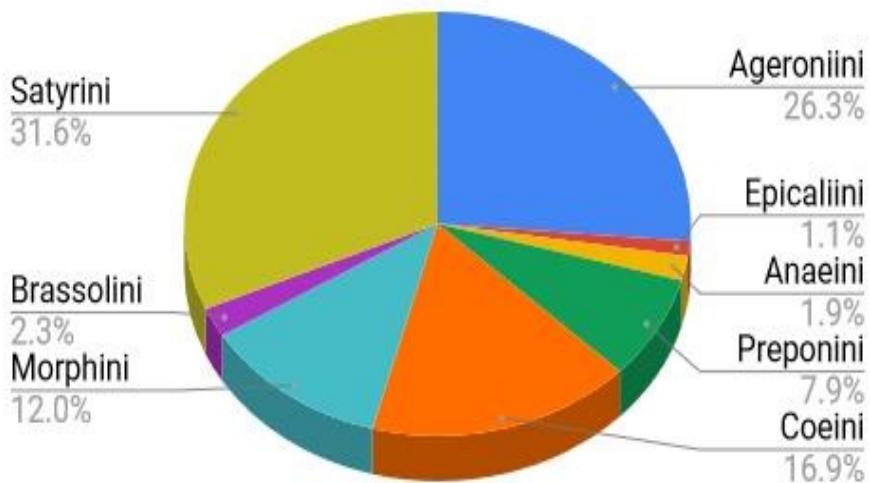


Gráfico 1: Porcentagem de indivíduos por tribo.

Como pode-se observar no Gráfico 2, a subfamília Satyrinae apresentou maior abundância de indivíduos (45.9%), seguida de Biblidinae (27.4%), Nymphalinae (16.9%) e Charaxinae (9.8%). Pode-se explicar o destaque em abundância de Satyrinae pelo fato de ser uma subfamília de alta biodiversidade e distribuição, consistindo em um terço de todas as espécies da família Nymphalidae (PEÑA; WAHLBERG, 2009). Além disso, a região neotropical encarregado pela maior riqueza de satiríneos no mundo (D'ABRERA, 1988).

Comparando com levantamentos de outros estudos realizados em diferentes regiões de Mata Atlântica no Brasil, em Floresta Ombrófila Mista no Rio Grande do Sul (Teston; Corseuil 2002, Iserhard *et al.* 2010), a subfamília encontrada em maior quantidade foi a Satyrinae em todos os estudos. Considera-se que sua notoriedade também esteja associada à disposição homogênea presente na maioria das espécies desse grupo (UEHARA-PRADO *et al.* 2005).

Na pesquisa de Iserhard *et al.* (2010) a segunda em ressalto foi a Biblidinae. Tal repercussão reforça o que foi mostrado nos dados obtidos neste estudo, em que a subfamília Biblidinae é a segunda mais numerosa, por conta da facilidade de coleta de indivíduos por rede entomológica devido ao porte dos indivíduos.

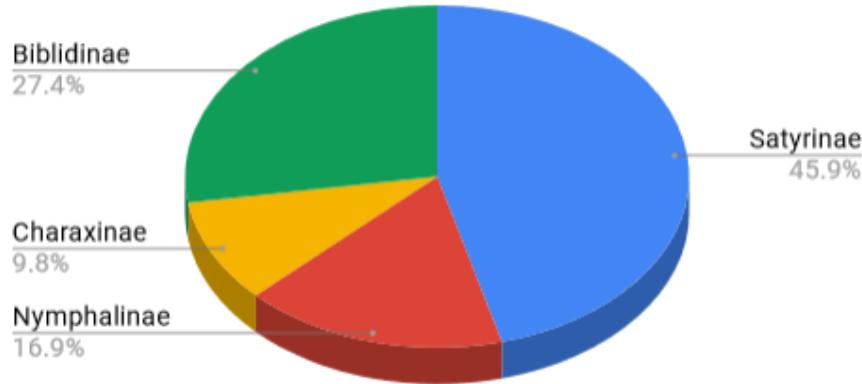


Gráfico 2: Porcentagem de indivíduos por Subfamília.

4 | CONCLUSÃO

Algumas tribos de borboletas mostradas no guia utilizado não ocorreram na área de estudo, somando um total de 5 das 13 tribos. Nota-se que a subfamília Satyrinae se sobressai em quantidade nos fragmentos amostrado. Vale salientar que a subfamília Biblidinae também é evidenciada como muito abundante, o que reforça os estudos já realizados sobre a diversidade de Lepidoptera, nos quais afirmam a facilidade da coleta por rede entomológica.

REFERÊNCIAS

- ARRUDA, D. B.; CUNHA, B. P.; RÊGO, K. M. C. CONFLITOS ENTRE REBIO GUARIBAS E COMUNIDADES LOCAIS: (in)justiça ambiental e ecologia política. **Revista Direitos Emergentes na Sociedade Global**, Santa Maria, RS, v. 2, n. 2, p. 280-304, jul. 2013.
- CORSO, G.; HERNÁNDEZ, M. I. M. Borboletas frugívoras da Mata Atlântica no Parque Estadual da Serra do Tabuleiro, Santa Catarina, Brasil. **Revista Biotemas**, v. 25, n. 4, p. 139-55148, 2012.
- D'ABRERA, Bernard. **Butterflies of the World: Nymphalidae (conc.) & Satyridae**. Hill House, 1988.
- DEVRIES, PHILIP J.; MURRAY, Debra; LANDE, Russell. Species diversity in vertical, horizontal, and temporal dimensions of a fruit-feeding butterfly community in an Ecuadorian rainforest. **Biological journal of the Linnean Society**, v. 62, n. 3, p. 343-364, 1997.
- FONSECA, GAB da; PINTO, Luiz P.; RYLANDS, A. B. Biodiversidade e unidades de conservação. In:

ISERHARD, Cristiano Agra et al. Borboletas (Lepidoptera: Papilionoidea e Hesperioidea) ocorrentes em diferentes ambientes na floresta Ombrófila Mista e nos Campos de Cima da Serra do Rio Grande do Sul, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 1, p. 309-320, 2010.

MACHADO, Angelo Barbosa Monteiro; DRUMMOND, Gláucia Moreira; PAGLIA, Adriano Pereira. Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção. In: **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. 2008.

OLIVEIRA-FILHO, Ary T.; FONTES, Marco Aurélio L. Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in Southeastern Brazil and the influence of climate 1. **Biotropica**, v. 32, n. 4b, p. 793-810, 2000.

PEDROTTI, V. S., BARROS, M. P., ROMANOWSKI, H. P. & ISERHARD, C. A. Borboletas frugívoras (Lepidoptera: Nymphalidae) ocorrentes em um fragmento de Floresta Ombrófila Mista no Rio Grande do Sul, Brasil. **Biota Neotropica. Campinas**. Vol. 11, n. 1 (jan./mar. 2011), p. 385-390, 2011.

SHUEY, JOHN A. An optimized portable bait trap for quantitative sampling of butterflies. **Tropical Lepidoptera**, v. 8, n. 1, p. 1-4, 1997.

SILVA, André Roberto Melo et al. Borboletas frugívoras (Lepidoptera: Nymphalidae) da mata do Museu de História Natural e Jardim Botânico da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Arquivos do Museu de História Natural e Jardim Botânico da UFMG**, v. 23, n. 1, 2014.

DA SILVA, Jose Maria Cardoso; CASTELETI, C. H. M. Status of the biodiversity of the Atlantic Forest of Brazil. **The Atlantic Forest of South America: Biodiversity Status, Threats, and Outlook. CABS and Island Press, Washington**, p. 43-59, 2003.

DA SILVA, Jose Maria Cardoso; TABARELLI, Marcelo. Tree species impoverishment and the future flora of the Atlantic forest of northeast Brazil. **Nature**, v. 404, n. 6773, p. 72, 2000.

TESTON, J. A.; CORSEUIL, E. Borboletas (Lepidoptera, Rhopalocera) ocorrentes no Centro de Pesquisas e Conservação da Natureza Pró-Mata. 3. Nymphalidae. **Divulgações do Museu de Ciências e Tecnologia, UBEA/PUCRS**, v. 7, p. 1-208, 2002.

UEHARA-PRADO, M.; BROWN JR., K. S.; FREITAS, A. V. L. Species richness, composition and abundance of fruit-feeding butterflies in the Brazilian Atlantic Forest: comparison between a fragmented and a continuous landscape. **Global Ecology and Biogeography**, Campinas, SP, v. 16, p. 43-54, 2006.

WAHLBERG, Niklas et al. Nymphalid butterflies diversify following near demise at the Cretaceous/Tertiary boundary. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 276, n. 1677, p. 4295-4302, 2009.

PSEUDOTRIMEZIA SPECIOSA (*Iridaceae, Trimezieae*), NOVA COMBINAÇÃO DE *Pseudotrimexia* DOS CAMPOS RUPESTRES DE MINAS GERAIS

Data de aceite: 14/02/2020

Nadia Said Chukr

Secretaria da Educação de São Paulo.

Endereço: Avenida das Palmas, 628. Cotia/SP.
CEP 06707225.

e-mail: chukr.nadia@gmail.com. Tel.: 988339098

Curriculum lattes: <http://lattes.cnpq.br/1502318187503567>

RESUMO: A família Iridaceae possui 66 gêneros e cerca de 2030 espécies, com distribuição cosmopolita e centro de diversidade na África do Sul, seguido pela América do Sul (Goldblatt *et al.* 2008a). O gênero *Pseudotrimexia* pertence à tribo neotropical Trimezieae Ravenna e teve a sua circunscrição ampliada por Lovo *et. al.* (2018), por incluir parte das espécies anteriormente reconhecidas como *Trimezia* sect. *Juncella* (Chukr & Giulietti, 2001; 2008). *Pseudotrimexia* caracteriza-se por possuir catáfilos espiralados, cormo alongado, folhas cilíndricas, escapo áfilo ou portando duas brácteas imbricadas entre si, tépalas patentes ou fortemente revolutas, flores amarelas, alaranjadas, lilases ou roxas. *Pseudotrimexia speciosa* (Ravenna) Chukr foi primeiramente descrita como *Trimezia juncifolia* (Klatt) Benth. & Hook. subsp. *speciosa* por Ravenna (1988). Em trabalhos anteriores Chukr

(1992) e Chukr & Giulietti (2008) sinonimizaram a subespécie sob o basônimo *Trimezia juncifolia*, (=*Pseudotrimexia juncifolia*) sem considerar subespécies. Foram encontrados exemplares de *Trimezia* (=*Pseudotrimexia*) com folhas cilíndricas e flores vermelhas em duas localidades dos campos rupestres de Minas Gerais, nos municípios de Passos e São José do Barreiro, nos contrafortes da Serra do Canastra. Como o caráter é de suma importância, mudou-se o nível hierárquico do táxon, passando de subespécie para espécie e efetuando a mudança de gênero. Neste trabalho é apresentada a diagnose do táxon, suas características anatômicas, comentários e relações com outros taxa, distribuição geográfica assim como sua fenologia.

PALAVRAS-CHAVE: Iridaceae, Trimezieae, *Pseudotrimexia*, *Trimezia*

ABSTRACT: The Iridaceae family has 66 genera and about 2030 species, with cosmopolitan distribution and diversity center in South Africa followed by South America (Goldblatt *et al.* 2008a). The genera *Pseudotrimexia* belongs to the neotropical tribe Trimezieae Ravenna and it had the circumscription enlarged by Lovo *et al.* (2018), as it includes part of the species previously recognized as *Trimezia* sect.

Juncella (Chukr & Giulietti, 2001, 2008). *Pseudotrimezia* is characterized by having spiraled cataphils, elongated corms, cylindrical leaves, aophile stem or carrying two imbricate bracts, patent or strongly revolute tepals and yellow, orange, lilac or purple flowers. *Pseudotrimezia speciosa* (Ravenna) Chukr was first described as *Trimezia juncifolia* (Klatt) Benth. & Hook. subsp. *speciosa* by Ravenna (1988). In previous work Chukr (1992) and Chukr & Giulietti (2008) have synonymized the subspecies under the basionym *Trimezia juncifolia* (= *Pseudotrimezia juncifolia*) without considering subspecies. Specimens of *Trimezia* (= *Pseudotrimezia*) with cylindrical leaves and red flowers were found in two locations in Minas Gerais fields, in the municipalities of Passos and São José do Barreiro, at "Serra do Canastra". As this character is mostly important, the hierarchical level of the taxon has changed from subspecies to species and generic change was provided. This paper presents the diagnosis of the taxon, its characteristics, comments and relationships with other taxa, geographic distribution as well as its phenology.

KEYWORDS: Iridaceae, Trimezieae, *Pseudotrimezia*, *Trimezia*



Basiônimo: *Trimezia juncifolia* (Klatt) Benth & Hooker subsp. *speciosa* Ravenna, Onira 1(1): 10-11. 1988.

TYPUS: Brasil, Minas Gerais, Santana do Riacho, Serra do Cipó, Ravenna 180 (*holotypus* Herb. Ravennae, n.v.; *isotypus* RB, n.v.). Lectótipo (aqui designado):

MINAS GERAIS: Passos, 20° 38'S, 46° 15'W, MG 50, km 280, Cachoeira da estrada, ca 820 m. alt., 29/01/2010, N. S. Chukr 805, fl. (SPF, RB).

INTRODUÇÃO

Pseudotrimzia speciosa (Ravenna) Chukr foi primeiramente descrita como *Trimezia juncifolia* (Klatt) Benth. & Hook. subsp. *speciosa* por Ravenna (1988). A subespécie foi relatada para a Serra do Cipó (MG), vegetando em campos rupestres e tendo como característica diferencial a presença de flores vermelhas. Foi buscado o material Ravenna 180 (RB), sem contudo, obter sucesso.

Em trabalhos anteriores Chukr (1992) e Chukr & Giulietti (2008) sinonimizaram a subespécie sob o basônimo *Trimezia juncifolia*, sem considerar subespécies, por não terem sido detectadas flores vermelhas pertencentes ao gênero *Trimezia* na Serra do Cipó após muitos anos de coleta. Considerou-se que, por ter flores amarelas ou alaranjadas, a descrição fornecida por Ravenna (1988) seria uma incorreção.

Posteriormente, em consulta à rede de computadores (www.brazilplants.com.br), foram observados exemplares de *Trimezia* (=*Pseudotrimzia*) com flores vermelhas. Em contato com o autor da página (Mauro Peixoto, com. pessoal) foi obtida a informação da ocorrência de exemplares de Iridaceae de flores vermelhas em duas localidades dos campos rupestres de Minas Gerais, nos municípios de Passos e São José do Barreiro, nos contrafortes da Serra do Canastra. Em visitas aos locais foi evidenciada a ocorrência de exemplares de *Pseudotrimzia* com a presença de flores vermelhas, que não poderiam ser consideradas uma variante da cor amarela. Como o caráter é de suma importância, mudou-se o nível hierárquico do táxon, passando de subespécie para espécie.

O táxon é citado na Flora do Brasil 2020 como *Trimezia speciosa* (Ravenna) Chukr, sem contudo ter uma diagnose da espécie. No presente trabalho efetuaram-se estudos taxonômicos clássicos com secções anatômicas de folhas e escapos, buscando melhor delimitar o táxon.

MATERIAL E MÉTODOS

O material coletado foi dividido, sendo parte prensado no campo devido a fragilidade de suas flores e em seguida submetido à secagem em estufa com registro de nº de coletor, data de coleta, estado fenológico, ponto geográfico mais próximo e coordenadas geográficas e de altitude. Outra parte, constituída de folhas e escapos, foi fixada em FAA (formaldeído, ácido acético, álcool etílico 5:5:90 em etanol 50% (Johansen, 1940). O seccionamento foi realizado à mão, com auxílio de lâmina de barbear, e as secções foliares transversais obtidas foram submetidas à dupla coloração de safranina e azul de astra em solução aquosa 1% e azul de toluidina nas secções transversais ao escapo (Bukatsch 1972, *apud* Kraus & Arduin, 1997).

O trabalho anatômico foi desenvolvido no Instituto de Botânica da Secretaria de Meio Ambiente do Estado de São Paulo, Núcleo de Pesquisa em Anatomia.

DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE

Ervas eretas. Cormo 0,7-1,2 X 0,5-1,0 cm. coberto por catáfilos espiralados, crassos, castanhos. Folhas cilíndricas 45-97 X 0,2-0,3 cm., eretas, glabras, ápices cuspidados, estriações longitudinais visíveis a olho nu. Escapos áfilos, 10-15 cm compr, cilíndricos, portando no ápice ripídios, 7,0-7,5 cm compr., compostos por brácteas carenadas dispostas em 3 séries, as externas coriáceas, estéreis, as internas membranáceas, férteis. Pedicelos 3,0-3,5 cm compr. Flores vermelhas. Tépalas externas oboval-elípticas, 4,0-6,5 X 1,7-2,5 cm, porção inferior portanto tricomas capitados, com arabescos róseos ou vináceos, porção superior glabra, tépalas internas oboval-oblíngas, com arabescos róseos à base ou vináceos, ápices cuspidados; tépalas internas vermelhas, 3,5-4,8 X 1,0-1,4 cm, porções superiores revolutas, zonas de articulação densamente pilosa, ápices agudos, arabescos vináceos por toda a extensão. Anteras adpressas às colunas dos estiletes, verde-enegrecidas, oblíngas, 1,0-1,2 cm compr., filetes finíssimos, 0,8-1,2 cm compr. Hipanto oblíngo, levemente trígono, 1-1,2 X 0,3-0,4 cm, esverdeado, sulcado; estiletes trígono 2,5-3,2 cm no comprimento total, róseos, bases alargadas, porções superiores livres, 0,5-0,8 cm compr, bifidas, lacínios eretos, 0,4-0,5 cm compr. Cápsulas oboval-oblíngas, 1,0-2,0 cm compr., 0,6-1,5 cm diâm., lóculos se abrindo até a metade do seu comprimento. Sementes 9-25 por lóculo, 2,6-4,0 mm compr., 2,0-3,0 mm. larg.

Material examinado

MINAS GERAIS: Passos, 20° 38'S, 46° 15'W, MG 50, km 280, Cachoeira da estrada, ca 820 m. alt., 29/01/2010, N. S. Chukr 805, fl. (SPF, RB); idem, 12/01/2011, N.S. Chukr 825 & P.U. Ávila, fl. (SP); São José do Barreiro, Serra da Babilônia, 20°22'S, 46° 28'W, 30/01/2010, N. S. Chukr 806, fr. jovem (RB).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Iridaceae Juss. é formada por ervas perenes ou anuais com sistema subterrâneo na forma de rizoma ou cormo (por ex. *Trimezia* e *Pseudotrimexia*). As lâminas foliares na família possuem variadas formas, sendo geralmente lineares ou ensiformes, equitantes, bi ou monofaciais e de venação paralelinérvia (Dahlgren & Clifford 1982). A maioria das espécies possuem folhas planas, porém folhas cilíndricas são encontradas com certa frequência nos gêneros *Sisyrinchium*, *Iris*, *Trimezia* e *Bobartia*.

(Chukr & Giulietti, 2008). As folhas caracterizam-se por apresentar uma parte basal, laminar e subterrânea, correspondendo aos catáfilos fibrosos e uma parte aérea, cilíndrica ou linear, de coloração verde e ápice agudo. As folhas inserem-se nos nós caulinares com disposição espiralada e justapostas entre si, devido à proximidade dos nós caulinares. Os catáfilos envolvem parcialmente o sistema caulinar, formando uma estrutura ovalada. Os catáfilos mais externos correspondem às bainhas de folhas caducas, são fibrosos, mais ou menos espessados, de coloração amarronzada ou enegrecidos devido à presença de substâncias resiníferas.

Chukr & Giulietti (2008) haviam separado o gênero *Trimezia* em duas seções, sect. *Juncella* com as espécies de folhas cilíndricas e sect. *Trimezia* com folhas planas, bifaciais, de acordo com proposição de Ruddall (1993). Em recente trabalho Lovo *et al.* (2018) transferiram as espécies de folhas cilíndricas, monofaciais de *Trimezia* para o genêro *Pseudotrimexia* e mantiveram em *Trimezia* as espécies de folhas planas, lineares com base em estudos morfológicos e moleculares. Em *Pseudotrimexia* há a separação de um grupo com inflorescências áfilas e outro portando brácteas em sua extensão (Lovo *et al.* 2018; Chukr & Giulietti, 2008; Chukr & Giulietti, 2003). Nesse grupo de folhas cilíndricas com escapo áfilo incluem-se *Pseudotrimexia juncifolia* (Klatt) Lovo & A.Gil, *Pseudotrimexia truncata* (Ravenna) Lovo & A.Gil, *Pseudotrimexia fistulosa* (Foster) Lovo & A.Gil, *Pseudotrimexia gracilis* Chukr, *Pseudotrimexia synandra* Ravenna e agora *Pseudotrimexia speciosa* (Ravenna) Chukr.

As folhas cilíndricas de *Pseudotrimexia speciosa* apresentam em corte transversal uma epiderme uniestratificada glabra com cutícula relativamente espessa, esclerênquima subepidérmico, interligando os feixes colaterais (Fig. 1C, 1D, 1E). Possuem na região mediana foliar cerca de dez sulcos, visíveis a olho nu (estrias), cuja epiderme apresenta células globosas com cutícula fina e vários estômatos, porém não apresentam papilas, como em *P. truncata* e *P. juncifolia* (Fig. 1A, 1B, 1C, 1D). Chueiri (1977), Chueiri-Chiaretto (1984) e Rudall (1993) assinalaram que a presença de tricomas e de estômatos em depressões são características xeromórficas das espécies, condicionadas por stress hídrico, conferindo à *P. speciosa* um caráter adaptativo a tais condições ambientais.

Em *Pseudotrimexia speciosa* as folhas apresentam diferentes tipos de feixes vasculares, com um grande feixe na região mediana de cada braço formado pelos sulcos, rodeado por dois feixes menores, ambos colaterais e associados ao esclerênquima subepidérmico (fig. 1A, 1B, 1C, 1D, 1E). Além desses, ocorrem pequenos feixes colaterais na região medular (fig 1C, 1D). O floema dos grandes feixes está mergulhado no esclerênquima subepidérmico, apresentando uma bainha constituída de células parenquimáticas alargadas e cujo conteúdo lhes confere diferentes tonalidades de vermelho (fig. 1C, 1D, 1E). A presença de

esclerênquima logo abaixo da epiderme foi considerada por Rudall & Goldblatt (1993) e Rudall (1994) como um caráter plesiomorfo, amplamente disseminado nas subfamílias de Iridaceae e presente em algumas espécies muito primitivas, como *Isophysis tasmanica* (Rudall 1986). Em todos os materiais examinados pode-se notar a presença de esclerênquima subepidermal associados aos grandes feixes vasculares (tab.1).

Pela análise dos cortes histológicos das lâminas foliares, pode-se observar as seguintes características:

- a. O corte transversal é circular com a presença de uma epiderme unisseriada e a presença de papilas esporádicas (fig. 1C, 1D, 1E) Ocorrem aleatoriamente estômatos especialmente associados aos sulcos.
- b. Os sulcos possuem abertura de 100 a 200 μm e comprimento de 180 a 220 μm (Tab. 1; fig 1E), sem tricomas associados. Tais sulcos não ultrapassam a linha do xilema (fig. 1C, 1D, 1E).
- c. Abaixo da epiderme ocorre uma faixa esclerenquimática contínua de 5 a 6 camadas de células (fig. 1E).
- d. Os feixes vasculares são colaterais, dispostos ordenadamente abaixo da faixa esclerenquimática e desordenadamente na região medular (fig. 1A, 1B); nestes pode ocorrer um capuz de esclerênquima sobre o polo do floema em feixes de maior tamanho (Fig. 1A, 1B)
- e. Ainda em relação aos feixes vasculares podem ocorrer dois feixes menores associados aos feixes de maior tamanho mergulhados na faixa esclerenquimática, dispostos lateralmente e na mesma linha do floema (fig. 1D, 1E)

	CARÁTER/ TÁXON	<i>P. speciosa</i>	<i>P. truncata</i> *	<i>P. juncifolia</i> **
FOLHA	Presença de tricomas nos sulcos foliares	_____	_____	XXXX
	Sulcos até a linha do xilema	XXXXX	(ultrapassa a linha do xilema)	XXXX
	Comprimento dos sulcos (μm)	180-(200)-220	250- 300	85-100-(175)-200-240
	Abertura dos sulcos (μm)	100-120-200	125-250	50-97,5-100 -----
	Feixes laterais na altura do floema nos cortes foliares	XXXXX	ACIMA	ACIMA

	Alternância de feixes de menor e maior tamanho nos escapos	XXXXX	_____	_____
ESCAPO	Bainha de feixe prolongando-se até faixa esclerenquimática no escapo	XXXXX	XXXXX	_____
	Numerosas papilas ao escapo	XXXXX	_____	_____

Tabela 1. Dados de folha e escapo de *Pseudotriimezia speciosa*, *Trimezia truncata* (= *P. truncata*) e *Trimezia juncifolia* (= *P. juncifolia*) segundo Chueiri, 1977(*) (**), Rudall, 1993(**), Lovo, 2007 (**). _____ ausência. XXXX - presença

Dentro da tribo Trimezieae, várias sinapomorfias podem ser evidenciadas na lâmina foliar, como a presença de esclerênquima subepidermal ligando os feixes colaterais entre si, floema circundado pelo esclerênquima e presença de pequenos feixes laterais aos feixes de maior tamanho (Rudall, 1993, Chukr & Giulietti, 2003; 2008, Lovo, 2007). A presença de pequenos feixes laterais foi considerada por Rudall (1993) como um caráter único da tribo Trimezieae dentro da subfamília Iridoideae, com correspondência apenas entre alguns representantes da subfamília Ixioideae.

Todas estas características foram visualizadas em *Pseudotriimezia speciosa*, enquadrando o táxon perfeitamente na tribo. Pelas características morfológicas externas a espécie é indistinguível a outras duas espécies do gênero, *Pseudotriimezia truncata* e *Pseudotriimezia juncifolia*, tanto pela estrutura caulinar, principal característica do gênero, como pelas folhas e escapos cilíndricos. A característica visual mais evidente que separa as três espécies é a cor das flores, apesar de outras características morfológicas externas nos auxiliarem na separação específica, a saber, flores de cor amarela em *P. juncifolia*, flores roxas ou violáceas em *Trimezia truncata* (= *P. truncata* (Ravenna) Lovo & A.Gil e flores vermelhas em *P. speciosa* (fig 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 2F, 2G.). A presença de anteras de menor tamanho e separadas por largo conectivo é marcante em *P. truncata* (Chukr & Giulietti, 2008) e pouco evidente em *P. juncifolia* (Chukr & Giulietti, 2008) e *P. speciosa* (fig. 2B, 2D). A porção apical dos estiletes é também caráter seletivo para *Pseudotriimezia truncata*, pois nesta espécie eles se apresentam bífidos e patentes (Chukr & Giulietti, 2008), enquanto em *P. speciosa* se apresentam bífidos e eretos (fig. 2B, 2D) e em *P. juncifolia* eles são polimorfos, podendo ser bífidos, patentes ou eretos e ainda trífidos e eretos (Chukr & Giulietti, 2008). A coloração dos arabescos é também distinta: em *P. truncata* apresentam-se vináceas (Chukr & Giulietti, 2008) em *P. juncifolia* (Chukr & Giulietti, 2008) apresentam ócraceas ou vináceas e em *P. speciosa* apresentam-se vináceas a róseas, assim como os estiletes (fig 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 2F, 2G). Os estames em *P. speciosa* são enegrecidos e o conectivo estreito (fig. 2B, 2D) assim como em *P. juncifolia*, enquanto que em *P. truncata* são

também enegrecidos mas se apresentam separados por largo conectivo (Chukr & Giulietti, 2008), o que a distingue das outras espécies.

Analisando a Tab. 1, podemos perceber algumas características comuns a *P. truncata*, como:

- a. Ausência de papilas associados aos sulcos foliares;
- b. Presença de abertura de sulcos de maior tamanho;
- c. Bainha de feixe que se prolonga até a faixa esclerenquimática contínua do escapo.

A ausência de tricomas aos sulcos é um caráter de forte importância taxonômica, pois é de regulação gênica. A presença de sulcos de abertura larga é evidente (Tab. 1). Em relação ao comprimento dos sulcos *P. speciosa* posiciona-se em posição intermediária a *P. truncata* e *P. juncifolia* (Tab. 1), no entanto, aproximando-se mais a *P. truncata*. Neste sentido podemos perceber que proposição de Ravenna (1988), posicionando o táxon como uma subespécie de *P. juncifolia* não encontra apoio na análise anatômica, porque a ausência de tricomas nos sulcos é um forte fator, que fala a favor de aproximar a espécie a *P. truncata* e não a *P. juncifolia*. Também o tamanho da abertura dos sulcos é muito mais próxima a *P. truncata* que a *P. juncifolia*, esta última contando com sulcos de aberturas menores (Tab. 1).

ESCAPO

Na família Iridaceae os escapos são geralmente eretos, rígidos, planos ou cilíndricos, áfilos ou portando brácteas em sua extensão. O gênero *Pseudotrimenzia* apresenta inflorescências condensadas onde as brácteas estão justapostas devido à proximidade dos internos, sendo considerado um tipo de ripídio (Chukr & Giulietti, 2003; 2008, Lovo, 2007).

Em relação ao escapo, podemos observar em *P. speciosa* a presença de escapo áfilo (fig. 2C), portando estriações visíveis a olho nu. Tais estriações relacionam-se à presença de cordões esclerenquimáticos que alcançam a epiderme e que se conectam a uma faixa esclerenquimática contínua disposta mais internamente em relação ao escapo, associada com regularidade a feixes localizados na sua região cortical e outros esparsamente distribuídos na região medular (fig. 1F, 1G, 1H, 1I). Todos os feixes são colaterais, algumas vezes com um capuz esclerenquimático posicionado sobre o polo do floema (fig. 1G, 1H, 1I). Sobre a epiderme observam-se numerosos papilas esclereificadas dispostas por toda a circunferência do escapo (fig. 1G, 1H). Na porção central ocorrem outros feixes vasculares aleatoriamente distribuídos, com o xilema voltado para dentro e o floema voltado para fora (fig. 1H, 1I).

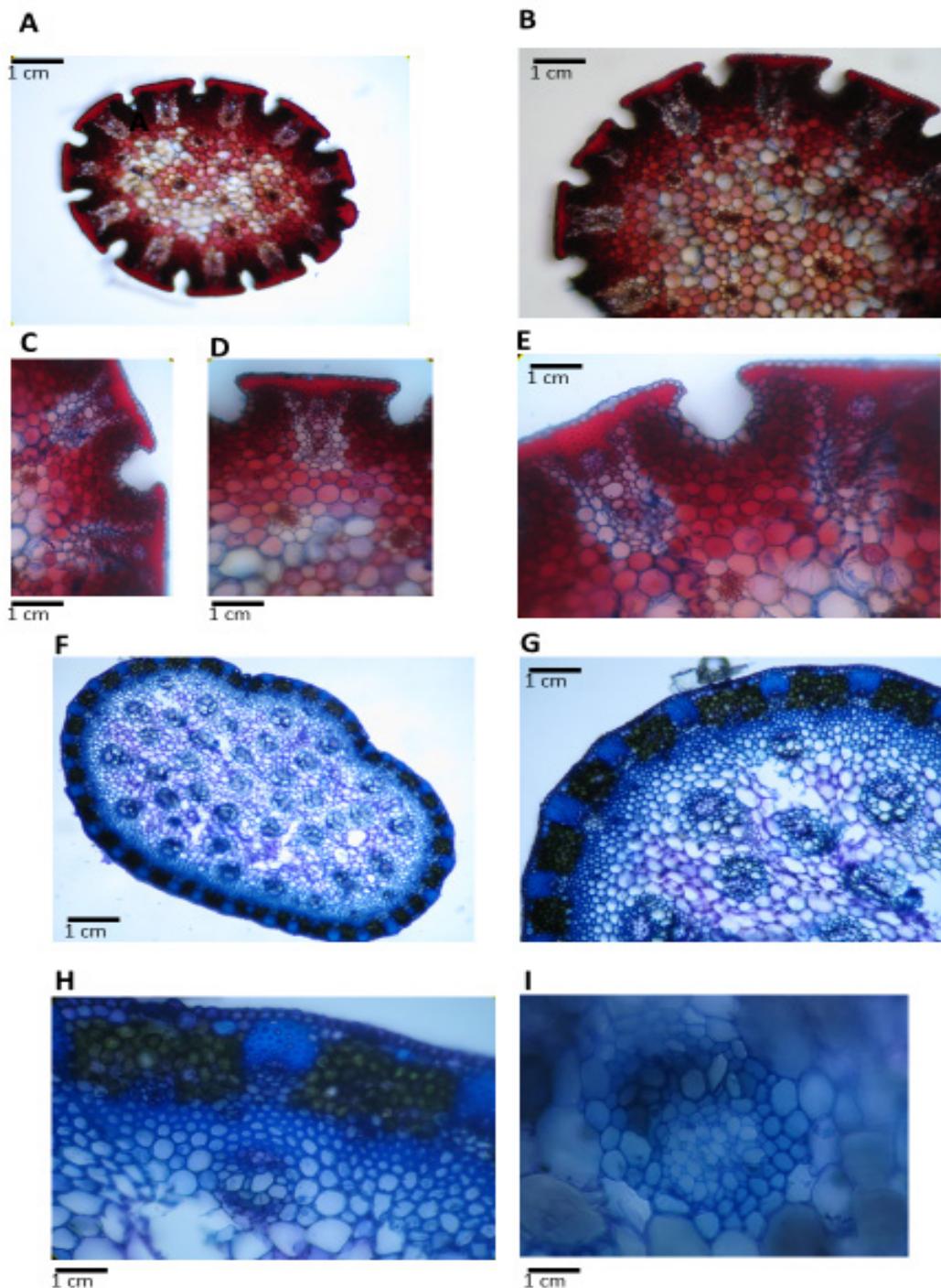
Sobre o escapo nota-se uma diferença marcante em relação às duas espécies, pois observa-se uma alternância de feixes vasculares de maior e menor tamanho sobre a faixa esclerenquimática (Fig. 1F, 1G). Esta característica não se encontra nem em *P. truncata* nem em *P. juncifolia* (Chueiri 1977, Tab. 1). Semelhante caráter foi evidenciado em *P. fistulosa* Foster (Chukr & Giulietti, 2008). Esta alternância não é total à circunferência do escapo, mas é bastante evidente (fig. 1F). Semelhantemente a *P. truncata* e diferindo de *P. juncifolia* observa-se que os feixes colocados acima da faixa esclerenquimática possuem bainha de feixe que se prolonga ao esclerênquima (fig.1F, 1G, 1H, tab. 1), caráter importante que mais uma vez separa a espécie de *P. juncifolia* (Chueiri, 1977).

Em termos fenológicos, *Pseudotrimzia speciosa* floresce desde janeiro até abril em dias ensolarados. A antese das flores inicia-se nas primeiras horas (~6 horas), abrindo-se totalmente entre 8:00 e 9:00 horas com secreção intensa dos tricomas glandulares (provavelmente elaióforos) presentes na tépalas externas e mais pronunciadamente nas tépalas internas (fig.2A, 2B, 2C, 2D, 2F, 2G). Entre 10:00 e 12:00 horas a secreção dos elaióforos torna-se mais pronunciada. Entre 15:00 e 16:00 horas inicia-se o fechamento das flores. Todas estas alterações foram tomadas a partir de material em cultivo da espécie, Chukr 825 (SP), retirado no município de Passos (MG). É interessante dizer que esta espécie apresentou boa tolerância às condições de cultivo em ambiente diverso ao clima de cerrado, pois o material foi cultivado em Cotia (SP), em condições ambientalmente subtropicais. Nenhuma outra espécie do gênero aceitou bem o cultivo “ex situ”, e mesmo dentre os espécimes, porque os materiais retirados de São José do Barreiro (MG) não obtiveram sucesso, processados de mesma maneira e em mesmo local. Apesar de florescer por 2 ou 3 anos, o material de Passos entrou em senescência e morreu.

Pseudotrimzia speciosa somente foi encontrada nos municípios de Passos e São José do Barreiro (MG) em campo rupestre pedregoso. No material cultivado não houve formação de frutos, o que, provavelmente, foi devido à ausência de polinizador específico.

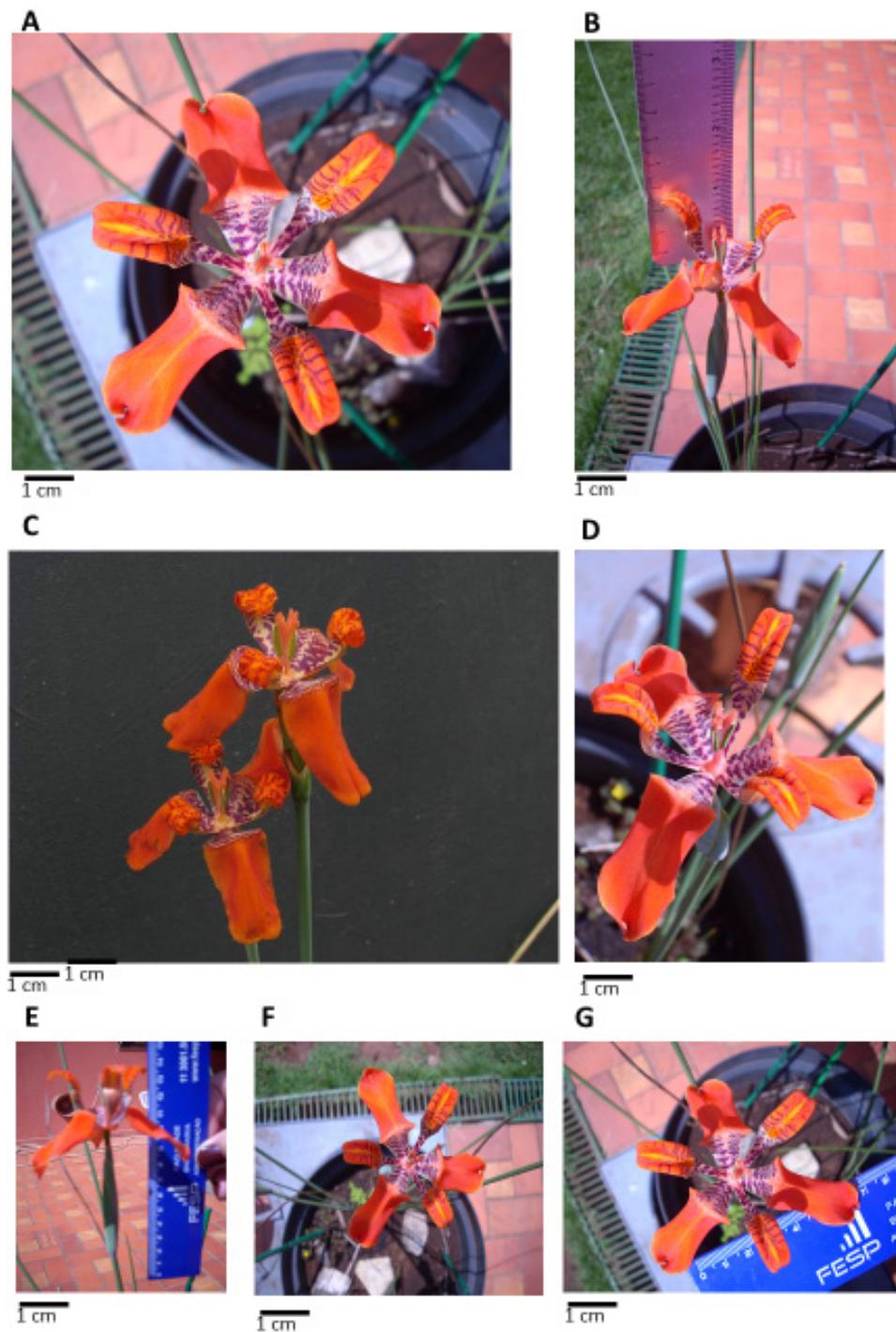
Os dados, portanto, confirmam a espécie *Pseudotrimzia speciosa*, especialmente devido à ausência de tricomas nos sulcos foliares associados aos estômatos e alternância de feixes de maior e menor tamanho ao escapo, caráter incomum em *Pseudotrimzia*, observado apenas em *Pseudotrimzia. fistulosa*

PRANCHAS



Prancha 1- Anatomia de *Psedotrimzia speciosa* (A-E- cortes transversais das folhas, Chukr 805) A-B: vista geral. C: Detalhe dos sulcos. D: Detalhe de grande feixe colateral associado a dois pequenos feixes laterais e bainha de feixe que se estende ao esclerênquima. E: Detalhe da epiderme unisseriada e dos sulcos. F-I: cortes transversais ao escapo. F: vista geral mostrando alternância de feixes de maior e menor tamanho acima da faixa esclerenquimática contínua.

G: Detalhe dos feixes laterais associados ao esclerênquima e região medular com feixes colaterais. H: Detalhe de feixe cortical com capuz de esclerênquima e papilas esclereificadas. I: Detalhe de feixe colateral medular. A, B, F: escala: 1 cm = 400 µm; C, D, G: 1 cm = 200 µm; E-H: 1 cm = 100 µm; I: 1 cm = 50 µm



Prancha 2- Detalhes das flores de *Pseudotrimexia speciosa*, em especial a cor vermelha-carmim das tépalas (A- G). Fotos: A, B, D, E, F, G: N. S. Chukr. Foto C: Mauro Peixoto

REFERÊNCIAS

- CHUEIRI, I. A. 1977. **Aspectos anatômicos em espécies de *Trimezia* (Iridaceae) da Serra do Cipó, MG.** Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências, Univ. São Paulo.
- CHUKR, N.S. 2001- New Species of ***Pseudotrimexia*** and ***Trimezia*** (Iridaceae) and the New *Trimezia*'s Infra-generic Treatment. *Cadernos de Estudos e Pesquisas* – UNIP, v.7, n. 1-003/01: 1-12.
- CHUKR, N.S. & GIULIETTI, A. M. 2008. **Revisão de *Trimezia* Salisb. ex Herb. para o Brasil.** Sitientibus, série Ciências Biológicas 8(1): 15-58.
- DAHLGREN, R.T.M. & CLIFFORD, H.T. 1982. **The monocotyledons – a comparative study.**

KRAUS, J.E. & ARDUIN, M. 1997. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Editora Universidade Rural, Seropédica.

LOVO, J. 2007. **Filogenia e revisão de *Pseudotrimzia* (Iridaceae)**. Tese de Doutorado. Inst. Biociências. Univ. S. Paulo. 102 p.

LOVO, J. 2018; WINKWORTH, R.; GIL, A. S. B; AMARAL, M. C.; BITTRICH, V. & MELLO-SILVA, R. **A revised genus-level taxonomy for Trimezieae (Iridaceae) based on expanded molecular and morphological analyses**. *Taxon* 67 (3). 503-520

JOHANSEN, D. 1940. **Plant microtechnique**. McGraw Hill, New York.

RAVENNA, P.F. 1988 - **New species and miscellaneous notes in the genus *Trimezia* (Iridaceae) - II. *Onira*** 1(1): 1-15.

RUDALL, P. J. 1986. **Taxonomic significance of leaf anatomy in Australasian Iridaceae**. *Nord. J. Bot.* 6(3): 277-289

RUDALL, P.J. 1993 - **Leaf anatomy and Systematic of Mariceae (Iridaceae)**. *Kew Bulletin* 48(1): 151-160.

RUDALL, P.J. 1994. **Anatomy and systematics of Iridaceae**. *Bot. J. Linn. Soc.* 114: 1-21.

OBSERVAÇÃO DE HERBIVORIA EM MANACÁ-DE-CHEIRO (*Brunfelsia uniflora*) NAS REGIÕES DE BORDA E INTERIOR DA MATA

Data de aceite: 14/02/2020

Data da submissão: 02/10/2019

Fernanda Marinho Sarturi

Acadêmica do curso de Ciências Biológicas, fernandamarinhosarturi@gmail.com

Juliana Tunnermann

Acadêmica do curso de Ciências Biológicas, julitunner@gmail.com.

Paola Cristiane Vidor

Acadêmica do curso de Ciências Biológicas, paolavidor2204@gmail.com.

Vidica Bianchi

Professora Doutora do departamento de Ciências da vida, Orientadora, vidica.bianchi@unijui.edu.br.

Pesquisa institucional desenvolvida durante o componente curricular Ecologia

RESUMO: As plantas podem ter respostas variadas frente à herbivoria, entre os mecanismos de defesa destacamos a produção de metabólitos secundários e o investimento energético, porém também devem ser levados em consideração os recursos dos ambientes em que se desenvolvem. Para a realização das análises foram coletadas 40 folhas de dois indivíduos de *Brunfelsia uniflora*, sendo que

20 folhas foram coletadas de um espécime presente na região de borda e outras 20 folhas foram coletadas de um espécime no interior da mata. Posteriormente, as folhas coletadas foram reproduzidas em papel milimetrado, para calcular a área foliar total e área foliar consumida, e assim realizar a porcentagem de herbivoria nos dois diferentes ambientes. Finalizados os cálculos, os dados obtidos foram analisados comparados com a bibliografia para síntese dos resultados e discussão.

PALAVRAS-CHAVE: Diferentes; ambientes; defesa; plantas.

HERBACEOUS OBSERVATION (*Brunfelsia uniflora*) IN THE BORDER AND INNER REGIONS OF THE FOREST

ABSTRACT: Plants may have varied responses to herbivory; among the defense mechanisms we highlight the production of secondary metabolites and energy investment, but also the resources of the environments in which they are developed must be taken into account. For the analysis, 40 leaves of two individuals of *Brunfelsia uniflora* were collected. Twenty leaves were collected from one specimen present in the border region and another 20 leaves were

collected from one specimen inside the forest. Afterwards, the collected leaves were reproduced on graph paper, to calculate the total leaf area and leaf area consumed, and thus to perform the percentage of herbivory in the two different environments. After completing the calculations, the obtained data were analyzed compared to the bibliography for synthesis of results and discussion.

KEYWORDS: Many different; environments; defense; plants.

INTRODUÇÃO

Na natureza existem herbívoros de diferentes espécies, desde grandes herbívoros vertebrados como os cervos, até pequenos invertebrados como uma lagarta. As respostas da planta frente à herbivoria podem ser variadas. Entre os mecanismos de defesa destacam-se a produção de metabólitos secundários e o investimento energético da planta. Além disso, há ainda os recursos morfológicos da planta, como a cutícula que recobre a epiderme ou, tricomas e espinhos que podem estar presentes nas folhas ou nas demais estruturas do vegetal. Além disso, em cálculos de índice de herbivoria os recursos do ambiente devem ser levados em consideração.

Assim, o objetivo da pesquisa foi avaliar a diferença dos índices de herbivoria em uma mesma espécie, presente em dois diferentes ambientes, na região de borda e interior da mata.

MATERIAL E MÉTODOS

A coleta das folhas para o cálculo da herbivoria ocorreu no período da manhã do dia onze de novembro de dois mil e dezoito no município de Panambi - RS. Foram coletadas um total de 40 folhas de dois indivíduos de *Brunfelsia uniflora* (Pohl.) D. Don (Solanaceae). Das 40, 20 folhas foram coletadas de um espécime presente na região de borda da mata e outras 20 folhas foram coletadas de um espécime presente no interior da mata. O horário, às condições climáticas na hora da coleta foram as mesmas.

Após a escolha dos dois indivíduos, um na região de borda e outro no interior da mata foram sorteados dez ramos de cada um deles. Em cada um dos dez ramos sorteados para cada espécime, foram retiradas a terceira e quinta folha a partir do ápice, resultando em 20 folhas por indivíduo. Posteriormente, as folhas coletadas foram reproduzidas em papel milimetrado (Figura 1) para cálculo da área foliar total, da área foliar consumida e, finalmente, da porcentagem de herbivoria apresentada nas duas regiões da mata. O cálculo foi realizado através de regra de três simples, os dados obtidos foram analisados e comparados com a bibliografia para síntese

dos resultados e discussão (Zuluaga, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desenho das folhas em papel milimetrado para realização dos cálculos:

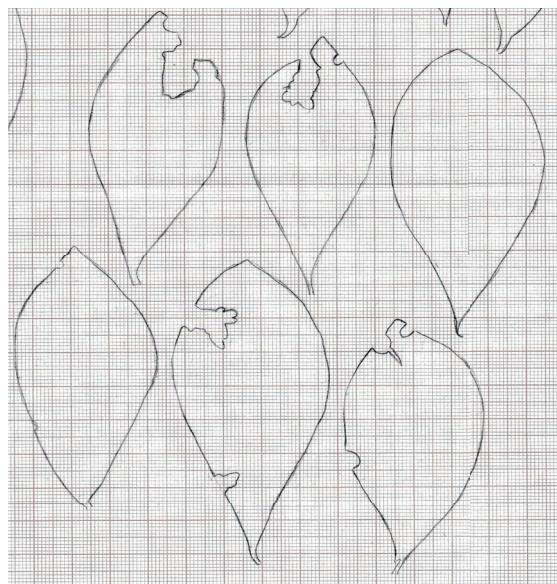


Figura 1. Folhas coletadas reproduzidas em papel milimetrado.

Fonte: autores

A partir dos cálculos de área total e área total consumida, obtiveram-se os resultados apresentados na Tabela 1. Observando as medições de área foliar consumida e a porcentagem final de herbivoria de cada uma das áreas, é possível verificar que a herbivoria se mostrou muito maior no interior da mata do que na região de borda.

Ambiente	Área foliar total (mm ²)	Área foliar consumida (mm ²)	Porcentagem de herbivoria (%)
Borda da mata	33.244	9	0,027
Interior da mata	23.685	467	1,97

Tabela 1. Somatório da área foliar total e área foliar consumida dos ambientes de borda e interior da mata e respectivas porcentagens de herbivoria.

Fonte: Autores

Como todos os processos ecológicos, a herbivoria é influenciada por diversos outros fatores, tanto bióticos (competição, produção de metabólitos secundários pelas

plantas, predação), como abióticos (temperatura, incidência solar, disponibilidade de nutrientes do solo), dentre esses fatores se destaca a incidência luminosa. Segundo Dimarco *et al.* (2004), plantas localizadas em regiões com maior disponibilidade de luz têm menor porcentagem de dano foliar do que aquelas localizadas em áreas com menor disponibilidade de luz. Este pode ser um dos fatores responsáveis pelo resultado apontado pela pesquisa, visto que, a região do interior da mata onde foi observado o maior percentual de herbivoria, possui menor disponibilidade luminosa em relação à região de borda.

Outra condição que pode estar relacionada ao fato de a região do interior da mata ter demonstrado maiores índices de herbivoria é o equilíbrio de relações ecológicas da área. As regiões de borda, por estarem mais expostas e serem um ambiente de transição sofrem variações constantes, que podem afetar os herbívoros presentes na área e suas inter-relações.

Segundo Luttge (1997), a disponibilidade de nutrientes do solo também é um fator que afeta a propensão das plantas à herbivoria. Plantas localizadas em sítios com solos mais pobres em nutrientes precisam produzir compostos secundários para proteção contra a herbivoria, visto que a escassez de nutrientes torna difícil a reposição dos tecidos lesados. Já as plantas que se localizam em ambientes com solos mais férteis, podem investir mais em crescimento e menos em defesas. Esse estudo corrobora com os resultados encontrados, pois a região interna da mata possui solo mais rico em nutrientes, devido à deposição e decomposição constante de matéria orgânica, sendo assim, as plantas ali estabelecidas podem aumentar seus esforços em crescimento, enquanto que as plantas da região de borda investem mais em defesas.

Plantas expostas ao sol produzem como resposta à insolação um composto fenólico chamado de antocianina, essa substância confere uma coloração diferente à planta e a protege das radiações solares. Existe a possibilidade de este composto, assim como outros compostos fenólicos, proteger a planta contra a herbivoria causada por alguns insetos, nesse caso, as plantas presentes nas regiões de borda da mata teriam maior resistência frente à herbivoria, visto que estão mais expostas à radiação solar e, consequentemente, produzem mais antocianinas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As respostas frente à herbivoria mostraram diferença significativa entre a área de interior da mata e a borda, onde se observou que o interior teve maior taxa de herbivoria. Com isso, consideramos que a maior interação entre os diversos vegetais e animais de dentro da mata, bem como a produção de compostos secundários pelas plantas que ficam em região de borda e ainda a maior disponibilidade de

nutrientes no interior da mata em relação à borda.

Destacamos que são necessárias maiores investigações sobre as respostas da herbivoria em relação ao meio, especialmente no que se refere à atividade das antocianinas, visto que não foram encontrados estudos que comprovem a capacidade de esta substância repelir os consumidores. Fatores como local, clima, espécie vegetal e até mesmo o desequilíbrio ambiental sempre devem ser levados em consideração.

REFERÊNCIAS

ALVES, S. et al. “**O efeito de borda na herbivoria foliar em um remanescente de Mata Atlântica - Jacareí/SP: Um estudo preliminar**”. Jacareí: XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, 2009.

DIMARCO, ROMINA; RUSSO, GABRIEL; FARJI-BRENER, ALEJANDRO G. “**Patrones de herbivoría en seis especies leñosas del bosque templado de América del Sur: evidencia preliminar a favor de la hipótesis del balance carbono-nutrientes**”. [S.I.]: Ecol. Austral, 2004. p.39-43, v.14.

LÜTTGE,U. “**Physiological ecology of tropical plants**”. Alemanha: Springer-Velag, 1997.

NEVES, Vânia M. **A diferença de ambiente influencia o grau de herbivoria em Gaunandi, Calophyllum brasiliense (Clusiaceae)**. Cananéia: Prática de pesquisa em Ecologia da Mata Atlântica, 2007.

ZULUAGA, Catalina et al. “**Herbivoria em dois ambientes com alta e baixa disponibilidade de nutrientes e água**”. Prática de Pesquisa em Ecologia na Mata Atlântica, Universidade de São Paulo, 2013. Disponível em: <http://ecologia.ib.usp.br/curso/2013/pdf/PO4-1.pdf>. Acesso em: 24 ago 2018.

COMPORTAMENTO DA REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E NITROGÊNIO EM REATOR DE LEITO ESTRUTURADO OPERADO COM E SEM RECIRCULAÇÃO

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 16/11/2019

Edgar Augusto Aliberti

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/7918506315874040>

Janaina Casado Rodrigues da Silva

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/4434491999679284>

Alex da Cunha Molina

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/5567048598157510>

Kátia Valéria Marques Cardoso Prates

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/3263748365906046>

Camila Zoe Correa

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/6067793841401415>

Deize Dias Lopes

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/9248842407541042>

verificar a eficiência de remoção de matéria orgânica e nitrogênio em um reator de leito estruturado sob duas condições operacionais (Aeração Intermittente Sem Recirculação - AIS e Aeração Intermittente Com Recirculação – AIC). O reator foi operado com Tempo de Detenção Hidráulico (TDH) de 16 horas e ciclo de aeração intermitente de 2h com aeração e 1h sem aeração. As análises de Nitrogênio Total Kjeldahl (NKT), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) e demanda química de oxigênio (DQO)) foram feitas no afluente e efluente. Avaliando a remoção de matéria orgânica na fase AIS obteve-se 87% de eficiência e na fase AIC 92%. Considerando os valores médios de remoção de nitrogênio as duas fases foram semelhantes, sendo 73% na fase AIS e 72% na fase AIC. Após a análise dos resultados conclui-se que o sistema operado com recirculação apresentou melhor desempenho quanto a remoção de matéria orgânica.

PALAVRAS-CHAVE: Efluente de laticínio. Aeração intermitente. Remoção de nitrogênio.

ORGANIC AND NITROGEN REMOVAL

BEHAVIOR IN A STRUCTURED BED

REACTOR OPERATED WITH AND WITHOUT

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi

ABSTRACT: The objective of this work was to verify the efficiency of organic matter and nitrogen removal in a structured bed reactor under two operating conditions (Intermittent Aeration Without Recirculation - AIS and Intermittent Aeration with Recirculation - AIC). The reactor was operated with a 16-hour Hydraulic Detention Time (DTT) and an intermittent aeration cycle of 2h with aeration and 1h without aeration. Kjeldahl Total Nitrogen (NKT), nitrite (NO_2^-), nitrate (NO_3^-) and chemical oxygen demand (COD) analyzes were performed on the tributary and effluent. Evaluating the removal of organic matter in the AIS phase obtained 87% efficiency and in the AIC phase 92%. Considering the average values of nitrogen removal the two phases were similar, being 73% in the AIS phase and 72% in the AIC phase. After the analysis of the results it is concluded that the system operated with recirculation presented better performance in the removal of organic matter.

KEYWORDS: Dairy Effluent. Intermittent aeration. Nitrogen removal.

1 | INTRODUÇÃO

Um dos maiores problemas ambientais em todo o mundo é a poluição de corpos hídricos superficiais, causando problemas de saúde e prejudicando a qualidade da água. A principal origem dessa poluição vem do lançamento de águas residuárias domésticas e industriais (Leite, 2004).

Em 2018 a produção global de leite foi estimada em 843 milhões toneladas, com um aumento de 2,2% em relação a 2017. Já o Brasil obteve uma produção de 35,5 milhões de toneladas (FAO, 2019). Segundo Villa et al. (2007), o grande volume de água necessário para produção de leite coloca as indústrias de laticínios como uma das principais geradoras de efluentes industriais. Estima-se que para cada litro de leite produzido sejam gerados cerca de 2,5 litros de efluente ricos em DQO (mg.L^{-1}), nitrogênio (mg.L^{-1}) e gorduras (mg.L^{-1}).

Para a remoção de matéria orgânica e nitrogênio simultaneamente, sistemas compactos vêm sendo estudados, dentre esses destacam-se os reatores de leito estruturado e fluxo contínuo, que vem demonstrando resultados satisfatórios, principalmente quando operado com aeração intermitente e recirculação (CORREA et al., 2018; MOURA et al., 2012).

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo analisar a eficiência de remoção de nitrogênio e material orgânica em um reator de leito estruturado quando operado sob aeração intermitente com e sem recirculação de efluente.

2 | METODOLOGIA

Para desenvolvimento do presente trabalho utilizou-se um reator de leito estruturado e fluxo contínuo, construído em acrílico, com um volume total de 2,27 L, volume útil de 1,32 L e volume de lodo de 0,20 L. Como material suporte do reator foi utilizado espuma cilíndrica de poliuretano com um volume de 0,75 L. A fixação destas foi feita com hastes de ferro nos limites do reator.

Foram trabalhadas 2 fases experimentais ao longo do estudo, sendo a Fase 1 com Aeração Intermittente Sem Recirculação (AIS) e a Fase 2 com Aeração Intermittente Com Recirculação (AIC). As duas fases foram operadas com um tempo de detenção hidráulico (TDH) de 16 horas e ciclo de aeração intermitente de 2h com aeração e 1h sem aeração. A taxa de recirculação de efluente foi de 3 vezes a vazão de entrada ($Q_{re} = 3Q$).

Para o monitoramento do sistema foram realizadas análises físico-químicas, Nitrogênio Total Kjeldahl (NKT), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) e demanda química de oxigênio (DQO), de acordo com Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA,2012). Os cálculos de remoção de nitrogênio total (NT), remoção de NKT e desnitrificação foram realizados conforme proposto por Barana et al. (2013).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados médios obtidos das análises físico-químicas, bem como os desvios padrão e as concentrações estão apresentados na Tabela 1, tanto para o afluente quanto para o efluente.

Parâmetro/ Unidade		AIS	AIC
NKT (mg.N.L ⁻¹)	Af	$34,0 \pm 2,8$	$34,1^1$
	Ef	$5,3 \pm 2,6$	$7,3^1$
N-NH ₄ (mg.N.L ⁻¹)	Af	$6,3 \pm 0,1$	$3,2 \pm 2,1$
	Ef	$3,8 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,5$
N-NO ₂ ⁻ (mg.N.L ⁻¹)	Ef	$0,6 \pm 0,7$	$1,3 \pm 1,1$
	Ef	$6,1 \pm 4,7$	$0,3 \pm 0,2$
Demanda Química de Oxigênio Total (mg.L ⁻¹)	Af	$744,0 \pm 330,0$	$894,0 \pm 559,0$
	Ef	$88,0 \pm 20,0$	$54,0 \pm 25,0$
Eficiência de remoção de DQO (%)	Ef	$87,0 \pm 4,0$	$92,0 \pm 7,0$

Eficiência de remoção de NT (%)	Ef	73,0 ± 15,0	72,0 ± 3,0
---------------------------------	----	-------------	------------

Tabela 1 - Médias e desvio padrão das concentrações de NKT, N-NO₂ e N-NO₃, bem como as remoções de DQO_T e NT.

Legenda: AIS: Aeração Intermittente sem recirculação; AIC: Aeração Intermittente com recirculação; AF: afluente; EF: efluente.

Nota: ¹ na fase AIC só foi realizada uma análise de NKT (mg.N.L⁻¹).

Fonte: Autoria propria (2019).

Com base nos resultados apresentados na Tabela 1 notou-se que a recirculação não interferiu na concentração de NKT, visto que foram muito próximas nas duas fases, tanto para o afluente quanto para o efluente. Para efeito de simplificação usa o Nitrogênio Total Kjeldahl (NKT) para representar o total de amônia, admitindo-se que o nitrogênio vá ser todo convertido a amônia durante o processo (VON SPERLING, 1996). Em relação ao NH₄ em ambas as fases houve diminuição da concentração do afluente para o efluente do sistema de tratamento.

Observou-se também que não houve acúmulo de nitrito no sistema, podendo ser um indicativo de que foi consumido no processo de nitrificação e desnitrificação. Quanto ao nitrato, o sistema com recirculação foi o que apresentou os menores valores, indicando que este sistema pode estar favorecendo a sua remoção, provavelmente pelo processo de desnitrificação. As remoções de NT em ambas as fases foram muito próximas, sendo de 73% e 72% para a fase 1 e fase 2, respectivamente. As remoções de NT do presente trabalho foram superiores quando comparado com o resultado obtido por Correa et al. (2018), onde obtiveram 68±9% de remoção de NT tratando esgoto sanitário com a mesma condição de aeração intermitente e taxa de recirculação de efluente.

Analizando os resultados de DQO afluente e efluente (Tabela 1), notou-se que ocorreu redução na concentração de matéria orgânica nas duas fases do funcionamento do reator, sendo maior na etapa com recirculação (AIC). Em termos de percentual foram constatadas remoções médias de DQO de 87% e 92% nas fases AIS e AIC, respectivamente. As remoções de DQO obtidas foram muito semelhantes às de Leick et al. (2017) que obtiveram eficiências de remoção de DQO na faixa de 89±12% tratando esgoto em um reator de leito estruturado operado com aeração intermitente.

4 | CONCLUSÃO

Considerando os dados apresentados, conclui-se que a recirculação favoreceu a remoção de matéria orgânica. Onde as remoções foram de 87% e 92% nas fases

AIS e AIC, respectivamente. Quanto a remoção de nitrogênio, essa foi favorecida na fase de operação sem recirculação, porém a média de remoção em ambas as fases foram próximas.

REFERÊNCIAS

APHA; AWWA; WEF. **Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater.** 22 ed. Washington, DC: APHA, 2012.

BARANA, A. C. et al. **Nitrogen and organic matter removal in an intermittently aerated fixed-bed reactor for posttreatment of anaerobic effluent from a slaughterhouse wastewater treatment plant.** Journal of Environmental Chemical Engineering, v. 1, n. 3, p. 453-459, 2013.

CORREA, C. Z. **Reator de leito estruturado com recirculação submetido à aeração intermitente no tratamento de esgoto sanitário.** Dissertação de Mestrado - Curso de Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2015.

CORREA, C. Z. et al. **Nitrification/denitrification of real municipal wastewater in an intermittently aerated structured bed reactor.** Journal of Water Process Engineering, v. 23, p. 134-141, 2018.

Environmental Protection Agency (EPA). **Nitrogen control.** Washington (DC): US EPA; 1993.

FAO. 2019. **Dairy Market Review**, March, 2019. Rome. Disponível em <<http://www.fao.org/economic/est/estcommodities/dairy/milk-and-milk-products/en>>. Acesso em: 17 de maio de 2019.

LEICK, S. A. et al. **Efeito da aeração e recirculação na remoção de nitrogênio e demanda química de oxigênio de esgoto sanitário em um reator de leito estruturado.** Engenharia Agrícola, v. 37, n. 6, 2017.

LEITE, A. E. B. **Simulação do lançamento de esgotos domésticos em rios usando um modelo de qualidade d'água, SisBAHIAR ®.** 2004. 94 f. Dissertação de Mestrado em Saúde Pública - Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2004.

MOURA, R. B. et al. **Nitrogen and carbon removal from synthetic wastewater in a vertical structured-bed reactor under intermittent aeration.** Journal of environmental management, v. 98, p. 163-167, 2012.

VILLA, R. D. et al. **Potencial de aplicação do processo foto fenton/solar como o pré-tratamento de efluente da indústria de laticínios.** Química Nova, p. 1799-1803, 2007.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Princípios básicos do tratamento de esgotos.** v.2. 211p .Belo Horizonte, 1996.

DISPOSITIVO PARA CAPTURA E PROCESSAMENTO DE IMAGENS TÉRMICAS PARA DETECÇÃO DE ESTRESSE HÍDRICO

Data de aceite: 14/02/2020

Júlio Anderson de Oliveira Júnior

Graduando em Engenharia Física,
Universidade Federal de Goiás, Instituto de
Física, UFG
Goiânia - GO

Marcelo Gonçalves Narciso

Departamento de Biotecnologia, Embrapa Arroz e
Feijão
Goiânia, Goiás

<http://lattes.cnpq.br/1175679097609016>

Data de submissão: 09/12/2019

uma câmera térmica relativamente barata, em comparação as demais no mercado, foi possível obter um dispositivo para detectar estresse hídrico da planta e fornecer outras análises a partir da temperatura do dossel da planta, como a detecção da presença de organismos patogênicos nas folhas.

PALAVRAS-CHAVE: Lepton. Processamento. Temperatura.

THERMAL IMAGE CAPTURE AND PROCESSING DEVICE FOR WATER STRESS DETECTION

ABSTRACT: In an attempt to reduce the time of data collection of leaf temperature, in plant phenotyping in a greenhouse, a device was created from a low-cost thermal camera (Flir One Lepton). Thermal images of rice leaves (canopy) were collected to detect some level of water stress. The device captures the thermal images along with a series of information from the environment where the plant is inserted. Subsequently, a device program processes these data by providing a summary of the measures found and compares the values between the sample studied and the control plant. Therefore, starting from a relatively inexpensive thermal camera, in comparison to

RESUMO: Na tentativa de reduzir o tempo da coleta de dados de temperatura foliar, em fenotipagem de plantas em casa de vegetação, um dispositivo foi criado a partir de uma câmera térmica de baixo custo (Flir One Lepton). Foram coletadas imagens térmicas de folhas de arroz (dossel) para detecção de algum nível de estresse hídrico. O dispositivo captura as imagens térmicas juntamente com uma série de informações do ambiente onde a planta está inserida. Posteriormente, um programa do dispositivo processa estes dados fornecendo um resumo das medidas encontradas e compara os valores entre a amostra estudada e a planta de controle. Logo, partindo-se de

the others in the market, it was possible to obtain a device to detect water stress of the plant and to provide other analyzes from the temperature of the plant canopy, such as the presence of organisms pathogens in the leaves.

KEYWORDS: Lepton. Processing. Temperature.

INTRODUÇÃO

Com o aumento da população mundial e as mudanças climáticas em várias regiões do mundo, a demanda mundial por alimentos tende a crescer nos próximos anos. Além disso, o avanço da tecnologia e a propagação de informações fizeram com que um número maior de indivíduos buscasse uma maior qualidade nos produtos consumidos. Logo, uma produção agrícola sustentável é vital para assegurar que todas essas exigências sejam atendidas. Para isso, várias pesquisas e experimentos foram desenvolvidos para alcançar uma melhor taxa de produção e qualidade das técnicas de cultivo. Dentre os estudos realizados, o melhoramento genético vegetal ganha bastante destaque por apresentar soluções tecnológicas quanto à resistência das plantas aos desafios ambientais que impactam negativamente o crescimento das plantas, como a falta e/ou excesso de água, nutrientes e luminosidade (SOUZA, 2015).

Para que o melhoramento genético supere e avance em seu programa, é necessário um conhecimento maior sobre as características fisiológicas que determinam o fenótipo das plantas. O fenótipo é a expressão do genótipo, em função de um ambiente em complexa transformação. Atualmente, sabe-se que a grande diferença entre genótipo e fenótipo é particularmente relacionada às interações entre plantas e ambiente. Portanto, a fenotipagem de plantas faz parte do estudo integral de um determinado sistema biológico e, atualmente, é considerado um fator limitante exatamente por não ter acompanhado o avanço na área de genotipagem de planta. A fenotipagem utiliza técnicas tradicionais e requer métodos destrutivos, os quais demandam tempo, recursos financeiros e mão-de-obra.

Sabe-se que a busca por conhecimentos mais refinados exige a formação de equipe multidisciplinar para que experimentos sejam conduzidos com o objetivo de detectar respostas das plantas mediante as diferentes condições de cultivo. Nesse sentido, o avanço na área de fenotipagem de plantas prevê a utilização de novos métodos (não invasivos/não destrutivos) e estes estão sendo considerados cruciais para o avanço dos programas de melhoramento, fisiologia e a integração com a bioquímica, biologia molecular, dentre outras áreas. Esses novos métodos requerem uma abordagem inter, multi e transdisciplinar, envolvendo fisiologistas, melhoristas, engenheiros, físicos, químicos, bioinformáticos, e ecofisiologistas para atuar no desenvolvimento e aplicação de sensores, biosensores, métodos espectroscópicos,

dentre outros para quantificar as propriedades da planta e do ambiente no tempo e no espaço.

O uso de imagens digitais auxilia na obtenção de dados fenotípicos e podem fornecer informações distintas, conforme a banda do espectro eletromagnético utilizado. Para detectar informações como a temperatura foliar/dossel, que é uma das características que varia de forma expressiva e é altamente dependente do nível de estresse da planta, são utilizadas imagens térmicas que captam a radiação infravermelha distante (8 a 15 μm). Ao captar as temperaturas da superfície das folhas da planta, é possível perceber mudanças no estado hídrico da mesma em função da restrição de água imposta. Logo, a informação obtida está ligada, diretamente, a abertura ou fechamento dos estômatos, os quais são responsáveis pelas trocas gasosas entre a planta e o ambiente. Outros exemplos de aplicações de imagens térmicas são a sua utilidade na detecção de regiões das folhas infectadas por organismos patogênicos, detecção de danos mecânicos e no acompanhamento do comportamento dos estômatos (COSTA; GARCÍA-TEJERO; CHAVES, 2009).

Por ser portátil, a captura de imagens térmicas torna-se mais dinâmica e prática, economizando tempo na coleta de dados. Além disso, como recurso adicional, o dispositivo foi projetado de modo que, após a fase de coleta de dados, um processamento das imagens fosse realizado. Como saída, o dispositivo fornece as informações da planta de forma sucinta e de fácil análise. Com estas informações, o objetivo deste trabalho foi a criação de um dispositivo portátil, de baixo custo, que pudesse auxiliar nos experimentos de fenotipagem baseados em imagens térmicas para obtenção de dados de temperatura foliar para monitoramento do *status* hídrico da planta, e assim discriminar genótipos mais tolerantes à deficiência hídrica nos programas de melhoramento vegetal.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para controlar todos os componentes utilizados, foi usado um minicomputador desenvolvido pela fundação Raspberry Pi, o minicomputador Raspberry Pi 3 (ver www.raspberrypi.org). Além disso, todos os softwares produzidos foram feitos neste minicomputador. Na captura de imagens térmicas, foi utilizada uma câmera contendo um sensor infravermelho de longo comprimento de onda (LWIR) da empresa FLIR (ver <https://www.flir.com/flirone>), o sensor FLIR Lepton 3. Este sensor é destinado para dispositivos móveis e foi necessário o uso de um módulo (adaptador) para conectá-lo ao minicomputador. Para coletar dados do ambiente em que as plantas estão submetidas, foi conectado ao minicomputador um Arduino Nano (ver <https://store.arduino.cc/usa/arduino-nano>), usado para alimentar e controlar um sensor de temperatura e umidade (SHT3x) e um sensor de luminosidade (GY-30). Com

este aparato (figura 1), além da imagem térmica da amostra avaliada, foi possível obter informações como a temperatura ambiente, a umidade relativa do ar e a luminosidade. Para a coleta de dados, o dispositivo foi posicionado acima das amostras de modo a captar uma área maior da superfície das folhas.

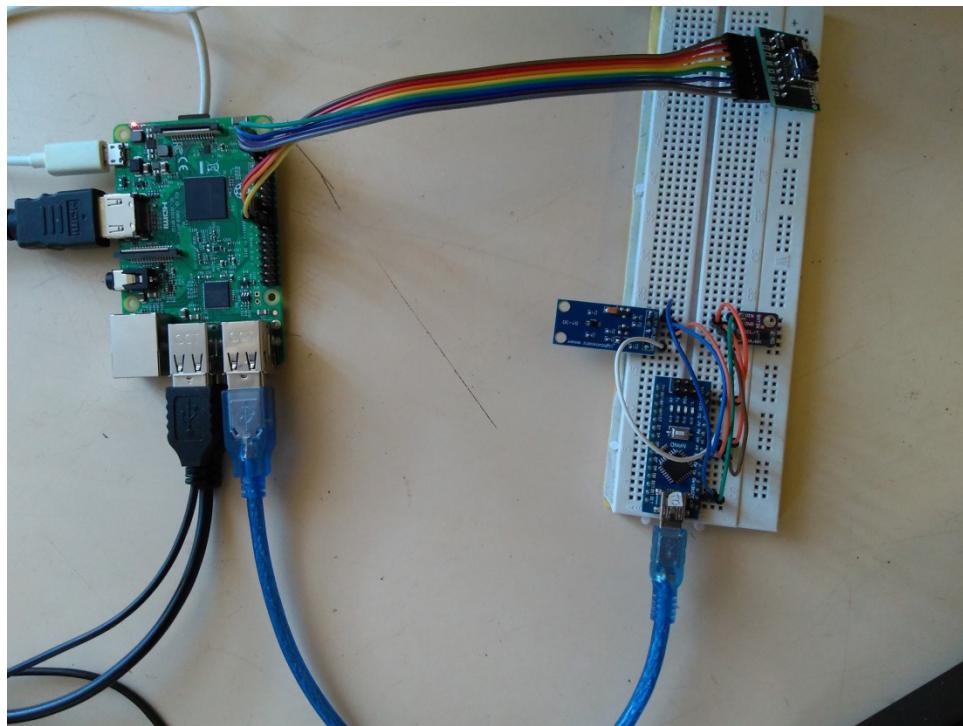


Figura 1 – Dispositivo contendo câmera térmica e sensores

Fonte: (Própria, 2019)

IMPLEMENTAÇÃO

Como o sensor (câmera Lepton) foi colocado em módulo para poder ser conectado às portas GPIO da Raspberry Pi 3, foi necessário o uso de um programa escrito em linguagem C para que o minicomputador pudesse controlar a captura de imagens. Este programa foi desenvolvido na própria Embrapa Arroz e Feijão, e foi baseado em repositórios online para o sensor Lepton. Ao ser acionado, o programa cria uma janela onde é emitido um vídeo do que o sensor capta do ambiente. Nesta mesma janela, existem dois botões referentes à captura de uma imagem e a calibragem do sensor. Ao apertar o botão de captura de imagem, o programa emite uma foto e um arquivo texto com as temperaturas ponto a ponto da imagem. Por conta da resolução do sensor, a imagem de saída possui 160x120 pixels e consequentemente, o arquivo texto apresenta temperaturas distribuídas em 120 linhas e 160 colunas sendo cada elemento referente aos pixels da imagem.

Para tornar este processo mais dinâmico, foi desenvolvido um programa na linguagem Python para acionar o programa do sensor térmico e pressionar o

botão da janela em intervalos de tempo periódico. Desse modo, no teste realizado posteriormente a cada cinco minutos, uma nova foto era obtida juntamente com seu arquivo texto. Quanto aos sensores conectados no Arduino Nano, um pequeno programa foi desenvolvido para que o Arduino captasse as três medidas do ambiente (temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade) continuamente e logo após enviaria via serial para o minicomputador Raspberry Pi 3. Posteriormente, foram adicionadas ao programa em Python algumas linhas de código onde a informação da porta serial era lida e armazenada juntamente com a data e hora da captura da imagem, em um segundo arquivo texto.

Portanto, o dispositivo, ao acionar o programa de captura, obtém uma imagem térmica da região avaliada com 160x120 pixels e dois arquivos textos, um contendo as temperaturas ponto a ponto da imagem e outro com a temperatura ambiente, umidade relativa do ar, luminosidade do ambiente e data e hora da imagem. Para manter uma organização durante a análise dos dados obtidos, todos os arquivos foram salvos com nomes referentes às amostras, e esse sistema foi projetado de modo que torne mais prático o acesso posterior a estas informações. Como passo final, foi criado um programa em Python com uma interface para acesso das informações. Neste programa, é possível acessar o banco de fotos e selecionar a imagem desejada. Ao selecionar a foto, os arquivos textos referentes também são carregados, bem como a imagem e arquivos da planta de controle para comparar as informações.

Quando estes dados são carregados, uma janela é criada onde as imagens da planta de controle e a amostra são mostradas, e para facilitar a visualização, as fotos são redimensionadas para um tamanho maior. Posteriormente, a interface fornece a opção de processar as imagens inteiras ou apenas uma região selecionada pelo mouse. Na parte de processamento, as imagens passam por um filtro para diferenciar os valores dos pixels referentes à planta dos pixels do ambiente. Dessa forma os pixels da imagem passam a apresentar apenas dois valores distintos: zero para pontos não referentes as folhas e um para pontos das folhas. Em seguida, a imagem é transformada em uma matriz, assim como o arquivo texto com as temperaturas. Multiplicando-se a matriz da imagem com a matriz das temperaturas, as temperaturas referentes aos pontos da planta são obtidas. Com estes dados, o programa realiza os cálculos para obter dados como a temperatura média, temperatura máxima e mínima.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para testar o programa de captura de imagens, foi desenvolvido um experimento onde a câmera foi posicionada entre algumas colunas de arroz em uma casa de

vegetação. Como o programa capturava uma imagem a cada cinco minutos, as mesmas colunas foram observadas durante variados horários do dia. Devido à natureza do teste ser apenas para verificação do funcionamento do dispositivo, foram feitas comparações apenas com relação ao posicionamento da câmera (JONES, 2009). Como resultado deste procedimento, foram obtidas algumas fotos e seus respectivos arquivos textos. Ao capturar imagens das colunas de arroz (Figura 2), é possível perceber visualmente a diferença entre os pixels referentes às folhas das plantas com o resto do ambiente.

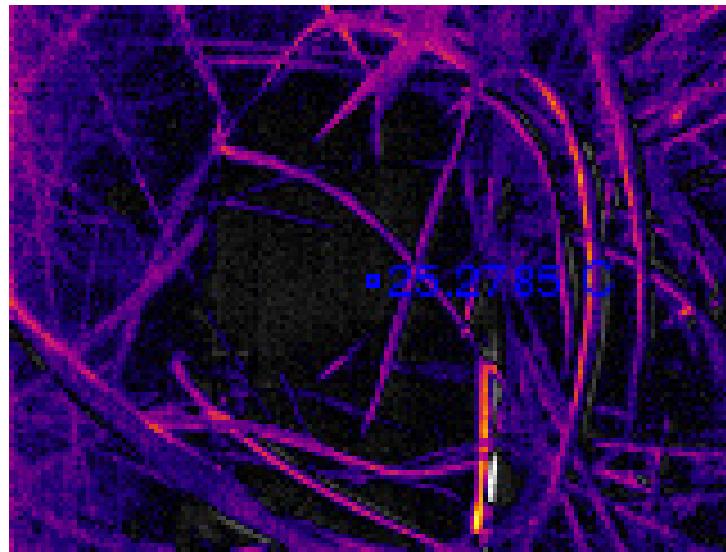


Figura 2 – Imagem térmica de colunas de arroz

Fonte: (Própria, 2019)

O sensor, capta a radiação infravermelha refletida e emitida pela planta, e de acordo com uma lei da Física (Stefan-Boltzmann) que afirma que a quantidade de radiação emitida depende diretamente da temperatura do objeto, e produz uma imagem que diferencia a coloração dos pixels de acordo com a radiação recebida. Logo, o padrão de cores da imagem se deve por conta da radiação infravermelha e consequentemente pela temperatura. Ao detectar a diferença de temperatura entre as folhas das plantas e o resto do ambiente, cria um padrão de cor que depende da quantidade de radiação infravermelha que cada objeto emite. Nesse caso, a temperatura cresce de acordo com a cor passando de cores mais escuras para mais claras. Juntamente com a imagem, um arquivo texto (Figura 3) é criado tomando como base os dados captados pelo sensor. A partir destes dados, a temperatura correspondente é calculada e armazenada para cada ponto da imagem.

```
25,907810 25,821003 25,669102 25,821003 25,821003 25,690800 25,625706 25,582310
25,669102 25,625706 25,604008 25,712498 25,582310 25,604008 25,647404 25,690800
25,690800 25,604008 25,560596 25,647404 25,473804 25,560596 25,560596 25,560596
25,625706 25,647404 25,604008 25,517200 25,690800 25,755909 25,799305 25,951206
25,495502 25,582310 25,538898 25,452106 25,473804 25,495502 25,669102 25,604008
25,560596 25,517200 25,495502 25,517200 25,560596 25,538898 25,538898 25,604008
25,517200 25,538898 25,517200 25,495502 25,560596 25,495502 25,517200 25,517200
26,146503 25,712498 25,452106 25,517200 25,517200 25,560596 25,495502 25,517200
25,647404 25,712498 25,842701 25,712498 25,842701 25,842701 25,821003 25,842701
25,864399 25,821003 25,755909 25,842701 25,842701 25,886097 25,907810 25,799305
25,755909 25,734196 25,625706 25,604008 25,473804 25,452106 25,582310 25,690800
25,712498 25,669102 25,669102 25,625706 25,538898 25,538898 25,560596 25,712498
25,647404 25,625706 25,582310 25,582310 25,560596 25,712498 25,712498 25,604008
25,821003 25,777607 25,799305 25,604008 25,799305 25,734196 25,755909 25,647404
25,495502 25,538898 25,669102 25,604008 25,625706 25,712498 25,690800 25,669102
25,560596 25,582310 25,647404 25,886097 25,734196 25,821003 26,059696 25,864399
25,907810 25,777607 25,755909 25,777607 25,712498 25,777607 25,669102 25,582310
25,755909 25,712498 25,647404 25,647404 25,582310 25,582310 25,690800 25,712498
25,582310 25,560596 25,495502 25,517200 25,538898 25,560596 25,560596 25,517200
```

Figura 3 – Corte do arquivo texto com as temperaturas

Fonte: (Própria, 2019)

Apesar da quantidade de casas após a vírgula, a precisão do sensor e da natureza dos experimentos, apenas as três primeiras casas foram consideradas. Essa quantidade deve-se por conta dos cálculos efetuados durante o programa de captura de imagens que armazena os valores de cada pixel e depois os transforma em temperaturas na escala Celsius. Posteriormente, a foto é processada pelo programa em linguagem Python para fornecer as informações mais gerais sobre as folhas avaliadas. Como resultado, foi entregue uma nova imagem com os marcadores de temperatura máxima e mínima e dois arquivos textos: um deles com apenas os valores de temperatura referentes aos pontos das folhas presentes na imagem, e o outro com os dados estatísticos calculados e os dados coletados pelos sensores acoplados ao Arduino. Na imagem processada (Figura 4), o marcador em vermelho, inicia a partir do canto superior esquerdo e vai até o ponto de temperatura máxima encontrado nas folhas. Já o marcador em amarelo, parte do canto superior esquerdo e vai ao ponto de temperatura mínima.

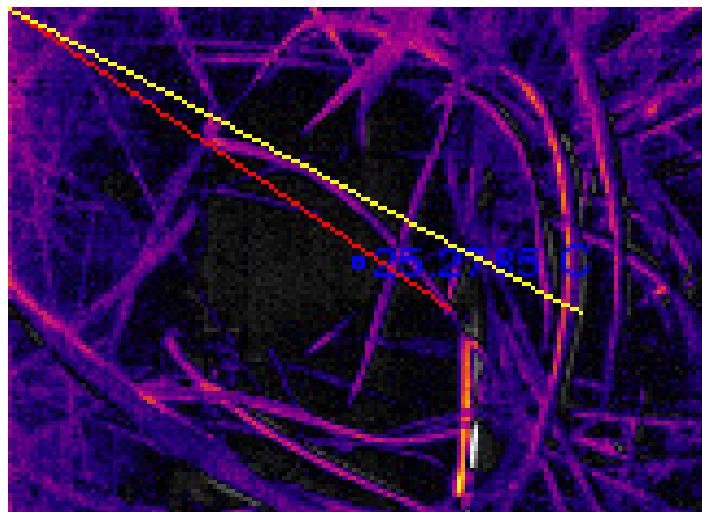


Figura 4 – Imagem final com marcadores

Fonte: (Própria, 2019)

Para esta imagem, a temperatura máxima detectada nos pontos referentes às folhas foi 26,04°C, e a temperatura mínima foi de 24,95°C. Logo, a amplitude de temperatura ao longo dos pontos avaliados foi de 1,09°C. Levando em conta a precisão da câmera térmica usada, aproximadamente 0,1°C, a variação de temperatura pode ser aproximada para 1°C. Quanto à temperatura média dos pontos das folhas, o valor encontrado foi de 25,47°C, o que é uma medida aceitável por estar próximo do valor médio da amplitude de temperatura. Para questão de comparação, a temperatura do ar no momento da captura da imagem era de aproximadamente 23,9°C.

CONCLUSÕES

Observando os resultados obtidos e as especificações dos componentes, a câmera térmica usada apresenta diferentes campos de visão dependendo da posição em que é colocada (JONES, 2009). Para a aplicação usada, a melhor posição para obter uma maior área das folhas da copa é de um ponto superior à planta, pois como as folhas do arroz possuem uma espessura pequena, uma imagem lateral não traria uma quantidade significativa de pontos da superfície das folhas. Dessa forma, além de aumentar a quantidade de pontos da imagem referentes às folhas, pode-se alterar a altura do dispositivo em relação às plantas, fazendo com que a foto seja tirada de uma região com mais de uma amostra.

Este dispositivo foi construído a partir de uma câmera térmica de baixo custo e de algumas peças eletrônicas de fácil acesso, logo o uso desse tipo de equipamento torna-se bastante viável para os mais variados grupos de pesquisa nacionais. Por basear-se no uso de imagens térmicas o dispositivo pode fornecer informações

em vários assuntos referentes a agricultura como alguns fenótipos de plantas, a presença de pragas ou doenças e a presença de falhas de irrigação em plantações.

Foi mostrado o seu uso em casa de vegetação para obter a temperatura de cada folha e assim ter a temperatura média do dossel da planta e poder avaliar cada uma se tem algum estresse hídrico ou se está sendo injuriada por alguma praga. Ajustando alguns parâmetros e posicionando o dispositivo em um drone ou em algum suporte móvel, ele pode também ser aplicado para obter informações no campo. Uma forma de tornar o dispositivo ainda mais portátil e de fácil acesso, é transformar os programas desenvolvidos em um aplicativo para smartphones e usar como câmera térmica o próprio equipamento FLIR ONE (ver <https://www.flir.com/flirone>). Dessa forma, a resolução das imagens obtidas será muito maior e o uso dessa ferramenta se tornará mais acessível. Com essa ferramenta presente em um telefone celular, todo o processo de captura de imagens e processamento de dados se tornaria mais rápido e intuitivo, pois com o aplicativo essas duas etapas seriam feitas de forma simultânea. Logo, o produto final pode ser modelado pelo próprio usuário mediante a sua necessidade.

REFERÊNCIAS

- SOUSA, C. A. F. et al. Nova abordagem para a fenotipagem de plantas: conceitos, ferramentas e perspectivas. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 8, p. 660-672, 2015.
- JONES, Hamlyn G. et al. Thermal infrared imaging of crop canopies for the remote diagnosis and quantification of plant responses to water stress in the field. **Functional Plant Biology**, v. 36, n. 11, p. 978-989, 2009.
- MUNNS, Rana et al. New phenotyping methods for screening wheat and barley for beneficial responses to water deficit. **Journal of experimental botany**, v. 61, n. 13, p. 3499-3507, 2010.
- FLIR Proprietary-Confidential e FLIR LEPTON. Long Wave Infrared (LWIR) Datasheet.
- Arduino. Arduino Nano. Disponível em: <https://store.arduino.cc/usa/arduino-nano>. Acessado em: 19 de mar. de 2019.
- FLIR. FLIR ONE | FLIR Systems. Disponível em: <https://www.flir.com/flirone>. Acessado em: 06 de fev. de 2019.
- Costa, Miguel & García-Tejero, I.F. & Chaves, M. (2013). O uso da termografia na agricultura moderna. Revista da Associação Portuguesa de Horticultura (APH). 113. 30-34.

CONTRIBUIÇÕES DAS ATIVIDADES INVESTIGATIVAS: A LUDICIDADE A FAVOR DO EXPERIMENTAL E NA FORMAÇÃO DOS PROFESSORES

Data de aceite: 14/02/2020

Marcos de Oliveira Rocha

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica (ProfBio) – Cidade Universitária – Ilha do Fundão - Rio de Janeiro – R.J.

Eliane de Oliveira Ferreira

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia Paulo De Góes (IMPPG) - Departamento de Microbiologia Médica – Cidade Universitária – Ilha do Fundão – Rio de Janeiro – R.J.

RESUMO: O ensino de Biologia é marcado por um ensino tradicional, conteudista e descontextualizado com a realidade dos alunos. Uma ferramenta capaz de romper com esse método de ensino são os jogos didáticos, por apresentar um caráter educativo e lúdico que facilita o processo de ensino aprendizagem. Este trabalho pretendeu avaliar como a interdisciplinaridade pode contribuir para o aprendizado da microbiologia no ensino médio, por meio do desenvolvimento de um jogo didático. Para isso realizou-se uma análise por meio de questionários com os alunos antes e após a aplicação de um jogo didático de tabuleiro interdisciplinar denominado de “Microlabore”. Com a análise dos questionários

percebemos que 96% os alunos acreditam que os jogos didáticos podem ser uma excelente ferramenta motivadora no processo de ensino-aprendizagem. Os alunos destacaram ainda os principais motivos pelo desinteresse no ensino de Biologia: o vasto conteúdo em pouco tempo; a ausência de laboratório deixando o ensino mais abstrato e uma predominância de aulas expositivas com falta de recursos e tecnologias. Percebeu-se que o jogo promoveu a interação e o aprendizado da turma, diante das situações relacionadas a Microbiologia onde todos os alunos consideraram o jogo didático importante e que poderia ser usado nas salas de aulas. O jogo didático “microlabore” foi capaz de suprir as necessidades do professor no desenvolvimento de ferramenta interdisciplinar, de baixo custo, fácil aplicabilidade e de fácil entendimento, que estimulou o raciocínio lógico, a cooperação, a interação e o aprendizado em sala de aula acerca dos conceitos em Microbiologia.

PALAVRAS-CHAVE: Microbiologi; Ensino de Biologia; Jogos Didáticos; Lúdico; Interdisciplinaridade.

CONTRIBUTIONS FROM RESEARCH ACTIVITIES: PLAY FOR THE EXPERIMENT AND FOR TEACHER TRAINING

ABSTRACT: The teaching of biology is marked by a traditional teaching, content and decontextualized with the reality of students. A tool capable of breaking with this teaching method is the didactic games, because they have an educational and musical character that facilitates the teaching-learning process. This study aimed to evaluate how interdisciplinarity can contribute to the learning process of the Microbiology in high school, through the development of a didactic game. For this, an analysis was performed through questionnaires with students before and after the application of an interdisciplinary board game called "Microlabore". With an analysis of the perceived questionnaires, 96% of students affirmed that games can be an excellent motivating tool in the teaching-learning process. The students also highlighted the main reasons for disinterest in the teaching of Biology: the vast content in a short time; the lack of laboratory leaving the most abstract teaching and a predominance of lectures lacking resources and technologies. It was noticed that the game promoted interaction and the learning of the subject, given the situations related to Microbiology where all students considered the didactic game important and could be used in the classroom. The "Microlabore" didactic game was able to support the teacher as interdisciplinary tool development, with low cost, easy to apply and easy to understand and, to stimulate logical thinking, cooperation, interaction and learning in the classroom. Microbiology.

KEYWORDS: Microbiology; Biology lecture; Educational Games; Playful; Interdisciplinarity.

1 | INTRODUÇÃO

Devido ao crescimento da sociedade mundial ao longo das últimas décadas, a organização educacional tem permitido às modificações, que se fazem necessárias, com o intuito de realizar aperfeiçoamento e melhorias nessa área, baseados em situações-problemas, com conteúdos contextualizados de acordo com a realidade dos alunos, visando uma melhora no processo de ensino e de aprendizagem. (NETO, 2018; OLIVEIRA, 1999).

Assim, para ensinar e aprender em Ciências Biológicas é também referendada os Parâmetros Curriculares Nacionais (PCN) (BRASIL, 1998) ao considerar que é fundamental no processo de ensino e de aprendizagem: "O incentivo aos esforços de curiosidade, de respeito à diversidade de opiniões, à persistência na busca e compreensão das informações às provas obtidas, de valorização da vida, de preservação do ambiente, de apreço e respeito à individualidade e à coletividade". Para que o ensino de Ciências Naturais possa se relacionar com a aprendizagem de forma significativa, clara e motivadora, o professor precisa deixar de ser um mero

reprodutor de conceitos ou um grande organizador das classificações biológicas e passar a investigar o que pensam os alunos; avaliar suas experiências e analisar os seus argumentos no cotidiano e vivências culturais (BOAS *et al*, 2018; NETO, 2018; OLIVEIRA, 1999).

As características relacionadas aos microrganismos (bactérias, fungos, protozoários e vírus) e as doenças causadas pelos mesmos fazem parte dos conteúdos abordados no Ensino Médio pela disciplina de Biologia, na Educação Básica (RIO DE JANEIRO, 2012). Nesse contexto, torna-se imprescindível a utilização de uma variedade de atividades para que os alunos possam efetivamente aprender, e que os professores possam conhecer muitas técnicas e recursos disponíveis. Diante disso, o professor tem ao seu dispor inúmeras ferramentas educacionais que pode auxiliar na compreensão dos conteúdos específicos das Ciências Biológicas (BOAS *et al*, 2018; SANMARTI, 2002). Esse presente trabalho apresenta um jogo educacional interdisciplinar como proposta de melhorias no processo de ensino e de aprendizagem, para os alunos no ensino médio, na área de Microbiologia.

1.1 O problema e a sua contextualização

o Sistema Educacional Brasileiro ainda carece de novas formas de ensino e aprendizagem direcionadas para às áreas de Ciências Biológicas e, principalmente, voltados para à área de Microbiologia. O ensino de Ciências e Biologia ainda é visto em muitas salas de aulas como um ensino tradicional, expositivo e dialogado, onde o professor tem a sua disposição somente o quadro, o giz e o livro didático. Além do mais observa-se nas aulas uma fragmentação do ensino, longe da realidade dos alunos e sem conexão com o que é aprendido em diferentes disciplinas. Por sua vez, os professores ficam muito preocupados com o cumprimento das ementas e do currículo escolar, sendo poucos o que buscam adotar novas metodologias para o ensino. Dentre os relatos de dificuldades os professores destacam a falta de tempo para o planejamento devido a carga horária excessiva e falta de suporte e estrutura dentro das escolas. (CRUZ *et al*, 2019; MORAES *et al*, 2018; PAIXÃO *et al*, 2017).

Diante do cenário atual na Educação, ainda carecemos de novas metodologias inovadoras, investigativas, participativas, e de baixo custo e fácil aplicabilidade para o ensino e a aprendizagem das Ciências Biológicas, direcionadas para os estudantes no Ensino Médio. Diversos autores têm descrito suas experiências com essas características em sala de aula, envolvendo atividades direcionadas ao ensino de microbiologia. Um dos recursos que acabam suprindo a necessidade dos professores são os jogos didáticos (BOAS *et al*, 2018; CRUZ *et al*, 2019; MORAES *et al*, 2018; SANTOS e PINTO, 2019).

1.2 Os jogos didáticos

O jogo didático é uma excelente ferramenta que pode suprir as necessidades do professor, apesar de ser muito conhecido e pouco compreendido na prática. Os jogos didáticos são definidos como:

[...] de acordo com Zanon, Guerreiro e Oliveira (2008) os jogos podem ser considerados educativos se desenvolverem habilidades cognitivas importantes para o processo de aprendizagem, tais como: resolução de problemas, percepção, criatividade, raciocínio rápido, entre outras habilidades. Se o jogo, desde seu planejamento, for elaborado com o objetivo de atingir conteúdos específicos e para ser utilizado no âmbito educacional podemos denominá-lo de jogo didático (VENERI, 2008).

Existem diferentes tipos de jogos e aplicabilidades, porém segundo LARA (2004), podemos diferenciar-los em quatro tipos principais, que estão relacionados no quadro 1.

Tipo de Jogos	Características Gerais	Exemplos
Jogos de Construção	São aqueles que trazem aos educandos um assunto desconhecido, em que o aluno possa fazer novas buscas, na resolução desse problema.	Jogos utilizados na construção do aprendizado, despertando a curiosidade e levando o educando na busca de novos conhecimentos.
Jogos de Treinamento	Nesse tipo de jogo, apesar de que mesmo o educando o ter construído com o seu pensamento, ele precisará exercitá-lo e praticá-lo	Jogo educativo que, nessa modalidade, serve para o educando aumentar a autoconfiança e familiarização com o mesmo.
Jogos de Aprofundamento	Podem ser explorados, depois de ser construído ou trabalhado, determinados assuntos.	Aplicados em determinados assuntos, para que os educandos nos apliquem em situações de jogos.
Jogos Estratégicos	Jogos que fazem com que o/a aluno/a criar estratégias de ação, para uma melhor atuação como jogador/a, para que possa ainda criar hipóteses e desenvolver um pensamento sistêmico.	Exemplos: damas, xadrez, <i>freecell</i> , Batalha Naval, Campo Minado e muitos outros.

Quadro 1 - Principais tipos de jogos didáticos. (Fonte: LARA (2004)

Todo jogo deve ser analisado pelo professor antes de ser aplicado com os alunos. Ainda, acrescenta Lara (2004), em que não se possa tornar o jogo como obrigatório e em que o fator sorte não interfira nas jogadas, ou seja, o que o jogo não tenha completamente o caráter competitivo. Dessa forma, como outra proposta de jogo educativo temos sua forma colaborativa, que permita ao que vencer aquele que descubra as melhores estratégias; estabelecer regras, que possam ser modificadas no decorrer do jogo; trabalhar as frustrações pela derrota para os jogadores, no sentido de minimizá-los; estudar o jogo antes de aplicá-lo e analisar as jogadas

durante e depois da prática.

Oliveira em 2001 e Pinto em 2019 afirmam que os jogos educacionais têm como principal objetivo possibilitar entretenimento por meio do interesse, diversão e satisfação, para o jogador, bem como propiciar o seu desenvolvimento sócio afetivo e cognitivo.

“Podem apresentar situações que contenham simulações, tutoriais ou sistemas inteligentes (...). Uma situação de jogo oferece aos usuários intensa interatividade, permitindo ampliar as relações sociais no ambiente de ensino, cativando o interesse dos alunos em relação a temas muitas vezes, difíceis de ser apresentados por outras abordagens. A essência do jogo educacional é a aprendizagem com prazer e a criatividade com diversão.” (OLIVEIRA, 2001, pág.81).

Nesse contexto, Oliveira (2001) acrescenta-nos que mesmo reconhecendo a comunicação como uma prerrogativa fundamental na interação humana; não se pode conceber à elaboração de materiais didáticos, como uma simples produção de conhecimentos “por parte de alguns e na recepção por parte de outros”.

Paixão et al (2019) relata a sua experiência na confecção de jogos didáticos nas aulas e monitoriais de microbiologia com o objetivo de despertar o interesse e o aprendizado satisfatório. Os autores confeccionaram um quebra cabeça como método lúdico e educativo na revisão dos conteúdos relacionados a microbiologia.

“O jogo pode ser considerado como um importante meio educacional para a aprendizagem de Microbiologia no ambiente escolar; como de propiciar um desenvolvimento dinâmico e coletivo, além de contribuir para a construção da autonomia, da criatividade, da responsabilidade e da cooperação entre os alunos” (CASTRO, 1974).

Souto (2015) relata a confecção de um outro tipo de jogo didático “Biocombat” inspirado em “Magic the Gathering”. É um jogo estratégico de cartas no estilo batalhas que foi utilizado como instrumento didático no ensino de conceitos associados ao Reino Monera, em especial as profilaxias e transmissão de patologias, trata. O jogo que teve a duração de uma hora, durou oito encontros e contou com a participação de sete (07) alunos do 2º ano do ensino médio.

Schneider (2019), realizaram uma categorização e quantificação na produção acadêmica referente à temática jogos, na área do Ensino de Química, nos artigos contemplados nos anais XVI, XVII e XVIII do Encontro Nacional do Ensino de Química. Observaram que em poucos trabalhos os alunos participavam na construção, desenvolvimento e aplicação dos jogos didáticos. Em relação a categorização a autora relatou:

“Através das categorizações, podemos concluir que os jogos didáticos mais utilizados entre os analisados, são aplicados para auxiliar os alunos na revisão, memorização e fixação, ou seja, para reforço de conteúdos químicos. Em segundo lugar, com maior quantidade, aparece a utilização de jogos para a construção do conhecimento químico, que tem como intenção a construção do conhecimento sobre determinado assunto. A utilização de jogos para abordagem temática com a intenção de um aprendizado mais significativo e a utilização de jogos como

instrumento avaliativo aparece em menor quantidade. E os jogos menos utilizados são aqueles aplicados para fins de pesquisa educacional" (SCHNEIDER, 2019).

Segundo o autor os jogos didáticos analisados eram mais voltados para o reforço de conteúdo químico. Silva *et al* (2016), realizou um levantamento na literatura dos principais temas em Biologia onde há mais produções de jogos didáticos. Percebeu-se que os temas de jogos mais produzidos são os que envolvem os conceitos de ecologia (13); Saúde (08); Evolução (07), entre outros. Em relação ao tipo de jogo verificou que existe uma maior produção de jogos de tabuleiros (16); eletrônico/virtual (10); Passa e repassa (06), entre outros tipos de jogos. Uma maior produção de jogos de tabuleiro está relacionada com uma maior familiarização com esse tipo de jogo, nas nossas casas e escolas.

"Um dos jogos educativos mais comuns ditos de azar, sem dúvida, nos remete aos jogos de tabuleiro, que já se torna muito comum nos meios não-formais. Atualmente, o jogo ganha um novo enfoque, também, nos ambientes formais de aprendizagem, pois está inserido e integrado aos currículos escolares deixando de ser uma atividade secundária e passando a fazer parte principal nos currículos escolares atuais. Nesse sentido, pode-se ponderar que há o interesse do professor em conhecer seus alunos, com relação ao seu desempenho na premissa em cumprir os objetivos propostos para determinado curso, matéria e série escolar". (CASTRO, 1974).

A proposta da utilização dos jogos didáticos na aprendizagem da Microbiologia está em consonância com os Parâmetros Curriculares Nacionais (PCN) Saúde e Meio Ambiente (BRASIL, 1997c). No volume do PCN temas transversais e ética (BRASIL, 1997b), as relações sociais são apresentadas em um cenário de hierarquização social, na medida em que boa parte da população não tem acesso aos direitos básicos.

Nesse sentido, pretende-se nesse trabalho desenvolver um jogo didático interdisciplinar voltados para os interesses dos alunos promovendo uma motivação, investigação e contextualização por meio de um jogo de tabuleiro e cartas. Além de ser um recurso pedagógico que atenda os interesses dos professores no ensino de Microbiologia.

2 | DESENVOLVIMENTO

Segundo Mendes (2016), Rocha (2016), Ruoso Moresco (2017), o conceito de microbiologia classicamente é definido como o ramo da biologia voltado para o estudo dos seres microscópicos. A palavra microbiologia provém da fusão das palavras gregas mikrós-, que significa pequeno, e –biologia, do grego bíos = vida + logos = estudo. No sentido literário significa estudo de pequenos seres vivos. Com base neste conceito, a microbiologia aborda um vasto e diversos grupos de organismos unicelulares patogênicos ou não de dimensões reduzidas, que podem

ser encontrados como células isoladas ou agrupados em diferentes arranjos. Assim, a microbiologia envolve o estudo de organismos procarióticos (bactérias, archaeas), eucarióticos (algas, protozoários, fungos) e também seres acelulares (vírus).

“ Os microrganismos têm grande importância para o nosso planeta, pela sua ação de decompositora de resíduos, pela biomassa que produzem, por serem empregados no preparo de alguns alimentos, por serem os responsáveis pela produção de energia em indústrias, em modelos de engenharia genética, ou pelo seu emprego no desenvolvimento de medicamentos voltados ao combate de infecções nocivas à saúde” (ROCHA, 2016).

Há muito tempo o ensino da microbiologia passou a ser considerado um tema fundamental relacionado às questões básicas, como a cidadania, envolvendo o meio ambiente; o cotidiano; a higiene; a saúde, a prevenção de doenças, dentre outros; favorecendo-se sua abordagem no cotidiano e no ambiente escolar, relacionando com a realidade dos alunos e não apenas no ensino superior ou laboratórios de pesquisa (PRADO *et al*, 2004).

Esse assunto é visto em muitas salas de aula, como um assunto abstrato onde os alunos só aprendem que os microrganismos são seres patogênicos e maléficos aos seres humanos, desconsiderando os benefícios desses microrganismos para a sociedade. Tal fato pode ser explicado pela má formação dos professores, ou ainda pelo distanciamento entre a academia e a sociedade, onde observa-se um certo distanciamento do currículo escolar em relação ao que é ensinado nas escolas e o que é pesquisado nos centros de pesquisas em microbiologia (ANTUNES; PILEGGI; PAZDA, 2012).

“Alguns aspectos não menos importantes devem ser considerados no ensino da microbiologia como o uso indiscriminado de antibióticos no tratamento de doenças, em rações animais e na agricultura ocasionando um aumento assustador no número de linhagens resistentes a estas drogas. Este fato, aliado aos avanços tecnológicos responsáveis pela facilidade de transporte de um microrganismo de um extremo a outro do planeta, são circunstâncias que obrigam o professor a uma nova postura perante as questões inerentes ao mundo microbiano” (CARVALHAL, 1997).

2.1 Os processos didáticos de aprendizagem envolvendo os jogos didáticos: as teorias educacionais

Os jogos educativos podem facilitar e acelerar o processo de ensino-aprendizagem e ainda podem propiciar o prazer, o interesse e os desafios. Os jogos podem ser um excelente recurso utilizado de forma didática ou estratégia de ensino inovadora para os educadores e também como uma rica forma instrumental na construção do conhecimento (LARA, 2004; PANOSO, SOUZA e HAYDU, 2015).

Lara (2004), afirma que os jogos educativos têm ganhado espaço dentro do ambiente escolar, na tentativa em trazer o lúdico para o espaço formal da sala de aula. Nesse contexto, pode-se tornar possível nessa pretensão de que a possibilidade do

uso dos jogos didáticos pelos professores, vêm ao encontro em tornar as aulas mais agradáveis; no intuito em tornar a aprendizagem mais significativa e atrativa. Além disso, as atividades lúdicas podem tornar-se uma estratégia motivadora no estímulo ao raciocínio, levando o aluno a enfrentar situações novas de desafios relacionadas com o seu cotidiano.

Os jogos bem construídos e elaborados podem ser vistos como uma estratégia motivadora de aprendizagem, podendo inserir vários objetivos que “variam desde o simples treinamento, até a construção de um determinado conhecimento”, confirmamos (LARA, 2004; PANOSO, SOUZA e HAYDU, 2015).

“A aprendizagem através de jogos, como dominó, palavras cruzadas, memória e outros permite que o aluno faça da aprendizagem um processo interessante e até divertido. Para isso, eles devem ser utilizados ocasionalmente para sanar as lacunas que se produzem na atividade escolar diária. Nesse sentido, verificamos que há três aspectos que por si só justificam a incorporação o jogo nas aulas. São estes: o caráter lúdico, o desenvolvimento de técnicas intelectuais e a formação de relações sociais”. (GROENWALD e TIMM (2002) citado por LARA (2004, p.23).

Temos ainda vários jogos de caráter virtual alavancados pelo computador, que ajudam no desenvolvimento do pensamento e do raciocínio; e ainda, nas questões de ciências, de escrita, físicas, psicológicas, dentre outras. Atualmente, temos vários jogos educacionais e diferentes formatos LARA (2004; CARVALHO *et al*, 2016) Ramos e Marques (2007, *apud* GRANDO, 2000) destaca entre muitas outras, algumas das vantagens da utilização de jogos educativos:

Consolidação, de uma forma motivadora, de conceitos já aprendidos; Aprendizagem de conceitos de difícil compreensão; Desenvolvimento de estratégias de resolução de problemas; Tomada de decisões e sua avaliação; dar significado a conceitos incompreensíveis; interdisciplinaridade; participação ativa dos alunos nos seus processos de aprendizagem; incremento da socialização entre os alunos e consciencialização para a importância do trabalho em equipe; a utilização dos jogos, em contexto educativo, é um fator de motivação para os alunos; a utilização de jogos favorece o desenvolvimento da criatividade, de senso crítico, da participação, da competição saudável, da observação, das várias formas de uso da linguagem e recuperação do prazer em aprender; ao utilizar jogos pode-se reforçar ou recuperar habilidades de que os alunos necessitem. As atividades com jogos permitem ao professor identificar e diagnosticar alguns erros de aprendizagem, as atitudes e as dificuldades dos alunos (Grando, 2000).

Segundo Valente (1993) a pedagogia que está alinhada com os jogos educativos é a de “exploração auto-dirigida” ao invés da “instrução explícita e direta”. Esta última teoria de ensino apregoa a ideia de que: “a criança aprende melhor quando ela é livre para descobrir relações por ela mesmo, ao invés de ser explicitamente ensinada”.

2.1.1 Aprendizagem como proposta de vygotsky

Segundo Vygotsky (apud ROLIM, GUERRA e TASSIGNY, 2008, p.177).

"O brincar relaciona-se ainda com a aprendizagem. Brincar é aprender; na brincadeira, reside a base daquilo que, mais tarde, permitirá à criança aprendizagens mais elaboradas. O lúdico torna-se, assim, uma proposta educacional para o enfrentamento das dificuldades no processo ensino-aprendizagem".

Nessa perspectiva, temos a impressão de que a brincadeira nem sempre está associada à ludicidade e nem tão pouco à aprendizagem; mas que na verdade não corresponde a nossa realidade inventiva na construção dos conhecimentos. Santos (2011, p.12) afirma que:

"A ludicidade é uma necessidade do ser humano em qualquer idade e não pode ser vista apenas como diversão". O desenvolvimento do aspecto lúdico facilita a aprendizagem, o desenvolvimento pessoal, social e cultural [...], facilita os processos de socialização, comunicação, expressão e construção do conhecimento" (SANTOS, 2011, p.12).

Para Vygotsky (1998), em comparação com a afirmação de Santos (2011), a ludicidade se relaciona diretamente com a aprendizagem. Brincar é aprender. O lúdico torna-se nesse caso uma proposta educacional muito importante, para dirimir os entraves que ocorrem no processo de ensino e de aprendizagem (ROLIM, GUERRA & TASSIGNY, 2008).

2.1.2 Aprendizagem como proposta de piaget

Nos processos gerais de Piaget, a assimilação e a acomodação; na forma de inteligência sensório-motora reflete-se como em sua capacidade em desenvolver uma atividade assimiladora que permite a incorporar e acomodar os objetos exteriores e esquemas, tendo em vista um equilíbrio estável entre a assimilação e a acomodação (NEGRINE, 1994). Sá e Santin Filho (2017), caracterizou o aprendizado segundo Piaget:

"Caracterizou-se então diferentes níveis de um percurso sobre um dado conhecimento, percurso este que parte da noção de algo mais simples que caminha para a noção de algo mais complexo, o que se constitui nos Estadios de Desenvolvimento. Nessa perspectiva, tinha-se conhecimento de como uma criança passa de um nível de desenvolvimento a um nível seguinte, bem como a razão dos diferentes níveis na construção de um número muito grande de noções".

2.2 Importância da construção de jogos educacionais como aliada das atividades investigativas

Para a definição do que é um jogo, podem-se ter várias situações que as definam, porém, o foco aqui é o jogo na educação. Em associação, a etimologia da

palavra “lúdico” origina-se de “ludus” que nos interpõe o significado de “jogo”.

Nesse contexto, Antunes (2007) complementa que:

“[...] do ponto de vista educacional, a palavra jogo se afasta do significado de competição e se aproxima de sua origem etimológica latina, com o sentido de gracejo ou mais especificamente divertimento, brincadeira, passatempo. Desta maneira, os jogos infantis podem até excepcionalmente incluir uma ou outra competição, mas essencialmente visam estimular o crescimento e aprendizagem [...] (ANTUNES, 2007, p. 9).

A partir do exposto anteriormente, podemos perceber que um jogo didático, no que se refere aos seus aspectos gerais, também pode ser considerado educativo; pois envolve ações lúdicas, cognitivas, sociais, dentre outros, mas nem sempre um jogo que é educativo pode ser considerado um jogo didático. Isso, portanto, não minimiza nem exclui a ação e importância de ambos.

Dessa maneira, a adoção de novas metodologias de ensino e de instrumentos pedagógicos se faz necessária, com a finalidade de tornar o estudo desses conceitos abstratos de forma mais atrativa e dinâmica. Como afirma-nos Marcelino (1987):

“Recuperar o lúdico na perspectiva que proponho, significa, entre outros procedimentos, uma prática pedagógica que relate a necessidade de vivenciar todo o processo de mudança do futuro, através da ação no presente, e a necessidade de vivenciar todo o processo de mudança, sem abrir mão do prazer” (MARCELINO, 1987).

2.3 A inter e transdisciplinaridade na aprendizagem da microbiologia médica através de jogos educacionais e sua contextualização

A interdisciplinaridade surgiu na metade do século XX com a necessidade de superar a fragmentação e o caráter de especialização do conhecimento. No Brasil a preocupação em torno da interdisciplinaridade surgiu por volta dos anos setenta. É definido como a integração entre duas ou mais disciplinas ou áreas do conhecimento para um fim comum. É uma abordagem metodológica que integra conceitos, teorias e fórmulas na tentativa de compreender o objeto de estudo como um fenômeno sistêmico. Alguns autores consideram a interdisciplinaridade como alternativa em romper com visão da ciência fragmentada em áreas (NOGUEIRA e CINTRA, 2018).

Nogueira e Cintra (2018) realizaram um estudo para saber a concepções de um grupo de professores sobre interdisciplinaridade e os professores relataram as dificuldades em relação a implementação nas escolas:

“Além disso, as dificuldades em sua implementação estão associadas à carência de professores com formação na área específica de educação (a existência dessa formação daria mais segurança para a equipe que pretende desenvolver um projeto interdisciplinar), à escassez de tempo, à formação tradicional, à falta de referenciais de metodologias interdisciplinares e, principalmente, à resistência em quebrar com o paradigma disciplinar (talvez reflexo de uma formação disciplinar

que proporciona segurança ao professor para lecionar somente a disciplina na qual se formou (NOGUEIRA, 20118).

Dados semelhantes também foram obtidos por Caldeira e Augusto (2007) onde os professores Ciências da Natureza relatam as dificuldades de se trabalhar de forma interdisciplinar nas escolas estaduais do ensino médio (Figura 2).



Figura 1 - Diagrama mostrando a integração possibilitada entre as disciplinas ou inter transdisciplinaridade

Fonte:google/imagem de domínio público

3 | METODOLOGIA

A metodologia empregada tem o caráter empírico-dedutiva com aplicações práticas desenvolvidas em várias etapas. São elas:

3.1 Etapas da pesquisa

Etapa 1: Foi realizada uma aula tradicional teórica, expositiva e dialogada sobre Microbiologia, onde o professor utilizou o quadro branco e o livro didático. Durante as explicações orais do professor foram abordadas as principais características do reino monera; a história da microbiologia; as principais doenças; os métodos profiláticos; o tratamento; e a importância desses seres vivos para o meio ambiente e para a população, que fazem parte do Currículo Básico da Secretaria Estadual de Educação do Estado do Rio de Janeiro (SEEDUC/RJ) e que eram abordados nos livros didáticos da escola.

Etapa 2: Os alunos foram apresentados a proposta do projeto de pesquisa. Foi realizado a aplicação de um questionário pré-teste (Apêndice A), com sete (07) perguntas previamente elaboradas pelo professor com cunho quantitativo. O

questionário prévio tinha o objetivo de caracterizar o grupo focal, em relação a idade e ao gênero; saber a opinião dos alunos em relação ao poder transformador da educação; como eles veem o ensino de biologia; se os jogos didáticos poderiam motivar os alunos em relação a aprendizagem; e o principal motivo pelo desinteresse dos alunos nas aulas de biologia.

Etapa 3: Nesta etapa foi apresentado e aplicado o jogo didático “Microlabore”, por meio de uma demonstração e explicação do protótipo do jogo de tabuleiro, as principais casas encontradas no tabuleiro; a diferença entre os tipos de cartas; a composição; as regras e os aspectos gerais do jogo didático. Os alunos foram divididos em grupos de quatro componentes para que pudessem interagir melhor durante o jogo.

3.2 Construção do jogo de tabuleiro interdisciplinar “microlabore”

o jogo de tabuleiro interdisciplinar foi construído na forma de um tabuleiro simples, com o uso do software *Microsoft Power Point (ppt)* da Microsoft® como proposta lúdica de apresentação dos conceitos teóricos básicos da microbiologia destinados aos alunos do 2º ano do ensino médio, de forma interdisciplinar destinado.

O jogo foi confeccionado com objetivo ser de baixo custo, fácil aplicabilidade e fácil entendimento, a qualquer aluno e professor. O jogo didático apresenta um caráter interdisciplinar, onde se relaciona com outras disciplinas comuns ao ensino médio para promover uma maior interação e contextualização do conteúdo. Todas as disciplinas envolvidas na realização do jogo, tem uma pergunta com resposta efetiva, como por exemplo: “Biologia – Qual a bactéria causadora da peste bubônica e quais são os seus sintomas? ”; “História – Em que período histórico ocorreu a “Grande Peste? ”; “Geografia – Quais os países europeus atingidos pela “Grande Peste? ” “Matemática – Qual a estimativa do número de habitantes mortos?

Assim, como proposta de eixo temático abrangeá o papel dos microrganismos com a saúde humana; a Microbiota benéfica e saudável do organismo, dentre outros assuntos.

O jogo de tabuleiro “Microlabore” é composto pelas seguintes peças: 01 Tabuleiro, 01 Baralho com três tipos de cartas, 04 Peões e 01 Dado. O jogo de tabuleiro interdisciplinar, será composto por três tipos de casas ao longo da trilha denominadas de: Recordando; Mito ou Verdade e Desafio, além das casas de início e fim. Cada naipe de cartelas conterá com informações que viabilizem o tema central proposto para o jogo, incluindo perguntas interdisciplinares, onde cada disciplina possa contribuir com perguntas e respostas voltadas para o tema central e inseridas nos eixos temáticos destacados no quadro 2. Como por exemplo, a disciplina de Artes que poderá abordar a construção de painéis, jogos didáticos, cartazes e pinturas sobre a vida dos micróbios.

O tabuleiro que compõe o jogo (Figura 3) foi desenvolvido com a utilização do *Microsoft Power Point*, por ser uma ferramenta de fácil acesso e utilização de todos os professores. As imagens foram obtidas por meio de um banco de imagens gratuito disponível na internet o Pixabay (<https://pixabay.com/pt/>). Sendo composta por uma casa de início e fim; e três tipos de casas ao longo da trilha denominadas de: Recordando; Mito ou Verdade e Desafio.



Figura 2 - Modelo do tabuleiro para uso no Jogo Didático “Microlabore”.

3.3 As cartas auxiliares do jogo

o jogo como foi mencionado anteriormente é composto por três modelos de naipes de cartas com caráter interdisciplinar.

3.3.1 Cartas do naipe “Recordando”:

Esse naipe de cartas contém 20 perguntas sobre a história e os marcos da microbiologia (Figura 4). Aborda-se ainda as teorias da biogênese e da biogênese; as primeiras observações sobre os microrganismos; a linha do tempo da microbiologia, destacando os personagens internacionais e brasileiros que contribuíram para o avanço da microbiologia. Onde o aluno encontra duas opções para acertar a resposta correta.

	<p>RECORDANDO:</p> <p>Alguns cientistas acreditavam que os microrganismos se formavam espontaneamente a partir da matéria orgânica:</p> <p>(A) Biogênese (B) Abiogênese</p>
---	--

Figura 3 - Modelo da carta recordando presente no naipe do baralho.

3.3.2 *Cartas do naipe "Mito ou Verdade":*

Esse “naipe” de cartas contém 20 perguntas baseadas em mitos e notícias que circulam pela mídia sobre os temas que envolvem a área de microbiologia (Figura 5). Aborda-se ainda algumas curiosidades e fake news relacionadas a microbiologia. Os alunos terão que dizer se as afirmações são verdadeiras ou falsas.

	<p>Não tem problema deixar comida fora da geladeira, do almoço para o jantar, desde que a panela fique tampada.</p> <p>MITO</p> <p>VERDADE</p>
---	--

Figura 4 - Modelo da carta mito ou verdade presente no naipe do baralho.

3.4 As regras do jogo

O jogo de tabuleiro foi desenvolvido para jogar de 2 a 4 participantes. Para isso o professor deverá realizar a impressão do tabuleiro e das cartas que compõem o jogo didático. Ou ainda poderá realizar a projeção do jogo de tabuleiro com o uso de um computador e de um data show promovendo uma maior interação da turma podendo o professor dividir a turma em grupos. O jogo contém 3 tipos de cartas que estão com o mesmo nome que aparece no tabuleiro denominadas de recordando, mito ou verdade, e desafio.

Antes de começar, cada participante ou grupo deverá pegar 01 peão de cores

distintas e coloca-los na casa início do tabuleiro. Depois os jogadores devem decidir quem começará o jogo e lançar o dado. Cada jogador deve responder uma pergunta do tipo da casa sorteada pelo dado. Por exemplo, ao lançar o dado e cair o número três o aluno deverá responder a uma pergunta dessa casa sorteada. O jogador da sua esquerda retira uma carta do baralho e lê a pergunta.

Para uma maior agilidade do jogo poderá ser adotado o uso de um cronômetro ou de ampulheta de 30 segundos, para os alunos não demorarem muito nas respostas.

Se acertar ele deverá andar com o peão a quantidade de casas sorteadas no dado. Se errar fica parado até a próxima jogada, quando deve lançar novamente o dado e responder o tipo de pergunta sorteada.

Ganha o jogo quem chegar na casa fim primeiro respondendo a um tipo de carta, ficando a critério de escolha do jogador. Caso erre, o jogador permanecerá na casa e terá uma nova chance de responder à pergunta na próxima rodada.

Etapa 4: Após a aplicação do jogo didático, foi aplicado um segundo questionário pós-teste (Apêndice B), que tinha o objetivo de saber a opinião dos alunos sobre as vantagens do jogo testado; o que eles entendiam sobre interdisciplinaridade; a contribuição do jogo na aprendizagem sobre o conteúdo estudado e a sua reproduzibilidade em outras aulas. O questionário apresentou quatro (04) perguntas com cunho qualitativo que deveria ser respondido em grupos pelos mesmos componentes do grupo durante o jogo didático.

4 | CONCLUSÃO E DISCUSSÃO

O jogo didático pode ser considerado como uma importante ferramenta educacional para a aprendizagem de Microbiologia no ambiente escolar por propiciar uma aprendizagem interdisciplinar, investigativa, dinâmica e divertida. Além de colaborar para a construção da autonomia, da criatividade, da responsabilidade e da cooperação entre os alunos. O professor exerceu o papel de mediador no desenvolvimento do jogo com o intuito de garantir o aprendizado ao longo da atividade lúdica em sala de aula, destinado ao ensino de Microbiologia.

O jogo didático “Microlabore” pode suprir as necessidades do professor no desenvolvimento de ferramenta interdisciplinar, de baixo custo, fácil aplicabilidade e de fácil entendimento, que estimulou o raciocínio lógico, a cooperação, a interação e o aprendizado em sala de aula acerca dos conceitos em Microbiologia.

REFERÊNCIAS

ALENCAR, Gabriela Maciel et al. UTILIZAÇÃO DE JOGOS DIDÁTICOS NO PROCESSO DE ENSINO-APRENDIZAGEM EM BIOLOGIA. **Revista Aretél Revista Amazônica de Ensino de**

ANTUNES, Carlos Henrique; PILEGGI, Marcos; PAZDA, Ana Karla. Por que a visão científica da Microbiologia não tem o mesmo foco na percepção da Microbiologia no ensino médio. **Simpósio Nacional de Ensino de Ciência e Tecnologia**, v. 3, 2012.

BENJAMIN, Walter. **Reflexões: a criança, o brinquedo, a educação**. Editora Summus. São Paulo, 1984.

BÔAS, Rogério Custódio Vilas; JUNIOR, Antonio Fernandes Nascimento; DE SOUZA MOREIRA, Fatima Maria. Utilização de recursos audiovisuais como estratégia de ensino de Microbiologia do Solo nos ensinos fundamental II e Médio. **Revista Práxis**, v. 10, n. 19, 2018.

BRASIL, MEC. **Parâmetros Curriculares Nacionais**. MEC/SEF. Brasília. 1998.

BRASIL. Ministério de Educação e Cultura. **Lei de Diretrizes e Bases** - Lei nº 9394/96, de 20 de dezembro de 1996. Estabelece as diretrizes e bases da Educação Nacional. Brasília: MEC.

_____. Ministério da Educação e Cultura. **Secretaria de Educação Fundamental**. Parâmetros Curriculares Nacionais: terceiro e quarto ciclos do ensino fundamental. Ciências Naturais. Brasília: MEC/SEF, 1998. 6

CAMPOS, L. M. L.; FELICIO, A. K. C.; BORTOLOTTO, T. M. **A produção de jogos didáticos para o ensino de ciências e biologia: uma proposta para favorecer a aprendizagem**. Disponível em: Acesso em: 19 março. 2018.

CAMPOS, Luciana Maria Lunardi et al. A produção de jogos didáticos para o ensino de ciências e biologia: uma proposta para favorecer a aprendizagem. **Caderno dos núcleos de Ensino**, v. 47, p. 47-60, 2003.

CAPA, NOSSA. Alexander Fleming e a descoberta da penicilina. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 45, n. 5, 2009.

CARVALHAL, M.L.C. Projeto Microbiologia para todos. Disponível em: <http://icb.usp.br/%7Ebmm/jogos/geral.html>. Acesso em 22 08 2019

CARVALHO, Ana Amélia et al. Aspetos a considerar na criação de jogos educativos. **Carvalho, AAA; Cruz, S.; Marques, CG; Moura, A**, p. 510-518, 2016.

CASSANTI, A.C.; ARAÚJO, E.E.; URSI, S. **Microbiologia democrática: estratégias de ensino-aprendizagem e formação de professores**. Encyclopédia Biosfera., n.8, p.1-23. São Paulo, 2008.

CRUZ, Kercia Pinheiro et al. MICROBIOLOGIA NO COTIDIANO: PROPOSTA DE ENSINO POR INVESTIGAÇÃO DE BAIXO CUSTO. **Atas de Ciências da Saúde (ISSN 2448-3753)**, v. 7, n. 1, p. 82, 2019.

DA SILVA AUGUSTO, Thaís Gimenez; DE ANDRADE CALDEIRA, Ana Maria. Dificuldades para a implantação de práticas interdisciplinares em escolas estaduais, apontadas por professores da área de ciências da natureza. **Investigações em Ensino de Ciências**, v. 12, n. 1, p. 139-154, 2016.

DA SILVA, Karla Jayane de Freitas et al. A utilização de jogos didáticos no ensino biologia: uma revisão de literatura. 2016.

DE MORAIS, Fabrício Antônio; SANTOS, Luís Augusto Figueiredo; RIBEIRO, Ingridy Simone. USO DE MAQUETE DE PAPELÃO ONDULADO COMO PRÁTICA PEDAGÓGICA NO ENSINO DE MICROBIOLOGIA: Morfologia básica de bactérias. In: **10ª Jornada Científica e Tecnológica e 7º**

Simpósio da Pós-Graduação do IFSULDEMINAS. 2018.

DE OLIVEIRA, Natalia Carvalhaes et al. A produção de jogos didáticos para o ensino de biologia: contribuições e perspectivas. **Ciclo Revista**, v. 1, n. 2, 2016.

DOS SANTOS, Dara Barbosa; PINTO, Ana Carolina Matias Dinelly. UTILIZAÇÃO DE JOGOS DIDÁTICOS PARA O ENSINO EM MICROBIOLOGIA. **Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica (EEDIC)**, v. 4, n. 1, 2019.

EISENSTEIN, Evelyn. Adolescência: definições, conceitos e critérios. **Adolescência e Saúde**, v. 2, n. 2, p. 6-7, 2005.

FELICETTI, Vera Lucia; MOROSINI, Marília Costa. Do compromisso ao comprometimento: o estudante e a aprendizagem. **Educar em Revista**, n. 2, p. 23-43, 2010.

FERREIRA, V. **Educação Física. Recreação, jogos e desportos**. Rio de Janeiro: 3 edição. Sprint, 2010

FIALHO, N. N. **Jogos no Ensino de Química e Biologia**. 2 ed. Curitiba: Ibpex,2011. (coleção Metodologia do Ensino em Biologia e Química, v.8).

KOLB, D.A. **Experiential learning: experience as a source of learning and development**. New Jersey (E.U.A.): Prentice-Hall.1994.

LARA, Isabel Cristina Machado de. **Jogando com a Matemática de 5^a a 8^a série**. São Paulo. Rêspel, 2004.

MARCELINO, N. C. **Lazer e Educação**. Campinas, Papirus,1987.

MIRANDA, Jean Carlos; GONZAGA, Glaucia Ribeiro; COSTA, Rosa Cristina. Produção e avaliação do jogo didático “Tapa Zoo” como ferramenta para o estudo de zoologia por alunos do ensino fundamental regular. **HOLOS**, v. 4, p. 383-400, 2016.

MOREIRA, Maria Cristina Do Amaral et al. A interdisciplinaridade em produtos educacionais de um mestrado profissional em ensino de ciências. **Enseñanza de las ciencias: revista de investigación y experiencias didácticas**, n. Extra, p. 2559-2564, 2017.

NETO, Luiz Sodré; DE MEDEIROS, Ariane Dantas. Considerações sobre contextualização e interdisciplinaridade na abordagem da Microbiologia no novo Exame Nacional do Ensino Médio (ENEM). **Revista Ciências & Ideias ISSN: 2176-1477**, v. 9, n. 1, p. 88-100, 2018.

NOGUEIRA, Keysy Solange Costa; CINTRA, Elaine Pavini. A CONCEPÇÃO DE INTERDISCIPLINARIDADE DE UM GRUPO DE PROFESSORES. **Revista Eletrônica Científica Ensino Interdisciplinar**, v. 4, n. 10, p. 152-164, 2018.

OLIVEIRA, Celina Couto de: COSTA, José Wilson da; MOREIRA, Mercia. **Ambientes Informatizados de Aprendizagem – Produção e Avaliação de Software Educativo**. Campinas: Papirus, 2001.

OLIVEIRA, D.L. **Ciências nas salas de aula**. Editora Mediação. Porto Alegre, 1999.

OLIVEIRA, Murilo Alvarenga; SAUAIÁ, Antonio Carlos Aidar. Impressão docente para aprendizagem vivencial: um estudo dos benefícios dos jogos de empresas. **Administração: ensino e pesquisa**, v. 12, n. 3, p. 355-391, 2011.

PAIXÃO, Germana Costa et al. Paródias no ensino de microbiologia: a música como ferramenta pedagógica. 2017.

PANOSSO, Mariana Gomide; DE SOUZA, Silvia Regina; HAYDU, Verônica Bender. Características atribuídas a jogos educativos: uma interpretação Analítico-Comportamental. **Psicologia Escolar e Educacional**, v. 19, n. 2, p. 233-241, 2015.

PRADO, I.C.; RODRIGUES, T.G.; KHOURI, S. **Metodologia do ensino de microbiologia para o ensino fundamental e médio**. In: VII encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IV encontro Latino Americano de Pós-Graduação . Universidade de Vale do Paraíba. 2004.127-129.

RAMOS, Vânia Patrícia Pires; MARQUES, João José Pereira. Dos jogos educativos à gamificação. **Revista de Estudios e Investigación en Psicología y Educación**, p. 319-323, 2017.

RIBEIRO, L. C. A. de. **Do macro ao micro: o universo das células**. São Carlos - SP Universidade Federal de São Carlos Coautor(es) Ivã de Haro Moreno (acesso em 30/07/13).

RIO DE JANEIRO (Estado). Secretaria Estadual de Educação. **Currículo Mínimo Ciências e Biologia**, 2012.

ROCHA, A. Fundamentos da Microbiologia. Editora Rideel, 2016. São Paulo.

RODRIGUES, C.C.; MELLO, M.L. **A prática no ensino de genética e biologia molecular desenvolvimento de recursos didáticos para o Ensino Médio**. 2008.

RUOSO MORESCO, Terimar et al. Ensino de microbiologia experimental para Educação Básica no contexto da formação continuada. **Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias**, v. 16, n. 3, 2017.

SCHNEIDER, Mariana et al. Categorização de trabalhos completos publicados nos anais do encontro nacional de ensino de química-ENEQ, referentes à temática jogos. **Scientia Naturalis**, v. 1, n. 4, 2019.

SILVA, E.L. DA E MENEZES, E.M. **Metodologia de Pesquisa e Elaboração de Dissertação**. 3^a edição. UFSC/ PPGEP/ LED, Florianópolis. 2001.

SILVA, Sheila Serafim da. Laboratório de gestão online: análise da contribuição da aprendizagem vivencial. 2015.

SOUTO, Raul Vinicius Salata. Biocombat: jogo estratégico de cartas como instrumento didático no ensino de conceitos associados ao Reino Monera. 2015.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUN, F.; GOMPERTZ, O.; CANDEIAS, J. **Microbiologia**. 6^a edição. ArtMed. Porto Alegre, 2000.

UFRJ (Universidade Federal do Rio de Janeiro) Microbiologia. Disponível em: <<http://www.microbiologia.ufrj.br/portal/index.php/pt/destaques/novidades-sobre-a-micro/384-a-historia-do-surgimento-da-microbiologia-fatos-marcantes>> Acesso: 22 agosto 2019.

VALENTE, José Armando. **Diferentes Usos do Computador na Educação**. 1993. Disponível em: <http://upf.tche.br/~carolina/pos/valente.html>.

VENERI, F. H. et al. Passatempo de anatomia humana: as possibilidades de um material pedagógico alternativo. In: AMOSTRA ACADÉMICA UNIMEP, 6 e Simpósio de Ensino de Graduação, 6, Piracicaba, 2008. **Anais do 6^a Amostra Acadêmica UNIMEP**, Piracicaba, 2008. Disponível em: <http://www.unimep.br/phpg/mostraacademica/anais/6mostra/4/335.pdf>. Acesso em: 09 mar. 2018.

VIGOTSKY, L. S; COLE M. **A formação social da mente: o desenvolvimento dos processos de desenvolvimento dos processos psicológicos superiores**. Psicologia e Pedagogia. 7 ed. São

Paulo: Martins Fontes, 2007.

ZANON, Dulcimeire Aparecida Volante; DA SILVA GUERREIRO, Manoel Augusto; DE OLIVEIRA, Robson Caldas. Jogo didático Ludo Químico para o ensino de nomenclatura dos compostos orgânicos: projeto, produção, aplicação e avaliação. **Ciências & Cognição**, v. 13, n. 1, 2008.

INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: A EXPERIMENTAÇÃO COMO FERRAMENTA PEDAGÓGICA EM BIOQUÍMICA APLICADA

Data de aceite: 14/02/2020

Data de Submissão: 09/01/2020

Alcione Silva Soares

Universidade Estadual de Goiás - Curso de Ciências Biológicas - Campus Formosa Formosa – Goiás
ORCID 0000-0003-1207-7767

Dieisy Martins Alves

Universidade Estadual de Goiás - Curso de Ciências Biológicas - Campus Formosa Formosa – Goiás
ORCID 0000-0002-8261-0747

RESUMO: Existem diferentes fenômenos (ação do detergente em louça suja, o cozimento de ovos e o escurecimento de frutas e hortaliças) que são observados no cotidiano diário e explicados cientificamente, principalmente pela biologia, química e física. Aulas experimentais são instrumentos didáticos robustos e eficientes para demonstrar conceitos de diversos fenômenos. Fenômeno amplamente difundido, com severas mudanças de cor, sabor indesejável e perdas nutricionais, em frutas e hortaliças, o escurecimento enzimático está relacionado à ação da enzima polifenoloxidase. A maçã, fruta importante nutricionalmente,

que é fonte de vitaminas do complexo B, C, E, em sais minerais, e possui conteúdo calórico baixo, apenas 60 calorias a cada 100 gramas. Objetivou-se analisar, um fenômeno comum, com baixo custo, de ocorrência no cotidiano, em sala de aula e utilizá-lo como ferramenta pedagógica na aprendizagem aos educandos. Realizou-se a aplicação de soluções de substâncias de ácido cítrico (B), bicarbonato de sódio ou carbonato ácido de sódio (C), e catecol grau analítico (D). Utilizou-se água destilada (A) como controle negativo. Analisou-se a ocorrência do processo de inativação enzimática. A eficiência do processo foi avaliada qualitativamente. Após 3 min de exposição das frutas às soluções, ocorreu escurecimento das fatias de maçã em A, C e D, em diferentes níveis. Em B, não houve escurecimento. Esses resultados se mantiveram, mesmo após 3h, corroborando com dados da literatura. Após atividades avaliativas aplicadas, Docentes de disciplinas afins relataram maior interesse e capacidade de interdisciplinaridade pelos educandos. Experimentação, contextualização e importância temática estimularam os educandos a interagirem com a proposta pedagógica experimental, pois demonstrou inserção em seu cotidiano. A biologia e a bioquímica aplicada, não são distantes dos

educandos, e possuem abrangência e aplicabilidade, assim como a ciência em geral. O uso de experimentos (demonstrar na prática o que é explicado na teoria) é um suporte didático satisfatório para o processo ensino-aprendizagem.

PALAVRAS-CHAVE: Ácido cítrico. Ácido clorogênico. Bioquímica aplicada. Polifenoloxidases.

ENZYME INHIBITION: EXPERIMENTATION AS A PEDAGOGICAL TOOL IN APPLIED BIOCHEMISTRY

ABSTRACT: There are different phenomena (action of detergent on dirty dishes, the egg cooking and the browning of fruits and vegetables) that are observed in daily life and explained scientifically, mainly by biology, chemistry and physics. Experimental classes are robust and efficient teaching tools to demonstrate concepts of various phenomena. A widespread phenomenon, with severe color changes, undesirable taste and nutritional losses, in fruits and vegetables, enzymatic browning is related to the action of the polyphenoloxidase enzyme. Apple, a nutritionally important fruit that is a source of B, C, E complex vitamins in minerals and has a low calorie content, only 60 calories per 100 grams. The objective was to analyze, a common phenomenon, with low cost, occurring in everyday life, in the classroom and use it as a pedagogical tool in learning for students. Solutions of citric acid (B), sodium bicarbonate or sodium acid carbonate (C), and analytical grade catechol (D) were applied. Distilled water (A) was used as negative control. The occurrence of the enzymatic inactivation process was analyzed. The efficiency of the process was evaluated qualitatively. After 3 min of fruit exposure to the solutions, apple slices darkened in A, C and D, at different levels. In B, there was no darkening. These results were maintained even after 3h, corroborating with literature data. After evaluative activities applied, teachers of related disciplines reported greater interest and ability of interdisciplinarity by the students. Experimentation, contextualization and thematic importance stimulated the students to interact with the experimental pedagogical proposal, as it demonstrated insertion in their daily life. Biology and biochemistry applied, the students are not far, and have scope and applicability, as well as science in general. The use of experiments (demonstrating in practice what is explained in theory) is a satisfactory didactic support for the teaching-learning process.

KEYWORDS: Citric acid. Chlorogenic acid. Applied biochemistry. Polyphenol Oxidases.

1 | INTRODUÇÃO

Diferentes fenômenos que ocorrem na natureza e no nosso cotidiano, tais como: a ação do detergente em louça suja engordurada, o processo de cozimento de ovos e o escurecimento de frutas e hortaliças são observados no cotidiano diário

e são explicados cientificamente, principalmente pela biologia, química e física (MORAIS, POLETTTO, 2014).

Destarte, aulas experimentais de ciências são instrumentos didáticos adequados e eficientes para a aplicação de conceitos destes fenômenos (MORAIS, POLETTTO, 2014).

Neste sentido, o escurecimento enzimático é um fenômeno amplamente estudado e difundido que induz severas mudanças de cor, sabor indesejável e perdas nutricionais em frutas e hortaliças e está relacionado à ação da enzima polifenoloxidase, que utiliza compostos fenólicos como substratos (SILVA, *et al.*, 2017).

No mercado consumidor, a procura e aceitação de um determinado produto estão baseadas em sua qualidade. Em alimentos, a cor é um dos atributos mais importantes, pois o consumidor geralmente avalia inicialmente a qualidade de um produto pela sua aparência (SILVA, *et al.*, 2017).

Dessa forma, é importante se usar, no processamento, além de insumos de boa qualidade, técnicas adequadas que permitam a máxima preservação das qualidades que o alimento possuía quando estava no estado fresco (VASCONCELOS, MELO FILHO, 2011).

Diante dessa realidade, estudos sobre escurecimento de maçã (*Malus domestica*) são necessários, por ser uma fruta de composição nutricional que é fonte de vitaminas do complexo B, C, E e sais minerais, além de possuir conteúdo calórico baixo, cerca de 60 calorias a cada 100 gramas (MELO, 2015).

O escurecimento que normalmente ocorre em frutas e hortaliças durante o processamento ou quando sofrem qualquer injúria tecidual, como descascamentos, cortes, amassamento, é devido a ação das enzimas polifenoloxidases (PFO) que reagem com seus substratos, os compostos fenólicos (monofenol e o-difenol), na presença de gás oxigênio do ambiente (CLERICI *et al.*, 2014).

O produto inicial da oxidação é a quinona, que por sua vez, sofre uma condensação e gera pigmentos escuros denominados, que possuem como principal componente a melanina, conforme demonstrado na figura 1.

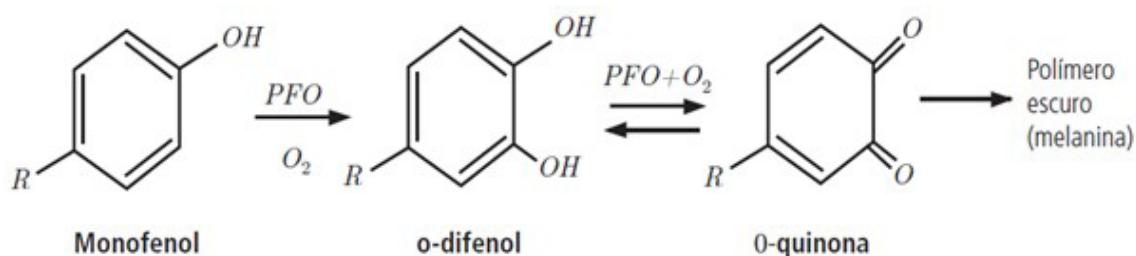


Figura 1. Equação que representa a reação de oxidação de compostos fenólicos catalisada pela polifenoloxidase.

Dessa forma, objetivou-se no presente trabalho realizar e analisar experimentalmente, um fenômeno biológico/químico muito comum, de baixo custo, de ocorrência frequente no cotidiano, em sala de aula, em ambientes não formais de ensino-aprendizagem. Assim como, utilizar a experimentação como ferramenta pedagógica de interação com os educandos da 3^a série do ensino médio, de escola estadual de ensino médio, para que visualizem o processo de oxidação do ácido clorogênico nas fatias do fruto da maçã.

Objetivou-se também promover a contextualização interdisciplinar e transdisciplinar, sobre alguns conteúdos básicos em bioquímica: compostos orgânicos, funções orgânicas, enzimas, grupo de enzimas polifenoloxidases (que são responsáveis pelo escurecimento enzimático de frutas e hortaliças).

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Realizou-se a aplicação, na forma de contato direto, de soluções de substâncias químicas (Figura 1) de ácido cítrico (sumo de limão) (B), bicarbonato de sódio ou carbonato ácido de sódio (C), e catecol (grau analítico) (D).

Foi utilizado, também, a água destilada (grau analítico) (A) como um controle negativo para analisar a preservação e manutenção da cor dos frutos de maçãs fatiadas, durante 3h.

As maçãs que foram utilizadas, foram classificadas (sem danos físicos e íntegras), higienizadas por imersão em solução de água sanitária, durante 15 minutos e em seguida lavadas com água filtrada (CLERICI *et al.*, 2014; MELO, 2015).

Depois de higienizadas, as maçãs foram cortadas em quatro partes para que o “miolo”, que contém as sementes, pudesse ser retirado sem dano e de maneira a não contaminar a polpa com possíveis microrganismos presentes (CLERICI *et al.*, 2014; MELO, 2015).

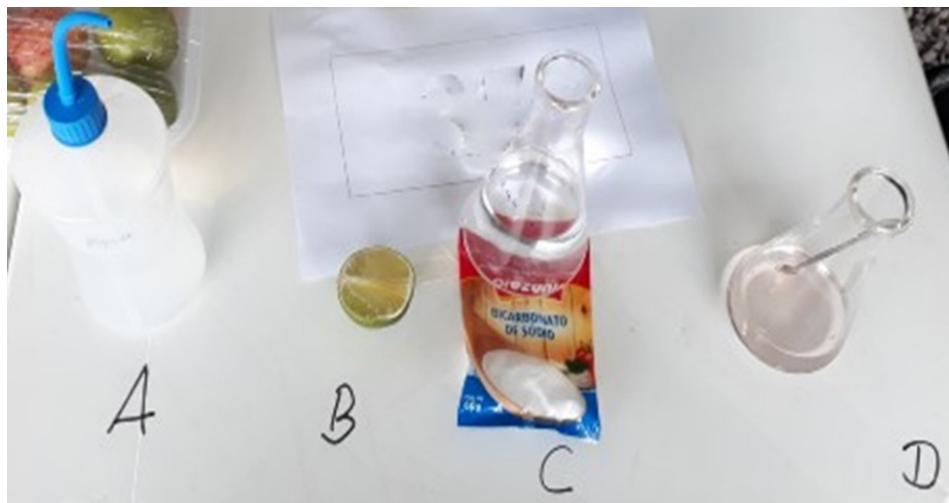


Figura 2. Substâncias químicas utilizadas para contato com as fatias de maçã. Fonte: Imagens obtidas pelas autoras.

Avaliou-se o processo de inativação enzimática das enzimas polifenoloxidases, que são enzimas que catalisam as reações de escurecimento enzimático, com o uso de diferentes substâncias químicas nas amostras vegetais de maçã, que foram minimamente processadas. (HARTWIG *et al.*, 2014).

Após o contato com as maçãs, a eficiência do processo foi avaliada de forma qualitativa verificando-se a atividade da enzima peroxidase pela observação do escurecimento ou não-escurecimento das fatias da fruta maçã.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 3 min de contato das fatias de maçãs com as substâncias químicas utilizadas, observou-se que houve o escurecimento das fatias do fruto maçã em A, C e D, conforme pode-se observar na figura 3.

Em D, ocorreu um escurecimento vigoroso e intenso, com o enegrecimento total do fruto, pois o catecol que é um polifenol, atuou no aumento da concentração de substrato para a ação da enzima polifenoloxidase.

Em B, não houve escurecimento, e comprovou-se a eficiência do ácido cítrico, presente no suco do limão, como inibidor da oxidação e escurecimento (CLERICI *et al.*, 2014).

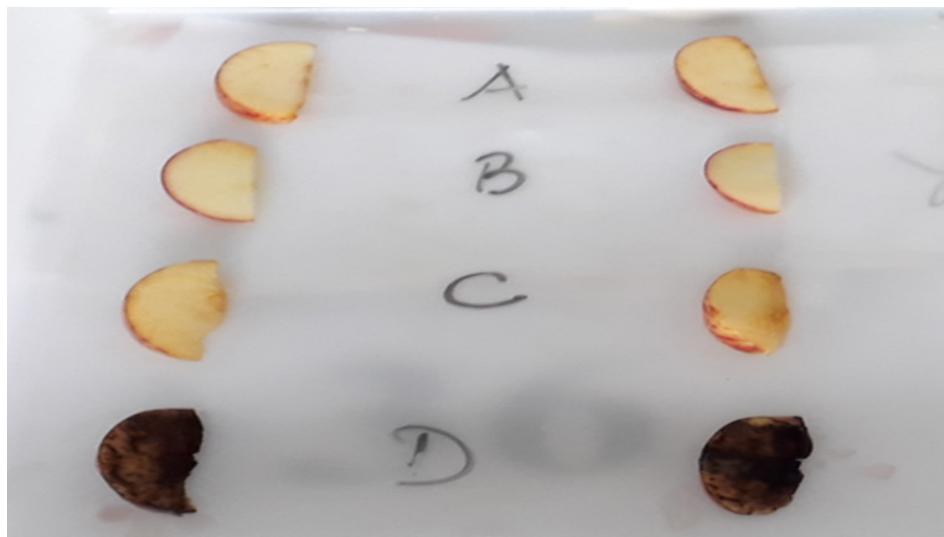


Figura 3. Fatias de maçãs após 3h de contato com as sustâncias químicas utilizadas. Fonte: Imagens obtidas pelas autoras.

Esses resultados não se alteraram, mesmo após 3h de contato das substâncias com as fatias de maçã, corroborando com dados da literatura sobre a eficácia do ácido cítrico como inibidor da ação das polifenoloxidases na oxidação do ácido clorogênico da maçã.

É importante lembrar que o processo de escurecimento enzimático é um fenômeno importante no processamento de frutas, pois está intimamente ligado à degradação desses alimentos: frutas e vegetais (MARTINS *et al.*, 2017).

Nesse contexto, a ação da polifenoloxidase e da peroxidase, duas enzimas, destacam-se como um dos principais fatores nesse processo metabólico (MARTINS *et al.*, 2017).

Assim, o escurecimento enzimático, que ocorreu nas fatias de maçãs, aqui denominadas A, C e D, decorrem de uma lesão dos tecidos de um vegetal, que provocou a perda ou redução da compartmentalização celular, acarretando extravasamento de substratos do vacúolo e subsequente reação com enzimas presentes no citoplasma (KOBLITZ, 2017).

Portanto, com a utilização das aulas teóricas e experimentais sobre o conteúdo, inibição enzimática e escurecimento de frutas, pode-se perceber que se trata de uma ferramenta didática robusta para o aprendizado dos educandos, dada sua importância.

Além de observar, em aula, a maior participação efetiva e interesse dos educandos, durante as atividades sobre o conteúdo, pode-se também constatar, também, que após atividades avaliativas aplicadas e com o relato de Docentes de outras disciplinas afins, que os educandos demonstraram maior capacidade de realizar interdisciplinaridade e maior fixação do conhecimento sobre os conteúdos estudados (MORAIS, POLETTO, 2014).

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

É importante destacar que as atividades experimentais com boa qualidade, didática e pedagógica, se fundamentam na solução de problemas que envolvem questões da realidade dos educandos, para que possam ser submetidos a conflitos cognitivos.

O Brasil é um dos maiores produtores de maçã do mundo. Portanto, o ensino sobre inibição enzimática e escurecimento de frutos possui uma relevância econômica e social.

A experimentação e a contextualização, sobre assuntos científicos que são ensinados em aulas tradicionais e posteriormente, são rememorados e ensinados com interação, estimularam os educandos a estudarem mais sobre eles, para as atividades avaliativas e a interagirem efetivamente com a proposta pedagógica, pois os resultados obtidos confirmaram os estudos teóricos.

Além demonstrar de forma inequívoca, que este assunto está inserido em sua vida e no cotidiano dos educandos. A biologia, a química e a física, não são distantes da realidade dos estudantes e possuem uma abrangência e aplicabilidade assim como a ciência em geral.

O uso dos experimentos, para demonstrar na prática o que é explicado na teoria é um suporte didático robusto, eficiente, eficaz e satisfatório para a aprendizagem.

REFERÊNCIAS

CLERICI, M.T.P.S.; SEBASTIÃO, R.H.; OLIVEIRA, L.C.; SANTOS, M.S.; MORAES, A.N.L.; CLARETO, S.S. Escurecimento enzimático: uma aula prática. *Revista de Ensino de Bioquímica*, v. 2, n.2, 71-90, 2014.

FONSECA, L.; TRINDADE, L.; BORGES, F. **Experimento Enzimático**. Disponível em: <www.abq.org.br/cbq/2017/trabalhos/6/10541-23028.html>. Acesso em 10 nov. 2019.

HARTWIG, E. S.; NOGUEIRA, D.; MENDONÇA, C. R. B.; SILVA, J. D. F. da; ALVES, M. A. M.; BORGES, C. D.; “utilização das enzimas peroxidases do nabo no controle do escurecimento enzimático em maçãs minimamente processadas”, p. 2999-3004. In: *Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química - COBEQ 2014 [= Blucher Chemical Engineering Proceedings, v.1, n.2]*. São Paulo: Blucher, 2015.

KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de Alimentos : Teoria e Aplicações Práticas**. [Reimpr.] - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

LUZ, M. M. et al. A Química No Cotidiano: Observando O Escurecimento Da Maçã. In: *Anais do EITEC*. Potencialidade Regional e Tecnologias Sociais: o sertão Piauiense em evidência. Volume 3, Número 2. Picos: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, 2014.

MARTINS, J. S.; CARDOSO, F. D.; MELO, E. M.; HERTZ, P. F. **Caracterização e comparação das atividades enzimáticas das peroxidases (POD) de butia catarinenses e de butia yatay**. VII SIEPEX-Salão Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão da UERGS, Brasil, set. 2017.

MELO, M. A. **Aplicação de métodos de inativação e inibição enzimática em frutas e hortaliça** (Monografia). Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2015.

MORAIS, E. A.; POLETTO, R. S. A Experimentação Como Metodologia Facilitadora da Aprendizagem de Ciências. In: **Cadernos PDE. Os Desafios da Escola Pública Paranaense na Perspectiva do Professor PDE**. Curitiba, 2014. Disponível em: <http://www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/cadernospde/pdebusca/producoes_pde/2014/2014_uenp_cien_artigo_edilene_alves_morais.pdf>. Acesso em 16 nov. 2019.

SANTOS, V. *et al.* Escurecimento Enzimático em Frutas. In: **Anais do Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação - VII CONNEPI**. Palmas (TO), 2012.

SILVA, B. *et al.* Efeito de diferentes revestimentos sobre o escurecimento enzimático em maçã. **Agrarian**. v. 10, n. 38, p. 355-362, dez. Dourados, 2017.

SOARES *et al.* The importance of experimentation in the teaching of sciences to elementary school. **Revista Monografias Ambientais - REMOA. Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas - UFSM, Santa Maria**. v. 15 n. 2 mai-ago. p. 01 - 17, 2016.

SOUZA, A. F.; LEÃO, M. F. Análises dos métodos mais eficientes na inibição do escurecimento enzimático em frutas e hortaliças. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15; p.117, 2012.

VASCONCELOS, M. A. S.; MELO FILHO, A. B. **Conservação de alimentos**. Recife: EDUFRPE, 2011.

UMA EXPERIÊNCIA EM EDUCAÇÃO AMBIENTAL NO ENSINO FUNDAMENTAL DE BRASÍLIA, DF AN EXPERIENCE IN ENVIRONMENTAL EDUCATION IN BRASILIA, DF

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 24/11/2019

Andréa Ferreira Souto

Secretaria do Distrito Federal de Brasília, Brasília
– Distrito Federal

<http://lattes.cnpq.br/4238385437227336>

RESUMO: O presente trabalho foi desenvolvido em uma escola da rede pública da Secretaria de Educação do Distrito Federal (SEDF) e teve como objetivo proporcionar uma reflexão sobre os problemas ambientais locais, contribuindo para a formação de sujeitos críticos e conscientes acerca de suas responsabilidades com o meio ambiente e seu processo de formação. A Educação Ambiental na escola e suas ações educativas contribuem para minimizar os problemas ambientais, pois requer práticas pedagógicas sobre questões éticas e sociais promovendo alteração na atitude dos sujeitos presentes no ambiente escolar, sendo o professor mediador dessa ação. Assim, este trabalho propôs uma discussão sobre os problemas, tendo como base a Metodologia da Problematização, afim de contribuir para que o aluno tenha consciência da responsabilidade para com o meio ambiente, desenvolvendo

melhores hábitos e atitudes para a conservação do ambiente escolar.

PALAVRAS-CHAVE: Conscientização ambiental; Educação Ambiental; Metodologia da problematização.

ABSTRACT: The present work was developed in a public school of the Federal District Department of Education (SEDF) and aimed to provide a reflection on local environmental problems, contributing to the formation of critical subjects and aware of their responsibilities to the environment and their training process. Environmental education at school and its educational actions contribute to minimizing environmental problems, as it requires pedagogical practices on ethical and promoting changes in the attitude of the subjects present in the school environment, being the mediator teacher of this action. Thus, this work proposed a discussion about the problems, based on the Problematic Methodology, in order to contribute to the student's awareness of responsibility for the environment, developing better habits and attitudes for the conservation of the school environment.

KEYWORDS: Environmental awareness; Environmental education; Methodology of problematization.

1 | INTRODUÇÃO

As instituições de ensino, como escolas de ensino fundamental, médio e superior são comunidades que geram impactos significativos diretos e indiretos no meio ambiente (ALSHUWAIKHAT; ABUBAKAR, 2008). Assim, essas instituições devem ter como princípio básico a formação de indivíduos com olhar crítico, capazes de enfrentar problemas sociais. Através da difusão do conhecimento produzido por elas mesmas a percepção dos problemas ambientais fica mais nítidos e ampliados podendo promover a mudança de comportamento dos cidadãos. A formação de sujeitos capazes de reflexão crítica acerca dos problemas ambientais e sociais que os cercam, colaborando para que estejam preparados para exercer sua cidadania deveria ser o principal objetivo.

De acordo com Tavares (2013), as práticas diretas de professores em sala de aula possibilitam aos discentes refletir e o compreender os problemas ambientais que afetam a comunidade onde vivem, pois os docentes são importantes no processo de conscientização e incentivo a hábitos saudáveis de conscientização e de conservação ambiental, formando, assim, cidadãos conscientes e comprometidos com a sustentabilidade.

Assim, a Educação Ambiental deverá proporcionar experiências que possibilitem colocar as pessoas em contato direto com os problemas ambientais, a fim de sensibilizá-las e discutir a importância do ambiente para a saúde, o bem-estar do homem e dos seres vivos e o equilíbrio ambiental dos ecossistemas. No entanto, Oliveira et al. (2012) ressaltam que é necessário que as abordagens educativas de Educação Ambiental nas escolas sejam um processo continuado, com resultados a longo prazo, pois os resultados são percebidos em um futuro distante. Além disso, recomenda que o processo educativo permeie desde a aquisição do conhecimento abstrato até a participação efetiva na construção de tarefas.

2 | OBJETIVO GERAL

O Proporcionar uma reflexão sobre os problemas ambientais presentes em uma escola, contribuindo para a formação de cidadãos críticos e conscientes de suas responsabilidades com o meio ambiente e o poder de transformação do local em que se encontram.

3 | MATERIAL E MÉTODOS

O local de estudo foi o Centro de Ensino Fundamental do Lago Norte, localizado na cidade de Brasília, S15°52'11,87", W047°55'17,13". A escola possui 500 alunos

em cada turno e atende alunos oriundos do Varjão, Paranoá e trechos. O trabalho foi realizado com uma turma de 25 alunos da 7^a série do Ensino Fundamental, com idades entre 12 e 13 anos.

A metodologia foi baseada na Metodologia da Problematização, “Arco de Maguerez”, como meio de contribuir para o entendimento da importância dos problemas na realidade escolar, como o lixo, a necessidade da separação dos resíduos, a conscientização de que a produção de lixo por parte da população é uma questão ética e que as ações do homem contribuem para a conservação ou não dos recursos naturais, já que a questão ambiental é uma problemática que urge atenção especial por parte da sociedade. Esta metodologia aponta que as ações educativas têm como ponto de partida o problema da realidade por meio da observação dos alunos e por fim, volta a essa mesma realidade de forma intencional para que possam acontecer algumas transformações da realidade ou dos problemas com as devidas soluções (BORDENAVE e PEREIRA, 2002). Apoiando também nas reflexões sobre esta metodologia e sua relação com os saberes de professores, de Colombo; Berbel (2007), em que, entre outros aspectos, são pormenorizadas as ações a serem desenvolvidas pelos participantes de sua aplicação, em cada uma de suas etapas. O trabalho deveria ser apresentado na Feira de Ciências.

Com esta metodologia, para a realização das atividades foram propostas as seguintes etapas:

1^a Etapa: Os alunos foram levados a fazer a observações acerca da realidade escolar, apropriando-se das informações obtidas, trocando ideias entre os colegas e funcionários.

2^a Etapa: Após a troca de informações e reflexões feita pelo grupo, foi definido o ponto chave de estudo, cuja investigação possibilitará uma nova reflexão sobre o tema em questão, onde a criatividade, a flexibilidade e a colaboração serão de relevância para a solução dos problemas. Com essa troca de informações, os alunos foram capazes de elaborar uma nova compreensão dos problemas detectados.

3^a Etapa: Momento da teorização onde as respostas individuais e coletivas deverão ser mais elaboradas e fundamentadas, tendo sempre o problema como objeto de estudo. Todos os dados obtidos foram registrados, analisados e discutidos, levando em consideração os fatores culturais, político-sociais e pedagógicos, sendo a prática a ação que contribuirá com o processo de transformação da realidade.

4^a Etapa: Na fase da hipótese de solução o aluno foi levado a expor a sua criatividade e a originalidade tendo o professor como estimulador para se pensar nas alternativas de solução.

Bordenave afirma que “o aluno usa a realidade para aprender com ela, ao mesmo tempo em que se prepara para transformá-la” (BORDENAVE, 1989, p. 25).

5^a Etapa: A última etapa é a da aplicação à realidade onde possibilita um

momento específico para que o aluno possa colocar em práticas as novas ações, intervindo, exercitando e promovendo à solução do problema. A aplicação permite fixar as soluções geradas afim de voltar para a mesma realidade transformando-a em algum grau ou solução.

Os alunos registraram através de fotos, vídeos e escrita os possíveis problemas encontrados na escola e propuseram possíveis responsáveis. Em seguida realizaram pesquisa acerca dos temas e refletiram sobre as soluções que poderiam alcançar para melhorar o ambiente escolar.

4 | RESULTADOS

O trabalho obteve participação de 100% da turma. Os alunos cumpriram todas as etapas propostas na metodologia. Houve participação ativa. Os problemas apontados pelos alunos foram: pneus jogados pela escola, entulho, patrimônio público jogado ao ar livre, maus tratos a animais, desperdício de alimentos, desperdício de água e ausência de coleta seletiva na escola, apesar do bairro realizar a coleta. Detectaram ainda que haviam vários casos de bullyings, 10 adolescentes grávidas com idades entre 11 e 13 anos e ainda apontaram possível tráfico de drogas e agressões entre alunos e professores como problemas permanentes na escola.

Os alunos a princípio apontaram culpados para os problemas encontrados na escola, foram apontados direção, professores, funcionários, pais de alunos e governo. Alguns alunos disseram que isso se trata da escola pública, pois em sua concepção em escolas particulares o mesmo não ocorria. Ao serem instigados a refletir sobre o que deveria ser feito a partir do que viram pela escola, os alunos realizaram as pesquisas sobre os problemas encontrados, o que gerou discussão sobre o tema. Foi realizado um mutirão pelos discentes e retirados os entulhos presentes na escola com o auxílio da Regional do Lago Norte que forneceu um caminhão e trator para recolher o material recolhido pelos alunos. Foram retirados os móveis de patrimônio público que estavam expostos a sol e chuva e organizados sob proteção do telhado. Os alunos tiveram aula de educação ambiental no Viveiro do Lago Norte e palestra com morador do bairro em que se localiza a escola que é criador de abelhas sem ferrão e falou da importância e ameaça de extinção das abelhas.

Com os pneus da escola, os alunos confeccionaram lixeiras para coleta seletiva de recicláveis e orgânicos. Para tanto obtiveram participação do pai de um aluno de outra sala, que a princípio, não estava envolvido com o projeto.

Foi realizada uma palestra com a comunidade escolar, organizada pela Associação de Catadores do Varjão, onde a mãe de um aluno da escola trabalha,

para a conscientização da importância da separação do lixo.

Um grupo de alunos, percorreram todas salas nos dois turnos da escola, colocando cartazes e orientando os demais discentes quanto ao uso das lixeiras, coleta seletiva e quanto a importância de se manter a fauna e flora locais.

As lixeiras foram colocadas em lugares que de acordo com as funcionárias da cantina e limpeza seriam estratégicos para o depósito de lixo pela comunidade escolar. A direção solicitou o conserto do encanamento de uma pia que estava com vazamento.

Por fim, foi realizada a Feira de Ciências com exposição montada em sala, com fotos e representação dos problemas diagnosticados pelos alunos, a metodologia da pesquisa e o que fizeram para tentar solucionar os problemas. Com a intenção de diminuir o bullying, os alunos lembraram a campanha “Setembro Amarelo” e se revezaram abraçando os visitantes, propuseram também o projeto “Entre olhares” para conexão humana. Foi montada uma feira da gratidão com roupas e objetos doados pelos alunos. Como Lembrança ao visitante, os alunos entregaram revistas em quadrinhos da “Turma do Cerrado” e poesias no papel que foi reciclado pelos mesmos, sobre a desigualdade, que era a temática do ano de 2018 proposta pelo governo federal para as Feiras de Ciências escolares.

5 | DISCUSSÃO

A atividade proposta proporcionou em pouco tempo, reflexões acerca do cotidiano dos alunos. A escola em questão, se localiza em uma região nobre de Brasília, distante da realidade dos alunos que por sua vez, moram em outras comunidades. Os alunos se envolveram com o projeto de tal forma que muitos professores reclamaram que os mesmos pediam para que fosse trocado os horários com a professora orientadora do projeto para que pudessem dar continuidade ao mesmo. De acordo com a literatura da área motivacional, é pouco provável que os estudantes, em situação escolar, envolvam-se de modo espontâneo na totalidade das atividades escolares, com grande interesse, alegria ou prazer, como afirmam Deci e Ryan (2000 apud GUIMARÃES, 2003). A interação com seus professores é uma das principais fontes para a melhoria da qualidade motivacional. A comunidade em que a escola está inserida, apesar de não ser onde os alunos residem se mostrou aberta a atendê-los, como na palestra realizada pelo morador do bairro que cultiva abelhas e pela palestra realizada no Viveiro do Lago Norte, que também foi local para um piquenique realizado em comemoração ao projeto realizado. Houve envolvimento também da Regional do bairro que enviou o caminhão e trator para retirada do entulho. Apesar do pouco envolvimento da direção da escola e de outros professores, o que pode decorrer da presença de outros acontecimentos

desgastantes vivenciados no dia a dia pelos mesmos, houve participação ativa de uma professora de geografia, que incansavelmente realiza diversos projetos em benefício da educação dos discentes. Os alunos por sua vez, perceberam que são capazes de realizar mais do que apontar possíveis culpados ou esperar pela resolução dos problemas por eles vivenciados.

A satisfação e envolvimento dos alunos com o projeto realizado, foi enfatizada em reuniões escolares entre os docentes e entre os pais dos alunos e a importância de atividades práticas. Segundo Segura (2001, p.71): “A ênfase em atividades práticas talvez seja um reflexo da própria rotina atribulada das escolas: muitas aulas, muitos alunos, carência material e sobrecarga burocrática”.

É fundamental frisar que a realidade vivida pelo professor nas escolas públicas de modo geral, em nada favorece a qualidade das atividades de ensino, incluindo as de educação ambiental. Os professores, na sua grande maioria, não possuem acesso às condições estruturais mínimas necessárias para o bom desempenho das atividades de ensino, ainda possuem uma carga horária excessiva, não dispondo do tempo necessário para o planejamento de suas atividades; convivem com desrespeito, salas de aulas lotadas e são desestimulados e desprestigiados pelas baixas remunerações ou por uma tentativa de realizar um trabalho que mude a rotina escolar.

A Educação Ambiental na escola é uma prática pedagógica que pode contribuir para minimizar os problemas ambientais, pois requer de conhecimentos sobre as questões éticas, sociais e, sobretudo, promover mudanças de atitude por parte dos alunos, sendo o professor elemento colaborativo e mediador dessa ação. A Educação Ambiental como uma ferramenta social possibilita aos alunos compreenderem que as reais consequências de atitudes e/ou ações que degradam o ambiente, eventualmente provocadas por eles, podem ser substituídas por ações de preservação e conservação. É preciso enfatizar que quando se trata de discutir a forma com que a Educação Ambiental vem sendo trabalhado na maioria das escolas, o que se vê é que nem sempre ela explicita o peso das relações de mercado, de grupos de interesses, da determinação das condições do ambiente, entre outras coisas, sobre os danos ambientais. Por mais que se fale de sustentabilidade, de consciência ecológica, de responsabilidade social empresarial, e muito mais, a escola, de maneira geral, ainda não buscou por pedagogias referenciais importantes capazes de promover interações em todos os níveis que constituem a vida em sociedade.

6 | CONCLUSÕES

A educação ambiental não formal é uma importante ferramenta do processo educacional e da formação da consciência ambiental. No entanto, observamos que ela sozinha não consegue atingir todos os objetivos da educação ambiental. Verificou-se que as bases e fundamentações teóricas da educação ambiental podem ser estabelecidas por um processo formal de ensino, mas a educação ambiental não formal também pode ser eficiente nesse

processo. A continuidade do projeto, com a participação dos diretores da escola colaboraria para a efetividade do mesmo. Cabe sempre enfatizar a historicidade da concepção de natureza (Carvalho, 2001), o que possibilita a construção de uma visão mais abrangente (geralmente complexa, como é o caso das questões ambientais) e que abra possibilidades para uma ação em busca de alternativas e soluções.

REFERÊNCIAS

ALSHUWAIKHAT, Hector; ABUBAKAR, Philip. **An integrated approach to achieving campus sustainability: assessment of the current campus environmental management practices.** Journal of Cleaner Production, Londres, v. 16, n. 16, p. 1711-1822, nov. 2008.

BORDENAVE, Juan Diaz; PEREIRA, Adair Martins. **Estratégias de ensino aprendizagem.** 4. Ed., Petrópolis: Vozes, 1982

CARVALHO, I. **A Invenção ecológica.** Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2001.

COLOMBO, A. A.; BERBEL, N. A. N. **A metodologia da problematização com o Arco de Maguerez e sua relação com os saberes de professores.** Semina: Ciências Sociais e Humanas, Londrina, v. 28, n. 2, p. 121-146, jul./dez. 2007

SEGURA, Denise de S. Baena. **Educação Ambiental na escola pública: da curiosidade ingênua à consciência crítica.** São Paulo: Annablume: Fapesp, 2001. 214p.

TAVARES, M. R. **Balanço da produção teórica sobre avaliação de sistemas educacionais no Brasil: 1987 a 2012.** Relatório parcial da Pesquisa, São Paulo: Fundação Carlos Chagas, 2013.

TRANSPASSANDO AS PAREDES DA SALA DE AULA: USO DE PROJETO PARA O ENSINO DE BIOLOGIA NUMA ESCOLA PÚBLICA, PIMENTA BUENO-RO

Data de aceite: 14/02/2020

Priscila Cofani Costa Pomini

Universidade Federal de Rondônia- UNIR

Rolim de Moura – Rondônia

<https://orcid.org/0000-0001-7161-6978>

Eunice Silveira Martello Lobo

Faculdade de Ciências Biológicas de Cacoal

Cacoal – Rondônia

Maria Rosangela Soares

Universidade Federal de Rondônia- UNIR

Rolim de Moura – Rondônia

<https://orcid.org/0000-0002-4614-8209>

RESUMO: O ensino de Biologia, ao longo do tempo vem sofrendo modificações e ultimamente, apresenta-se com caráter de preparação para os vestibulares e o Enem. O que torna o ensino pautado apenas na memorização e perde-se o espaço para o desenvolvimento do pensamento biológico. Este fato evidencia a influência das perspectivas tradicionais no processo de ensino-aprendizagem. Com o intuito de mudar esta realidade, a utilização de projeto surge como um recurso que contribui para o enriquecimento do processo de ensino-aprendizagem. O presente estudo teve como objetivo integrar os conhecimentos biológicos

teóricos com a prática através do projeto de pesquisa na área da Biologia Forense. O mesmo foi aplicado na Escola Estadual de Ensino Médio em Tempo Integral Mal Cordeiro de Farias, no ano de 2017 e contou com a participação de 25 estudantes. Durante o desenvolvimento do projeto, os estudantes tiveram contato com literatura científica na área, onde tiveram que fazer fichamentos dos artigos que serviram como embasamento teórico. Para o experimento do projeto, utilizou-se a carcaça de um coelho (Ceua nº 007/2017) que serviu de isca para a captura de insetos, no qual os estudantes puderam analisar o tempo de decomposição durante sete dias, a morfologia dos insetos e assim produziram relatórios diários do que era observado. Este tipo de prática contribuiu para a vivência da ciência e estimulou a iniciação científica por parte dos estudantes, bem como correlacionar os conteúdos de outras disciplinas com a de biologia, contribuindo com o processo de ensino-aprendizagem.

PALAVRAS-CHAVE: Ensino de Biologia. Ensino-aprendizagem. Iniciação científica.

ABSTRACT: The teaching of Biology, over time has undergone modifications and lately, presents itself with a preparation character for the entrance exams and the Enem. What makes

teaching based only on memorization and the space for the development of biological thought is lost. This fact evidences the influence of traditional perspectives on the teaching-learning process. In order to change this reality, the use of project emerges as a resource that contributes to the enrichment of the teaching-learning process. The present study aimed to integrate theoretical biological knowledge with practice through the research project in the area of Forensic Biology. The same was applied to the State School of Full-Time High School Mal Cordeiro de Farias, in 2017 and had the participation of 25 students. During the development of the project, the students had contact with scientific literature in the area, where they had to make records of the articles that served as a theoretical basis. For the design experiment, the carcass of a rabbit was used (Ceua nº 007/2017) which served as bait for insect capture, in which students were able to analyze the decomposition time for seven days, the morphology of insects and thus produced daily reports of what was observed. This type of practice contributed to the experience of science and stimulated scientific initiation by students, as well as correlating the contents of other disciplines with that of biology, contributing to the teaching-learning process.

KEYWORDS: Biology Teaching. Teaching-learning. Scientific Initiation.

1 | INTRODUÇÃO

O ensino de Biologia, ao longo do tempo vem sofrendo modificações e ultimamente, apresenta-se com caráter de preparação para os vestibulares e o Enem. Porém, temas relacionados a disciplina vêm ganhando espaço na mídia – televisão, jornais, revistas e redes sociais. Assim, o ensino pautado apenas na memorização perde-se espaço com esta nova realidade, tornando-se necessário o desenvolvimento do pensamento biológico (GONZAGA, *et al.*, 2012).

Com o passar do tempo, o ensino de biologia distanciou-se do cotidiano dos estudantes. Os conhecimentos biológicos ficaram pautados apenas os livros didáticos, que se tornaram a única estratégia de ensino. Este fato evidência a influência das perspectivas tradicionais no processo de ensino-aprendizagem. Fato que favorece o apenas o acúmulo de informações e se distancia da contextualização dos conhecimentos biológicos (SALES e SILVA, 2010).

Com o intuito de mudar esta realidade, as atividades práticas surgem como um recurso que contribui no processo de ensino-aprendizagem. Porém, acabam sendo confundidas apenas com o uso de laboratórios com equipamentos, o que a torna praticamente impossível. Na busca de outros recursos para a realização das práticas, pode-se utilizar: simulação em computador, praças públicas, jardim da escola, colagem, resolução de problemas e teatro, pois são facilitadores nesse processo (SENICIATO e CAVASSANI, 2004).

A utilização de projeto escolar como estratégia de ensino de biologia torna-se um facilitador o processo de aprendizagem, uma vez que o professor pode inserir no seu planejamento uma série de recursos, como a leitura e escrita científica nos estudantes de forma contextualizada. Assim, a aprendizagem torna-se mais significativa e possibilitada a formação de um cidadão mais crítico e no engajamento da ciência. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo integrar os conhecimentos biológicos teóricos com a prática através do projeto de pesquisa na área da Biologia Forense.

2 | METODOLOGIA

O presente estudo foi aplicado na Escola Estadual de Ensino Médio em Tempo Integral Marechal Cordeiro de Farias, no município de Pimenta Bueno-RO e contou com a participação de 25 estudantes, com a execução ocorrendo em duas aulas semanais dedicadas ao projeto. A pesquisa caracteriza-se como qualitativo, baseado na premissa dos problemas poderem ser resolvidos e as práticas melhoradas por meio observação, a interação participativa e a interpretação do discurso sujeitos (KNECHTEL, 2014).

Para a execução do projeto foi escolhido o tema Entomologia Forense. Esta é a ciência que utiliza o estudo de insetos e outros artrópodes, na elucidação de questões judiciais, civis e criminais. Os Artrópodes que estão relacionados à Entomologia Médico-legal podem ser classificados em quatro grupos: necrófagos, predadores, parasitas de necrófagos e onívoros (SILVA, 2012). Dentre estes, os necrófagos que aparecem numa sequência previsível são os mais importantes para estimar o intervalo pós-morte (MARQUES, 2008).

Para realização do experimento, utilizou-se como isca para os insetos, a carcaça de um coelho (*Sylvilagus brasiliensis*) de aproximadamente 950 gramas, que ficou exposta ao ar livre dentro da área da própria escola, recebendo sol direto em ambiente urbano. A eutanásia foi realizada por um médico veterinário e executada após liberação do conselho de ética para uso de animais – CEUA (Protocolo nº 007/2017), que primeiro aplicou um anestésico e posteriormente uma injeção de cloreto de sódio potássio, neste caso o animal não sofreu com estresse e nem dor (figura 01) (SILVA e SANTOS, 2012).

Antes da morte do coelho os estudantes construíram uma gaiola de 1.600 cm², cercada com tela de arame de 1 polegada, para evitar que animais de pequeno porte se alimentassem do cadáver. Por cima, foi montada armadilha do tipo Shannon modificada, com tela de nylon e garrafa pet e em torno da isca foi enterrado armadilhas do tipo pitfalls no total de seis (Figura 1) (SOUZA, 2009).

Posteriormente, sobre a carcaça do coelho foi colocada a gaiola e o tule, nas armadilhas foram colocadas a solução para captura dos insetos (Figura 1). E assim foram observando os dados referente a temperatura do ambiente, as modificações que ocorriam na carcaça (estágios de decomposição) e a coletagem dos insetos que caiam nas armadilhas do chão e da garrafa de cima. Todos devidamente separados por data de coleta.



Figura 1 – Coelho utilizado como isca para os insetos no período de putrefação do estágio de decomposição. Autoria: POMINI, P. C.C.

No decorrer da atividade os estudantes escreveram relatório individual sobre os eventos que aconteciam no decorrer da prática. No final da experiência todos entregaram um relatório sobre a atividade da entomologia forense realizada por eles.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade prática aguçou o interesse dos estudantes, uma vez que participaram de forma ativa em todas as etapas da execução do projeto de pesquisa. Durante a aula, foram realizadas intervenções para execução do projeto, com a intenção de orienta-los para seguindo as etapas de uma pesquisa científica. Durante a montagem das armadilhas foi o período que houve maior participação dos estudantes, possivelmente pela necessidade de resolver o problema para o melhor posicionamento das armadilhas para a coleta dos insetos.

Em relação as observações realizadas do decorrer da execução do projeto, a etapa da construção das armadilhas, foi notado que os estudantes participaram de forma ativa procuram os professores que estavam presentes na aula para dúvidas sobre terminologias. Assim, este tipo de material auxilia no enriquecimento e construção do conhecimento, por serem fontes atuais sobre o conteúdo que está

sendo apresentado (HOLBROOK e RANNIKMAE, 2016).

Segundo Sales e Silva (2010) as práticas experimentais efetivamente é um recurso que o professor pode fazer uso com o intuito de deixar as aulas mais dinâmicas e participativas. Assim, possibilita que o estudante possa criar hipótese, interpretar resultados entre outros, de forma a melhorar a relação conceitos-cotidiano.

Segundo as Orientações Brasil Curriculares para o Ensino Médio (BRASIL, 2006) esta estratégia necessita estar em consonância da necessidade do estudante, levando-o a desenvolver o espirito investigativo e que pode ocorrer em diversos ambientes.

A utilização de textos científicos, como estratégia de ensino favorece a consolidação do conhecimento científico, a aquisição de leitura e domínio de conceitos da área de ciências da natureza, além das terminologias científicas e expõem o estudante a uma diversidade de informações (FERREIRA e QUEIROZ, 2012). O uso deste recurso pode contribuir para o fortalecimento do conhecimento científico e tecnológico para a vida em sociedade, além de melhorar o desempenho em provas externas.

A partir da prática foi possível desenvolver nos estudantes a escrita científica e a observação com foco nos processos de decomposição e como age os microrganismos e a ciclagem dos nutrientes no solo. Além da visualização das estruturas dos insetos capturados e as funções biológicas dos mesmos. Houve a identificação apenas de duas famílias de insetos capturadas durante a etapa de decomposição, a Calliphoridae e a Sarcophagidae, totalizando 168 indivíduos (Figura 2).

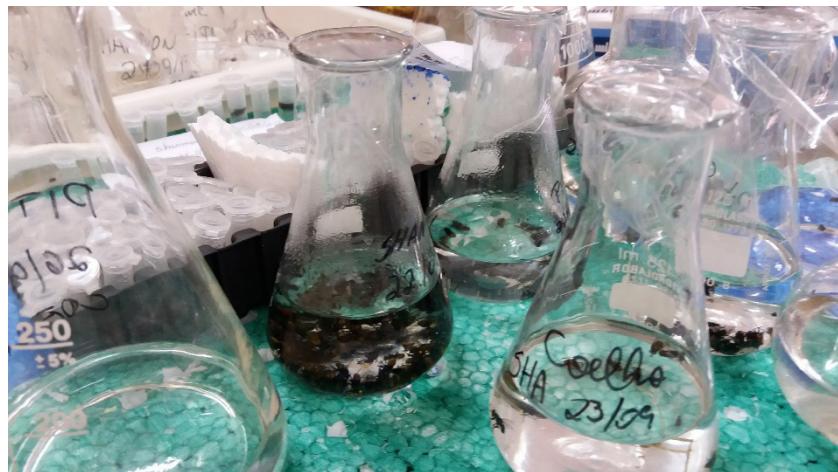


Figura 2 – Insetos coletados durante o processo de decomposição, para serem separados e feito a descrição morfológica. Autoria: POMINI, P. C.C.

Como fruto desse trabalho de pesquisa executado pelos estudantes, a escola

participou da seleção de duas feiras científicas voltadas para alunos de escolas públicas e particulares, uma no estado de Rondônia Feira de Rondônia de Científica de Inovação e Tecnologia (Ferocit) e a nível nacional a Feira de Tecnologias, Engenharias e Ciências de Mato Grosso do Sul (Fetec/MS). Assim, participando de eventos científicos e estimulando a prática da investigação científica nos jovens (Figura 3).



Figura 3 – Estudantes participando dos eventos científicos apresentando os resultados do projeto de pesquisa executado na escola. Letra A: estudantes na Ferocit/2018, que ocorreu em agosto de 2018 na cidade de Porto Velho-RO. Autoria: POMINI, P. C.C; Letra B: estudantes na Fetec/MS, no mês de novembro de 2018, na cidade de Campo Grande-MS.

4 | CONCLUSÃO

Esta atividade contribuiu para o enriquecimento do conteúdo teórico, uma vez que todos foram estimulados a participar das atividades. Com isso, puderam constatar toda etapa de estágio de decomposição de um ser vivo e como os insetos são importantes nesse processo, informações que vinham apenas na forma de texto nos livros ou em explicações. A utilização desta prática tornou o processo de ensino-aprendizagem mais atrativo para os estudantes.

REFERENCIAS

AL-FARRA, R. A.; LOPES, P. T. **Métodos Mistos de Pesquisa em Educação: Pressupostos Teóricos**. *Nuances: estudos sobre Educação*, v. 24(3), pp. 67-80. Disponível em <http://dx.doi.org/10.14572/nuances.v24i3.2698>. Acesso em: 27/set/2019.

BRASIL. **Orientações curriculares para o ensino médio**: Ciências da natureza, matemática e suas tecnologias. Brasília: Ministério da Educação, Secretaria de Educação Básica, v. 2, 2006. 135 p.

GONZAGA, Patricia da Cunha; SANTOS, Conceição de Maria Ribeiro dos; SOUSA, Francisca Maria da Cunha de; COSTA, Maria Lemos da. **A prática de ensino de biologia em escolas públicas: perspectivas na visão de alunos e professores**. In.: XVI ENDIPE - Encontro Nacional de Didática

e Práticas de Ensino - UNICAMP - Campinas – 2012. Disponível em: <http://endipe.pro.br/ebooks-2012/2600p.pdf>. Acesso em 16/fev/2019.

KNECHTEL, Maria do Rosário. **Metodologia da pesquisa em educação: uma abordagem teórico-prática dialogada**. Curitiba: Intersaber, 2014. 193 p.

HOLBROOK, Jack; RANNIKMAE, Miia. **Motivational Science Teaching Using a Context-Based Approach**. B. Science Education: A Global Perspective. 2016. Disponível em: DOI 10.1007/978-3-319-32351-0_10. Acesso em: 01 mar 2019.

MARQUES, A. M. A. **Entomologia forense: análise da entomofauna em cadáver de *Sus scrofa (linnaeus)*, na região de Oeiras**, Portugal. 2008. 66 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente) - Universidade de Lisboa / Faculdade de Ciências Departamento de Biologia Animal. Portugal. Lisboa. 2008. Disponível em: https://www.academia.edu/33101007/UNIVERSIDADE_DE_LISBOA_ENTOMOLOGIA_FORENSE_AN%C3%81LISE_DA_ENTOMOFAUNA_EM_CAD%C3%81VER_DE_SUS_SCROFA_LINNAEUS_NA_REGI%C3%83O_DE_OEIRAS_PORTUGAL. Acesso em: 16/fev/2019.

SALES, Dhalida Morganna Rodrigues de; SILVA, Flavia Pereira da. **Uso de atividades experimentais como estratégia de ensino de ciências**. In.: Encontro de ensino, pesquisa e extensão da Faculdade Senac, 2010. Disponível em http://www.faculdadesenacpe.edu.br/encontro-de-ensino-pesquisa/2011/IV/anais/poster/017_2010_poster.pdf. Acesso em: 18/abr/2019.

SENICIATO, Tatiana; CAVASSANI, Osmar. **Aulas de campo em ambientes naturais e aprendizagem em ciências – um estudo com alunos do ensino fundamental**. Ciências & Educação, v. 10, n. 1, p. 133-147, ano 2004. Disponível em <http://www.scielo.br/pdf/ciedu/v10n1/10>. Acesso em: 09/ago/2017.

SILVA, Richard Cordeiro da; SANTOS, Wellington Emanuel dos. **Fauna de Coleoptera associada a carcaças de coelhos expostas em uma área urbana no sul do Brasil**. EntomoBrasilis. v. 3, n. 5: p. 185-189, ano 2012. Disponível em <https://www.periodico.ebras.bio.br/ojs/index.php/ebras/article/view/245>. Acesso em: 09/ago/2017.

SOUZA, A. S. B. **Calliphoridae (Díptera) associado a cadáver de porco doméstico *Sus scrofa* (L) na cidade de Manaus**, Amazonas, Brasil. 66 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia-INPA/ Universidade Federal do Amazonas. Manaus. 2009. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/8f7e/76294aee9a8fdd6d39e27c1cec3044455967.pdf>. Acesso em: 09/ago/2017.

CONHECIMENTO TECNOLÓGICO PEDAGÓGICO DE CONTEÚDO NA PRÁTICA DOCENTE NO ENSINO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: POTENCIALIDADES E COMPETÊNCIAS

Data de aceite: 14/02/2020

Data de submissão: 07/02/2020

Joseval Freitas dos Santos

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Cruz das Almas-Bahia

Erica Pinheiro de Almeida

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Cruz das Almas-Bahia

<http://lattes.cnpq.br/2442461224306655>

Aliane da Fe Silva

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Cruz das Almas-Bahia

<http://lattes.cnpq.br/5042601111421480>

de Conhecimento Tecnológico e Pedagógico do Conteúdo - TPACK dos professores de Ciências Biológicas das escolas públicas da cidade de Conceição do Almeida-Ba e suas contribuições para potencialização do processo de ensino-aprendizagem, e, mais especificamente: conhecer cada componente do TPACK (Tecnologia, Pedagogia e Conteúdo) e de que forma eles podem ser aplicados na sala de aula; qual a importância das TDIC na educação e como elas contribuem no processo de ensino-aprendizagem nas aulas de Ciências Biológicas; reconhecer as potencialidades do TPACK como teoria educacional para expansão do conhecimento e melhoria das práticas pedagógicas. O estudo buscará responder à seguinte questão norteadora: De que modo o TPACK poderá potencializar o desenvolvimento do educando nas aulas de Ciências Biológicas? De modo que, o estudo busca compreender as competências necessárias para a utilização do TPACK e sua relação com as TDIC de modo a não tornar o ensino obsoleto, confundindo informação com conhecimento, sendo necessário o professor refletir sobre o uso das tecnologias em suas aulas de Ciências Biológicas, inserindo pedagogicamente ao conteúdo, contribuindo para o processo ensino-aprendizagem e consequentemente, suscitando

RESUMO: A presente pesquisa, tematiza sobre o Conhecimento Tecnológico Pedagógico de Conteúdo na prática docente no ensino de Ciências Biológicas: potencialidades e competências, a partir de uma pesquisa exploratória e descritiva, com abordagem qual-quantitativa, utilizando como procedimento de coleta de dados um levantamento de dados por meio de um questionário, tendo como sujeitos 05 docentes de duas escolas públicas do município de Conceição do Almeida-BA, com o objetivo de identificar e analisar o grau

discussões, debates e levantamentos de informações acerca do uso das tecnologias presentes no cotidiano e, principalmente, no espaço escolar, potencializando a educação do futuro.

PALAVRAS-CHAVE: Conhecimento. TPACK. TDIC. Ensino de Ciências Biológicas.

PEDAGOGICAL TECHNOLOGICAL KNOWLEDGE OF CONTENT IN TEACHING PRACTICE IN THE TEACHING OF BIOLOGICAL SCIENCES: POTENTIALITIES AND COMPETENCIES

ABSTRACT: The present research, tematizes on the pedagogical technological knowledge of content in the teaching practice in the Education of biological Sciences: potentialities and competencies, from an exploratory and descriptive research, with quali-quantitative approach, Using as a data collection procedure a survey of data through a questionnaire, having as subjects 05 professors from two public schools in the municipality of Conceição do Almeida-BA, with the objective of identifying and analyzing the degree of knowledge Technological and pedagogical content-TPACK of the teachers of biological sciences of public schools in the city of Conceição do Almeida-Ba and their contributions to potentialize the teaching-learning process, and more specifically: to know each Component of the TPACK (technology, pedagogy and content) and how they can be applied in the classroom; What is the importance of TDIC in education and how they contribute in the teaching-learning process in biological sciences classes; Recognizing the potentialities of the TPACK as an educational theory for expanding knowledge and improving pedagogical practices. The study will seek to answer the following guiding question: how can the TPACK potentiate the development of the student in biological sciences classes? Thus, the study seeks to understand the competencies necessary for the use of TPACK and its relationship with the TDIC so as not to make the teaching obsolete, confusing information with knowledge, and it is necessary for the teacher to reflect on the use of technologies In his biological sciences classes, pedagogically inserting the content, contributing to the teaching-learning process and consequently, raising discussions, debates and surveys of information about the use of technologies present in Daily life and, especially, in the school space, enhancing the education of the future.

KEYWORDS: Knowledge. TPACK. TDIC. Teaching of Biological Sciences.

1 | INTRODUÇÃO

O presente estudo busca identificar como as Tecnologias Digitais da Informação e Comunicação - TDIC podem influenciar a formação do professor de Ciências Biológicas, constituindo-se em recursos que potencializam as estratégias pedagógicas para o ensino e a aprendizagem do conteúdo curricular, uma vez

que, a prática docente requer um saber-fazer com atitudes, flexibilidade e fluência da tecnologia, pedagogia e conteúdo curricular, visando elucidar as estruturas que compõem o processo de ensino-aprendizagem da disciplina, com ênfase no (*Technological Pedagogical Content Knowledge*) ou Conhecimento Tecnológico e Pedagógico do Conteúdo - TPACK.

O TPACK refere-se à forma sintetizada de conhecimento com a finalidade de integrar as TDIC e tecnologias educacionais para o ensino e aprendizagem em sala de aula (CHAI; KOH; TSAI, 2013). Essa nova teoria educacional elucida a possibilidade de enfrentamento do desafio em aproximar ensino e tecnologia, pelos professores e até mesmo pelos educandos.

Deste modo, o presente trabalho objetivou analisar o grau de Conhecimento Tecnológico e Pedagógico do Conteúdo - TPACK dos professores de Ciências Biológicas das escolas públicas da cidade de Conceição do Almeida-Ba, e suas contribuições para potencialização do processo de ensino-aprendizagem.

O estudo caracteriza-se como uma pesquisa exploratória e descritiva, com abordagem quali-quantitativa, tendo-se como procedimento de coleta de informação um levantamento de dados por meio de um questionário realizado com 05 (cinco) professores licenciados em Ciências Biológicas.

Verifica-se que, o modelo teórico (TPACK) Conhecimento Tecnológico e Pedagógico do Conteúdo é que “delineia os conhecimentos necessários para a prática docente, apoiando-se no entrelaçamento em três eixos de saberes, isto é, os conhecimentos pedagógicos, conhecimentos tecnológicos e os conhecimentos dos conteúdos” (CARDOSO *et al*, 2018).

Assim sendo, o estudo traz uma análise do TPACK demonstrando como esse modelo teórico traz um diferencial para as aulas não só de Ciências Biológicas como de outras disciplinas, inserindo e fazendo uma relação adequada entre conteúdo, pedagogia e tecnologias.

2 | DA ORIGEM DO TPACK A SUA EFETIVAÇÃO COMO FERRAMENTA DE ENSINO

O TPACK se disseminou nos Estados Unidos, além do Brasil e outros países latinos americanos, sendo criado pelos autores Koehler e Mishra (2006, 2008), com a perspectiva de traçar um diálogo concernente à formação de professores, bem como, acerca das Tecnologias Digitais de Comunicação e Informação – TDIC como potencializador das práticas pedagógicas. Os autores Koehler e Mishra ampliaram seus conceitos sobre as TDIC no processo de ensino baseados nas ideias de Shulman (1987). Em 2006, o TPACK passou a ser considerado componente de investigação entre educadores interessados na área de tecnologia educacional (SANTOS; EGIDO, 2016).

O modelo teórico TPACK fundamentado nas propostas de Mishra e Koehler (2006) apontam os conhecimentos necessários para a prática docente, apoiando-se no entrelaçamento das três bases de conhecimentos docente, isto é, os eixos ou saberes do conhecimento pedagógico, conhecimento tecnológico e conhecimento do conteúdo, conhecido como TPACK, em virtude de seu acrônimo na língua inglesa, ou seja, Technological Pedagogical Content Knowledge (SANTO *et al*, 2018, p.3).

Shulman (1987) elucidada que, o professor para ser professor precisa ter um conhecimento mínimo, sobre: conhecimento de conteúdo, conhecimento pedagógico geral, conhecimento de currículo, conhecimento pedagógico do conteúdo, conhecimento dos alunos, conhecimento dos contextos educacionais e por fim, conhecimento das finalidades educacionais (CIBOTTO, 2015).

Cada base de conhecimento mínimo citado por Shulman (1987) são os conhecimentos que o professor precisa saber, a fim de mediar os conteúdos básicos a um público específico, pois o professor deverá por meio das categorias conteúdo e pedagogia adaptar pedagogicamente o conhecimento de determinada disciplina às capacidades de aprendizagem apresentadas pelos educandos (CIBOTTO, 2015).

Entender o TPACK perpassa compreender a base do *framework* delineado por Koehler e Mishra, representado pelo diagrama de Venn, onde três círculos se sobrepõem, representando distintamente os conhecimentos dos professores, sendo que essa tríade corresponde às conexões existentes entre TDIC e abordagens pedagógicas específicas, além de conteúdos curriculares, havendo uma interação entre cada elemento, a fim de que a produção do ensino se baseie em tecnologias educacionais (CIBOTTO, 2015).

De modo que, o modelo TPACK possibilita o reconhecimento das dimensões do conhecimento, delimitado em três tipos fundamentais de conhecimentos: Conhecimento do conteúdo (CK); Conhecimento Pedagógico (PK) e Conhecimento Tecnológico (TK), esses três tipos inter-relacionados dão vazão a outros quatro tipos fundamentais: Conhecimento Pedagógico de Conteúdo (PCK), Conhecimento Pedagógico da Tecnologia (TPK), Conhecimento Tecnológico de Conteúdo (TCK) e a união de todos os componentes resulta em Conhecimento Tecnológico e Pedagógico do Conteúdo (TPACK) (CIBOTTO, 2015; CIBOTTO, 2013).

O Conhecimento Tecnológico (TK) de acordo o referencial de Mishra e Koehler (2006) trata-se do conhecimento da tecnologia digital, bem como, de outras tecnologias. Assim sendo, Cibotto (2015, *apud* Mishra e Koehler, 2006) cita que, o Conhecimento Tecnológico é conhecimento padrão, envolve livros, giz e quadro negro, além das tecnologias mais avançadas, exemplo, Internet, Vídeo Digital, e, sobretudo, envolvem as habilidades necessárias para operar determinadas tecnologias.

Nesse contexto, os autores, destacam ainda que as tecnologias digitais

envolvem os Sistemas Operacionais e *Hardwares*, um conjunto de ferramentas de *Softwares*, instalação e remoção de dispositivos periféricos, instalar e remover programas, criar, editar e arquivar documentos.

De modo que, Mishra e Koehler (2006) esclarecem que o Conhecimento Tecnológico (TK) envolve a capacidade de aprender e de se adaptar as tecnologias, destacando ainda que, são independentes das tecnologias consideradas específicas. (CIBOTTO, 2017). Compreende-se diante do exposto, que o papel do professor diante dessas argumentações perpassa mais que o fazer básico da sala de aula, envolve domínio das TDIC, aprendizado e adaptação dessas tecnologias ao conteúdo da disciplina ministrada.

Esse conhecimento está em contínua evolução (CIBOTTO, 2017), sendo de acordo com o autor, difícil adquiri-lo e mantê-lo atualizado, isso por que, os professores muitas das vezes não dispõem de tempo para um estudo mais aprofundando e maior reflexão acerca da modernização dessas tecnologias, sendo qualquer definição que se tente estabelecer sobre o conhecimento tecnológico, obsoleta, dada a evolução dia após dia.

3 | O CONHECIMENTO PEDAGÓGICO DO CONTEÚDO – PCK

O Conhecimento Pedagógico do Conteúdo ocorre por meio da interseção e interação da pedagogia com o conhecimento do conteúdo, ou seja, possui forte relação com as questões pedagógicas, ao conteúdo, tendo como foco principal efetivar o processo de aprendizagem.

O PCK é tratado por Schulman (1987) como uma necessidade de o professor transformar o conhecimento que ele detém do conteúdo em formas pedagógicas adaptadas as necessidades apresentadas pelos alunos. Já Mishra e Koehler (2006) inferem que o conhecimento pedagógico do conteúdo abarca mais que ser um especialista em uma determinada disciplina. Implica conhecer e aplicar estratégias de ensino que incorporem representações conceituais pautadas nas dificuldades que o aluno demonstra, o conhecimento que ele já traz consigo, equívocos e situações deturpadas, utilizando esses aspectos como estratégias para o processo de aprendizagem e consequentemente promover uma compreensão significativa de determinado conteúdo.

Cibotto (2013) afirma que, “o PCK é o conhecimento que visa integrar a tecnologia e o pedagógico, isto é, a variação da metodologia com o recurso utilizado”.

De acordo com Coutinho (2011), esse conhecimento relaciona-se com o conhecimento do conteúdo e o conhecimento tecnológico, isto é, possui relação com a tecnologia mais adequada para se ensinar um determinado conteúdo.

Esse conhecimento tecnológico, segundo expõe o autor, possui relação com

o que o professor ensina e domina acerca do trabalho com um tema associando ao mesmo o uso de uma tecnologia.

Gottardo (2016, p.22) destaca que uma aula com TCK envolve uma tecnologia trabalhada junto ao conteúdo, não havendo a necessidade de construção de uma sequência didática. De modo que, o professor que possui compreensão do TCK, reflete sobre a aplicação da tecnologia com o assunto que será ensinado, levando em consideração como os alunos poderão aprender as diferentes tecnologias e o conteúdo ensinado.

O Conhecimento Pedagógico de Conteúdo Tecnológico – TPACK conforme explica Coutinho (2011) delimita a relação entre tecnologia, pedagogia e conhecimento de conteúdo, buscando compreender o equilíbrio que ocorre entre eles, trabalhando a importância destes, bem como, a relação entre cada um desses pilares.

Ao enfatizar essa relação, pode-se perceber que, para Coutinho (2011) esse seria um dos aspectos principais para uma educação de qualidade, haja vista, que o professor detendo um conhecimento abalizado sobre o TPACK, o mesmo poderá utilizá-lo nas diversas etapas de ensino, sendo aplicado de forma planejada.

Para Pessoa e Costa (2015), o TPACK funciona como uma tecnologia que contribui de forma significativa no aprendizado, evidentemente, os autores destacam que o professor precisa compreender quais tecnologias são capazes de contribuir e/ou auxiliar na construção de conhecimento, uma vez que, na aplicação de conteúdos curriculares mais complexos, faz-se necessário que, a escolha da tecnologia esteja, ou faça relação com que, e como ensinar, isto é, o professor deverá adequar o recurso tecnológico utilizado as necessidades não só do conteúdo, mas em especial, do educando.

Conforme destacado por Lara (2011) a utilização do TPACK justifica-se pela relação estabelecida entre os conhecimentos de conteúdo, pedagógico e tecnológico, os quais são fundamentais para um ensino contextualizado.

Desta forma, pode-se perceber que o modelo TPACK correlaciona tecnologia ao conteúdo, possibilitando que as TDIC (Tecnologia Digital de Informação e Comunicação) sejam elementos facilitadores da aprendizagem, uma vez que, as tecnologias funcionam como importantes recursos estratégicos de ensino.

No TPACK o processo ensino-aprendizagem ocorre a partir da junção de diferentes elementos, conteúdos e tecnologias, e a seguir, pela compilação dos três pilares: conteúdo + pedagogia + tecnologia.

Assim, a articulação desses três pilares ou conhecimentos, conforme Lopes (2011) constituem a base para a estruturação do TPACK, buscando o alcance dos objetivos no que tange ao processo ensino-aprendizagem, cingindo as relações estabelecidas entre esses pilares (conteúdo, pedagogia e tecnologia), sem, contudo,

ignorar a complexidade existente, individual ou coletiva.

4 | O TPACK NA FORMAÇÃO DO PROFESSOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

No seu processo formativo, o professor precisa estar munido de três tipos de conhecimento – conhecimento do conteúdo, conhecimento pedagógico e conhecimento tecnológico aliando as TDIC ao ensino, e, esse é um dos aspectos em que se pauta o TPACK, onde as intersecções de conhecimentos tecnológicos, pedagógicos e do conteúdo são o fio condutor para o trabalho com as tecnologias em sala de aula.

No ensino de Ciências Biológicas, bem como, no ensino em geral, existe a necessidade de diversificar a metodologia. Conforme explicam Santo (*et al*, 2018, p.3),

O aprofundado nível do conhecimento tecnológico pedagógico do conteúdo (TPACK) se constitui em uma premente necessidade para os docentes que atuam em qualquer nível de ensino, visto se tratar de uma variável que contribui para o sucesso do processo de ensino e aprendizagem.

Nesse contexto, o professor deverá estar em seu processo formativo preparado para usar as TDIC pedagogicamente, no que tange aos procedimentos de ensino-aprendizagem de Ciências Biológicas.

Brasil (2008, *apud* Pessoa e Costa, 2015, p.3) destaca que, as orientações curriculares para o ensino médio, estabelecem que o ensino da ciência, em particular o ensino de Biologia, deve possibilitar ao aluno a participação nos debates contemporâneos, através de uma sólida formação conceitual e de uma perspectiva de raciocínio crítico frente a sua realidade. O ensino deve atender a necessidade de inserção social de seu público alvo, possibilitando que os estudantes tenham uma participação ativa na sociedade.

No que tange ao TPACK no ensino das Ciências, Sampaio e Coutinho (2012), salientam que, o TPACK impõe ao professor a tarefa de entender as técnicas pedagógicas, as quais permitem que as TDIC sejam efetivamente utilizadas visando a construção do conhecimento por parte do educando.

A tecnologia digital vem se inserindo nos diversos campos, tanto da sociedade, quanto da educação, desta forma, exige-se na formação do professor de Ciências Biológicas uma nova cultura profissional, capaz de fornecer ferramentas teórico-metodológicas ao ensino da disciplina. Pois para ensinar Ciências Biológicas, assim como qualquer outro conteúdo, o professor precisa ser criativo, não se limitando apenas em apresentar os conteúdos propostos, antes, o mesmo deve suscitar por meio de discussões, debates a capacidade exploratória e reflexiva de seus educandos.

À medida que o professor fizer a inserção de ferramentas computacionais, bem como, as outras TDIC na aplicação dos conteúdos da disciplina a qual ensina, possibilitará ao educando experimentar e experienciar as diversas possibilidades de aprendizagem.

Assim sendo, Lemes (2011) afirma que, para a escola poder alcançar seus objetivos de formar cidadãos com competências práticas, técnicas e cognitivas para se inserirem no atual contexto social, é urgente e necessário ao sistema de ensino, além de modernizar seu espaço físico, prover a formação dos professores para o trabalho com essas tecnologias. Portanto, para que isso ocorra, o TPACK em seu modelo teórico tende a revolucionar a compreensão do professor acerca de suas competências em TDIC trabalhadas na sua área de atuação.

5 | ANÁLISE DOS RESULTADOS

O primeiro dado levantado a partir do estudo realizado e aplicação de questionários foi a faixa etária dos participantes. Foi identificado que 60% dos participantes possuem uma faixa de idade de 30 a 39 anos, e 40% possuem até 29 anos.

Verificou-se também, o tempo de experiência dos docentes no Magistério. Foi identificado que 20% desses docentes atuam no Magistério entre 05 a 10 anos, sendo que 40% deles atuam no Magistério entre 10 a 15 anos. De modo que, o levantamento de dados a respeito do tempo de atuação no Magistério se justifica por considerar que um maior tempo de atuação é fator favorável ao desenvolvimento e aplicação do conhecimento pedagógico, tecnológico do conteúdo e consequentemente uso das TDIC em suas aulas.

Observou-se diante dos dados que 80% dos docentes possuem especialização, a qual não foi especificada, tendo um percentual de 20% com graduação, o que denota que a maioria dos participantes têm e/ou demonstram preocupação em estarem com uma formação acadêmica atualizada.

A segunda parte do questionário teve como objetivo investigar o conhecimento pedagógico tecnológico do conteúdo (TPACK), delimitando alternativas que buscavam compreender o nível de conhecimento tecnológico de cada docente, assinalando entre: nenhum, pouco, moderado, bom ou completo, tendo como critério a percepção pessoal de cada um dos profissionais.

Conhecimento tecnológico	Nenhum	Pouco	Moderado	Bom	Completo
Resolvo um problema técnico no computador	-	4	-	1	-

Conheço o básico sobre hardware (placa mãe, RAM) e suas funções	2	-	2	1	-
Conheço o básico sobre softwares (Windows, Office) e suas funções	-	-	3	1	1
Acompanho as recentes tecnologias de computadores	-	1	1	2	1
Utilizo programa de processador de texto (MS Word etc.)	-	-	-	4	1
Utilizo programa de planilha eletrônica (MS Excel, etc.)	-	1	1	3	-
Comunico-me por meio das ferramentas da internet (E-mail, aplicativos etc.)	-		1	3	1
Utilizo programa de edição de imagens (Paint etc.)	-	1	1	3	-
Utilizo programa de apresentação (MS PowerPoint etc.)	-	-	-	4	1
Consigo salvar informações em mídia digital (pendrive, nuvem etc.)	-	-	-	3	2
Utilizo softwares específicos da área	-	-	3	2	
Utilizo impressora	-			4	1
Utilizo projetor	-	-	1	4	
Utilizo scanner		1	-	4	-
Utilizo câmera digital	-	1	-	3	1

QUADRO 1 – Conhecimento Tecnológico

Fonte: Dados da pesquisa elaborado pelo autor, 2019.

Observa-se que o conhecimento tecnológico apresentado pelos mesmos é bem significativo, no que tange a utilização dessas TDIC em suas aulas. Sabino (2014) aborda que os professores vivenciam atualmente um período de transição, uma vez que, as tecnologias trazem inúmeras possibilidades de trabalho em sala de aula, por outro lado é um grande desafio, visto que adequar estes recursos a prática necessita um planejamento visando o desenvolvimento do aluno e o contexto que é abordado.

Compreende-se diante do exposto, que é de suma importância que os docentes tenham algum conhecimento sobre as TDIC, a fim de poderem utilizá-las na aplicação de conteúdos da disciplina que ensinam e que a utilizem adequadamente num contexto pedagógico e não apenas, utilizar a tecnologia sem nenhum fundamento.

Conhecimento tecnológico pedagógico do conteúdo	Nenhum	Pouco	Moderado	Bom	Completo
Integro apropriados métodos de ensino e tecnologias em minha área	-	-	1	4	-
Seleciono estratégias e tecnologias atuais que auxiliam ensinar o conteúdo de forma efetiva	-	-	2	3	-

Ensino com sucesso combinando os conhecimentos do conteúdo, pedagogia e tecnologia	-	-	-	4	1
Exerço um papel de liderança entre meus colegas na integração do conhecimento do conteúdo, pedagogia e tecnologia	1	-	2	2	-
Ensino um assunto utilizando diferentes estratégias de ensino e ferramentas computacionais.	-	-	1	4	-

QUADRO 2 – Conhecimento tecnológico pedagógico do conteúdo

Fonte: Dados da pesquisa elaborado pelo autor, 2019.

O quadro 2 trata do conhecimento tecnológico pedagógico do conteúdo, percebe-se que de todas as alternativas expostas a maioria dos docentes afirmam ter conhecimento “bom”, isto é, 80% dos docentes. Vale salientar que esse conhecimento, “Trata-se da base do que se pode chamar de um “bom ensino” e pressupõe a representação de conceitos teóricos utilizando tecnologias, bem como técnicas e aportes pedagógicos na transposição didática do conteúdo” (MISHRA; KOEHLER, 2006; ROLANDO *et al*, 2015).

Tecnologias Digitais de Informação e Comunicação	Nenhum	Pouco	Moderado	Bom	Completo
Você realiza atividades utilizando recursos tecnológicos no processo de aprendizagem no ensino de ciências e/ou biologia?	-	-	1	4	-
Gravação e edição de vídeos (celular, tablets, etc.)	-		2	2	1
Gravação e edição de áudios (Podcast)	-	1	3	1	-
Funções básicas do software de apresentação (PowerPoint, Prezi etc.)	-	-	1	4	-
Redes sociais (Facebook, WhatsApp, etc.)	-	-	-	2	2
Livros eletrônicos (E-book etc.)	-	2	-	3	-

QUADRO 3 – Tecnologias Digitais de Informação e Comunicação

Fonte: Dados da Pesquisa elaborada pelo autor, 2019.

Sobre as TDIC observa-se que elas já estão presentes nas escolas, suscitando formas diversificadas de ensinar e aprender, pois propiciam não só aos professores, mas aos educandos o acesso a informações e mídias, que podem e devem ser utilizadas visando a construção do conhecimento, segundo Cardoso (*et al*, 2013) “A aplicação das tecnologias digitais na educação apresenta grande relevância tanto no sistema educacional brasileiro, quanto para a sociedade em geral”.

Santo (*et al*, 2018, p.3) afirma que, nestes tempos de modernidade líquida, torna-se desafiador atuar como docente, pois não é mais possível repetir os mesmos

procedimentos didáticos e pedagógicos amplamente utilizados na sua formação. É preciso se ajustar às demandas impostas pela sociedade da informação que utiliza as Tecnologias Digitais da Informação e Comunicação (TDIC) como ferramenta do seu cotidiano.

6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse contexto, os dados levantados por meio da pesquisa, possibilitou fazer inferências acerca dos objetivos propostos para o estudo, sendo possível analisar como os docentes entrevistados percebem os componentes do TPACK, sendo analisados, conhecimento tecnológico, conhecimento pedagógico, conhecimento do conteúdo, conhecimento tecnológico pedagógico, conhecimento pedagógico do conteúdo e, por fim, conhecimentos das tecnologias digitais de informação e comunicação – TDIC.

Referente às abordagens destacadas sobre TPACK, os professores demonstram conhecimento sobre esse modelo teórico e seus componentes, no entanto, as respostas dos mesmos, deixa claro suas percepções considerando que as alternativas propostas variam entre: nenhum, pouco, moderado, bom e completo, e as respostas obtidas pelos professores variam entre moderado, bom e completo, embora não existe a opção de explicarem o porquê consideram seu nível de conhecimento da forma assinalada.

Percebe-se, diante disso, a necessidade de um processo formativo mais abalizado, voltado para o TPACK e de que forma este componente teórico pode ser inserido mais adequadamente na metodologia de ensino das Ciências Biológicas, um dos aspectos destacados neste estudo.

Estudar acerca do TPACK e sua forte relação com o uso das TDIC é um assunto que não se esgota, uma vez que, é possível perceber os recursos tecnológicos nas diversas esferas do conhecimento e tornar possível também, a utilização desses recursos de modo pedagógico e adequado ao componente curricular de todas as disciplinas.

REFERÊNCIAS

BRASIL. **Orientações Curriculares para o Ensino Médio:** Ciências da Natureza, Matemática e suas Tecnologias. Brasília: Ministério da Educação, 2008. Volume 2.

CARDOSO, A. L.; SANTO, Eniel do Espírito; MOREIRA, J. A. M. Conhecimento Tecnológico e Pedagógico do Conteúdo: um estudo com docentes do ensino superior. In: Kátia Soane Santos Araújo; Rosangela Patricia de Sousa Moreira. (Org.). **As tecnologias na educação:** desafios e possibilidades na prática docente. Curitiba: CRV, 2018, p. 325-336.

CIBOTTO, R. A. G.; OLIVEIRA, R. M. M. A. **TPACK – Conhecimento Tecnológico e Pedagógico do**

Conteúdo: uma revisão teórica. *Imagens da Educação*, Maringá, v. 7, n. 2, p. 11 23, 2017. Disponível em:<<http://doi.org/10.4025/imagenseduc. v7i2.34615>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

CIBOTTO, R. A. G. O uso pedagógico das Tecnologias da Informação e Comunicação na formação de professores: uma experiência na Licenciatura em Matemática. 2015. 273 f. Tese (Doutorado em Educação). Programa de Pós-Graduação em Educação, UFSCar, São Carlos, 2015.

CHAI, Ching Sing; KOH, Joyce Hwee Ling; TSAI, Chin-Chung. A Review of Technological Pedagogical Content Knowledge. **Educational Technology & Society**, 16 (2), 31–51, 2013.

COUTINHO, Clara Pereira. TPACK: em busca de um referencial teórico para a formação de professores em Tecnologia Educativa. **Revista Paidéi@**, UNIMES VIRTUAL, v. 2, n. 4. jul, 2011.

SANTO, E. E.; CARDOSO, A. L.; SANTOS, A. G. Conhecimento Tecnológico Pedagógico Do Conteúdo (TPACK). **CIET: EnPED**, [S.I.], maio 2018. ISSN 2316-8722. Disponível em: <<http://cietenped.ufscar.br/submissao/index.php/2018/article/view/264>>. Acesso em: 09 fev. 2019.

GOTTARDO, Laís. **Compreensões do Conhecimento do Professor ligadas as Tecnologias da Informação e Comunicação no Ensino de Ciências e Biologia. 2016**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Ciências Biológicas, Cerro Largo, RS, 2016. Disponível em <https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/367>. Acesso em 29 jan. 2019.

KOEHLER, M.; MISHRA, P. **Technological pedagogical content knowledge:** A new framework for teacher knowledge. **Teachers College Record**, 108 (6), 2006, p. 1017-1054.

LARA, A. L. de et al. O PIBID, o ENPEC e os trabalhos sobre tecnologias de informação e comunicação no ensino de ciências: algumas reflexões e possíveis relações. In: ENCONTRO NACIONAL DE PESQUISA EM EDUCAÇÃO EM CIÊNCIAS, 8., 2011, Campinas. **Anais**. Campinas: Abrapac, 2011. p. 1 - 10. Disponível em: <http://www.nutes.ufrj.br/abrapec/viienpec/resumos/R1067-1.pdf>. Acesso em 20 jan.2019.

LEMES, Rogério. **Gestão por competências no setor público**. Rio de Janeiro: Qualitymark, 2011.

PESSOA, G. P.; COSTA, F. de J. **Technological Pedagogical Content Knowledge (TPACK) no ensino de ciências: qual é a possibilidade?** In: X ENCONTRO NACIONAL DE PESQUISA EM EDUCAÇÃO EM CIÊNCIAS, 10., 2015, Água de Lindóias. Anais. São Paulo: Abrapac, 2015. v. 10, p. 1 - 8. Disponível em <http://www.abrapacnet.org.br/enpec/x-enpec/anais2015/resumos/R11511.PDF>. Acesso em 29 jan. 2019.

ROLANDO, L. G. R. et al. O conhecimento tecnológico pedagógico do conteúdo no contexto lusófono: uma revisão sistemática de literatura. **Revista Brasileira de Informação na Educação**, vol. 23, n. 3, p. 174-190, 2015. Disponível em: <http://www.br-ie.org/pub/index.php/rbie/article/view/3331> Acesso em: 18 jan.2019.

SABINO, Eliney. **Uso de software de interação no ensino fundamental:** apoio à formação do aluno com monitorização e controle de processos educativos / Eliney Sabino. – Belo Horizonte, 2014. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Empresariais (FACE) Curso de Pós-Graduação Stricto Sensu – Mestrado em Sistemas de Informação. Disponível em <http://www.fumec.br/revistas/sigc/article/viewFile/2316/1384>. Acesso em 25 jan.2019.

SAMPAIO, Patricia; COUTINHO, Clara. Avaliação do TPACK nas atividades de ensino e aprendizagem: um contributo para o estado da arte. **Revista Educa Online**. V. 6 – N. 3 Setembro/Dezembro de 2012. Universidade Federal do Rio de Janeiro – Escola de Comunicação. Laboratório de Pesquisa em Tecnologias da Informação e da Comunicação – LATEC/UFRJ.

SANTOS, Luciane Mulazani dos; EGIDO, Sidnéia Valero. **Conhecimento Pedagógico e Tecnológico do Conteúdo. COLBEDUCA.** II Colóquio Luso-Brasileiro De Educação Joinville / SC, 5 e 6 de setembro de 2016. Disponível em www.revistas.udesc.br/index.php/colbeduca/article/

download/8330/6140. Acesso em 20 Jan.2019.

SHULMAN, Lee S. Those Who Understand: knowledge growth in teaching. **Educational Research**.v. 12, n. 2, p. 4 – 14, 1986.

ASPECTOS BIOLÓGICOS-MOLECULARES DO ENVELHECIMENTO CUTÂNEO

Data de aceite: 14/02/2020

FuNati- Manaus- AM. Link Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3539187433205801>

Moisés H. Mastella

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS. Link Lattes: <http://lattes.cnpq.br/434501033288166>

Ivana B. M. da Cruz

Programa de Pós-Graduação em Gerontologia e Programa de Pós-Graduação Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS. Link Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3426369324110716>

Neida L.K. Pellenz

Laboratório Biogenômica, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS. Link Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5269363454655292>

Fernanda Barbisan

Programa de Pós-Graduação em Gerontologia e Programa de Pós-Graduação Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS. Link Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1428674947616182>

Liana Marques dos Santos

Programa de Pós-Graduação em Distúrbios da Comunicação Humana, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS. Link Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0131332430440217>

Jéssica de Rosso Motta

Programa de Pós-Graduação em Gerontologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS. Link Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5521000675513310>

Thamara Graziela Flores

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS. Link Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1885218080678884>

Nathália Cardoso de Afonso Bonotto

Laboratório de Biogenômica, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS. Link Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4055216682279933>

Ednea Aguiar Maia- Ribeiro

Fundação Universidade Aberta da Terceira Idade-

RESUMO: A conquista de tempos cada vez maiores de vida, faz da longevidade uma realidade. Entretanto, associado ao processo de envelhecer diversas disfunções e modificações ocorrem no organismo, incluindo as da pele. Mesmo que as modificações da pele associadas ao envelhecimento, não necessariamente representem condições letais, estas podem comprometer a qualidade de vida dos indivíduos, por diminuir a autoestima, interferindo na qualidade de vida e predispondo até mesmo a transtornos psiquiátricos como a depressão. Assim neste capítulo objetivamos elencar aspectos biológicos/ moleculares do envelhecimento cutâneo relevantes visando

uma compreensão mais aprofundada, que possa contribuir para o desenvolvimento de estratégias de prevenção e tratamento.

PALAVRAS-CHAVE: Genes, Inflamação, Senescência, P53

BIOLOGICAL-MOLECULAR ASPECTS OF SKIN AGING

KEYWORDS: Genes, Inflammation, Senescence, P53

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento social e tecnológico de um país é um dos fatores condicionantes para a transição demográfica da população. Através do avanço dessas questões aliadas, por vezes, a questões culturais, observa-se uma queda nas taxas de fecundidade ao mesmo tempo em que se tem redução nas taxas de mortalidade infantil. Como consequência dessas variáveis, a proporção de indivíduos jovens em relação ao de idosos sofre decréscimo, levando a um fenômeno demográfico conhecido como envelhecimento populacional (SCHNEIDER e IRIGARAY, 2008; VANZELLA, 2018).

No entanto, o fato de as pessoas estarem vivendo mais tempo, não significa necessariamente que elas estejam vivendo de forma mais saudável e com maior qualidade de vida (ONU, 2016). Uma vez que existe um número considerável modificações, disfunções e doenças crônicas não-transmissíveis que acometem os idosos. Esta condição está diretamente associada ao envelhecimento biológico que representa a última etapa do desenvolvimento que antecede a morte. As disfunções e modificações na pele, com certeza são as mais marcantes ao longo do envelhecimento humano, uma vez que são bastante visíveis.

Mesmo que as modificações da pele associadas ao envelhecimento, não necessariamente representem condições letais, estas podem comprometer a qualidade de vida dos indivíduos, por diminuir a autoestima, muitas vezes expor o idoso a situações constrangedoras, interferindo na qualidade do sono, aumentando o risco de depressão, e isolamento social (BARROS, 2014; SANTOS, 2017). Deste modo, a compreensão dos aspectos biológicos/ moleculares do envelhecimento cutâneo é relevante.

DESENVOLVIMENTO

A pele e seu envelhecimento

A pele é considerada o maior órgão do corpo desempenhando funções de

vital importância para a sobrevivência já que protegem o organismo contra agentes externos patogênicos e não-patogênicos, ajuda a controlar a homeostasia corporal, em especial temperatura e umidade e apresenta também uma rede de receptores sensoriais que auxiliam o organismo a perceber pressão, frio, calor, dor e outros sensações relevantes (DOUGLAS, 2006; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013; SANTOS, 2014). Em termos estruturais a pele é formada pela epiderme e a derme.

O tecido epitelial, na pele, é dotado de variedade funcional sendo constituído por diferentes tipos de células e por uma matriz extracelular (MEC) escassa, ainda que composta por diversos tipos de moléculas, algumas das quais são altamente organizadas, formando estruturas complexas como as fibrilas de colágeno e as moléculas que compõe a membrana basal (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).

Os tecidos corporais formam arranjos de acordo com o tipo de célula e a quantidade de matriz extracelular por elas próprias produzidas. A pele é formada basicamente por três camadas: epiderme, derme e hipoderme.

O envelhecimento cutâneo (Figura 1) pode ser causado por dois fatores: o intrínseco e o extrínseco, onde o primeiro é um processo cronológico inevitável e geneticamente programado que pode ser visto, na pele, através das linhas de expressão, por exemplo, enquanto o segundo pode ser ocasionado via fotoenvelhecimento que é a exposição a raios ultravioleta (UV) (Tabela 1). Em termos histológicos, a integridade da pele pode ser comprometida quando a junção dermo-epidérmica é afetada reduzindo o aporte nutricional, a quantidade de células (mesmo as da camada hipodérmica), o tamanho e a presença de fibras de colágeno, levando a uma cicatrização mais lenta (JENKINS, 2002; KHAVKIN e ELLIS, 2011).

	Envelhecimento Intrínseco (Cronossenescência)	Envelhecimento Extrínseco (Actinossenescência)
Rugas	Finas	Profundas
Fibras Elásticas	Reorganizadas	Baixa produção Alta degeneração
Fibras de Colágeno	Pequena alteração no tamanho e organização	Grande alteração no tamanho e organização
Folículo Capilar	Baixo número e afinamento	Baixo número e estrutura: perda capilar
Melanócitos	Normal	Baixo número e produção de melanina
Glândulas sebáceas e sudoríparas	Baixo número	Baixo número: pele seca
Junção Dermo-epidérmica	Leve achatamento	Importante achatamento

Ação do envelhecimento intrínseco e extrínseco em diferentes áreas corporais

Tabela 1: Causas dos fatores intrínsecos e extrínsecos no processo de envelhecimento da pele.

Fonte: adaptado de MONTAGNER (2009).

A maioria dos autores reconhece que o envelhecimento da pele possui dois processos a cronossenescência ou intrínseco, e a actinossenescência ou extrínseco que são resultantes de fatores ambientais, especialmente radiação UV. As alterações por cronossenescência ocorrem de maneira igual em todas as partes do corpo. Já as mudanças decorrentes da actinos-senescência ocorrem principalmente no rosto, pescoço e mãos, locais com maior exposição (PERES et al., 2014).

As principais alterações do envelhecimento da pele incluem: adelgaçamento da membrana basal, responsável pela oxigenação, nutrição e retirada de metabólitos da epiderme. Esse processo torna a epiderme mais fina e mais suscetível a lesões (LeBLANC et al., 2011). Na derme os vasos sanguíneos tornam-se mais frágeis, aumenta a queratinização da epiderme, o sistema de ancoragem derme-epiderme torna-se menos resistente e a derme chega a perder 20% da espessura total, um dos principais fatores da chamada “pele de seda” (PERES et al., 2014).

A produção de colágeno é fortemente prejudicada e as fibras de colágeno tornam-se escassas, diminuindo a elasticidade e resistência da pele, ainda, a pele torna-se mais ressecada. A tela subcutânea fica mais fina e menos eficiente (LeBLANC et al., 2011; PERES et al., 2014).

Senescência sob a ótica biológica

Dada a complexidade do envelhecimento biológico e da modulação do tempo de vida nas espécies (longevidade), muitas teorias têm sido propostas, sem que até o presente momento exista uma real “teoria unificadora do envelhecimento” (ARKING, 2008). Contemporaneamente, a grande maioria dos autores reconhece que o envelhecimento biológico é desencadeado pela interação de fatores genético-ambientais (CRUZ e SCHWANKE, 2001; CRUZ, 2014). Neste sentido pode ser aceito que existe uma base constitutiva (genética) relacionada ao envelhecimento de cada espécie, mas este processo pode ser acelerado ou desacelerado, principalmente por fatores ambientais que agem de modo positivo ou negativo.

Autores como Lopez-Otín et al (2013) e Nicolai et al (2015) revisaram de modo aprofundado os marcadores moleculares e celulares do envelhecimento a fim de definir o chamado “fenótipo envelhecido”. (1) Marcadores primários do envelhecimento que incluem: danos no DNA (ácido desoxirribonucleico), encurtamento dos telômeros e alterações epigenéticas; (2) marcadores antagonistas, incluindo as EROs cujos efeitos inicialmente protegem o organismo de dano, mas tornar-se progressivamente negativo; (3) características integrativas, como inflamação ou exaustão no estoque de células-tronco que prejudicam diretamente a homeostase quando o processo que leva ao acúmulo de danos torna-se irreversível.

Em nível celular, o envelhecimento biológico se caracteriza por um acúmulo de alterações em diversos compartimentos celulares nos quais se destacam: (1) alterações em nível nuclear ocorrendo diminuição na taxa de reparo de mutações do DNA incluindo queda nos níveis transpcionais e pós-transpcionais relacionados à síntese de proteínas, alterações epigenética e encurtamento telomérico a cada divisão celular; (2) disfunção mitocondrial, incluindo aumento de mutações no DNA mitocondrial associados ao aumento nos níveis de EROs, o que contribui para o desencadeamento do estresse oxidativo e diminuição na eficiência produção energética (ATP); (3) diminuição na taxa de catalise de resíduos metabólicos pelos lisossomos levando ao acúmulo de moléculas conhecidas como “*damage-associated molecular patterns*, DAMPs”, que contribuem para o estabelecimento de estados inflamatórios crônicos associados ao envelhecimento (CRUZ, 2014).

No envelhecimento da pele, os processos de dano de DNA, encurtamento telomérico, e disfunção mitocondrial são críticos e por este motivo devem ser abordados de modo mais aprofundado.

Aspectos moleculares do envelhecimento cutâneo

Em condições fisiológicas estima-se que por dia ocorram cerca de 4000

mutações diferentes em aproximadamente 500 genes. Estas mutações ocorrem pelas chamadas genotoxinas endógenas ou exógenas. Estes fatores induzem danos genômicos que podem serem ocasionados e mantidos devido a erros na replicação do DNA associados à incorporação incorreta de bases por DNA polimerases. Nesse sentido, as atividades de reparo de DNA são essenciais para manter a estabilidade genômica e a própria vida. O acúmulo de mutações não reparadas, inicialmente leva a instabilidade genômica que é considerada um dos principais desencadeadores do processo de envelhecimento (NICOLAI et al., 2015; PRATES-MORI E SOUZA PINTO, 2018).

Se as lesões de DNA não são adequadamente reparadas ou são replicadas, elas são convertidas em mutações permanentes que aumentam significativamente o risco de câncer. Alternativamente, o dano ao DNA também pode interromper a replicação levando à senescência celular ou morte celular o que contribui para o processo de envelhecimento. Portanto, câncer e envelhecimento, ambos surgindo como consequência de danos irreparáveis ao DNA, podem ser considerados dois lados da mesma moeda (NICOLAI et al., 2015).

Principalmente no momento em que a célula se prepara para se dividir (fase S) danos no DNA ativam a proteína p53 que é considerada guardiã do genoma. Na realidade, esta proteína e outras moléculas como a p63 e a p73, incluídas na chamada “Família da Proteína p53” detectam os danos no DNA e podem: (1) interrompem o ciclo celular para facilitar as ações do reparo do DNA; (2) se estes danos são permanentes estas proteínas podem impedir a replicação da célula e estas tendem a apresentar um fenótipo senescente que inclui aumento do volume celular e aparência achatada. Estas células se tornam refratárias a mitógenos ou fatores de crescimento e modificam dramaticamente a sua expressão gênica e estrutura da cromatina; (3) conforme a intensidade dos danos no DNA a proteína p53 também pode induzir a apoptose por via mitocondrial (intrínseca) ativando a expressão do gene BAX e inibindo a expressão do gene Bcl-2. O aumento nos níveis da BAX induz a ocorrência de poros na membrana mitocondrial, com subsequente liberação do citocromo C para o citoplasma. A presença desta molécula acaba por ativar as rotas das caspases (CASP), incluindo a CASP-8 que é uma molécula iniciadora a CASP 3 que é uma proteína executora do processo apoptótico (NICOLAI et al., 2015; BARBON et al., 2016; ALMEIDA, 2017; FERRER et al., 2017).

A inativação do gene p53 ou mutação em um dos seus alelos, como ocorre na síndrome de *Li-Fraumeni*, é caracterizada pela formação de grande número de tumores, estreita a relação entre exposição a raios UV, dano no DNA e desenvolvimento de câncer de pele. Esses acontecimentos intranucleares são, na verdade, indutores da síntese de p53 e moléculas acessórias, como p21 e BAX responsáveis pela parada do ciclo antes da sequência replicativa, visto que os

níveis proteicos de p53 na célula estão, geralmente, em níveis basais (BENJAMIN e ANANTHASWAMY, 2007).

Outra questão importante diz respeito ao aumento da meia-vida proteica da p53 em células expostas a irradiação. Normalmente o produto do gene p53 tem duração curta dentro da célula, no entanto, considerando que a elevação de suas taxas pode significar, a nível celular, a possibilidade de início de carcinomas, a maior estabilização da proteína transcrita para atuar no reparo do DNA se faz necessária (BENJAMIN e ANANTHASWAMY, 2007).

Além disso, o gene p53 possui sequências di-pirimidinas no loco, o que, pela ação UV, favorece o surgimento de mutações no próprio gene de reparo como visto em camundongos. Brash et al (2005) demonstraram que a irradiação UV não apenas induz a mutação do gene, mas impulsiona o ciclo replicativo dessas células alteradas ao induzir apoptose em células normais vizinhas, criando um ambiente onde se faz necessário preenchimento com novas células, contando com a síntese de fatores de crescimento e citocinas, bem como ativação de seus receptores.

É importante ressaltar que, quando suprimida nas células, a p53 não executa a via de interrupção do ciclo e a célula pode sofrer estímulos que a induzam a avançar nas ações de replicação independente do comprimento telomérico. Dada essa condição, pode ser precoce, mas não descartada, a ideia de que a p53 seja mais decisiva na senescência e integridade celular do que a telomerase (MELO, 2015; MACIEJOWSKI e DE LANGE, 2017).

O envelhecimento está associado a uma menor eficiência energética, o que está por sua vez, envolvido com processos mitocondriais. Nesse quesito, a proteína p53 também desempenha papéis no controle bioenergético, ao afetar vias metabólicas dependentes da integridade da mitocôndria (por induzir o citocromo C oxidase) e sensibilidade a hormônios, como a insulina (Figura 1) (RUFINI et al., 2013; CAMPISI, 2016; ZHANG et al., 2011).

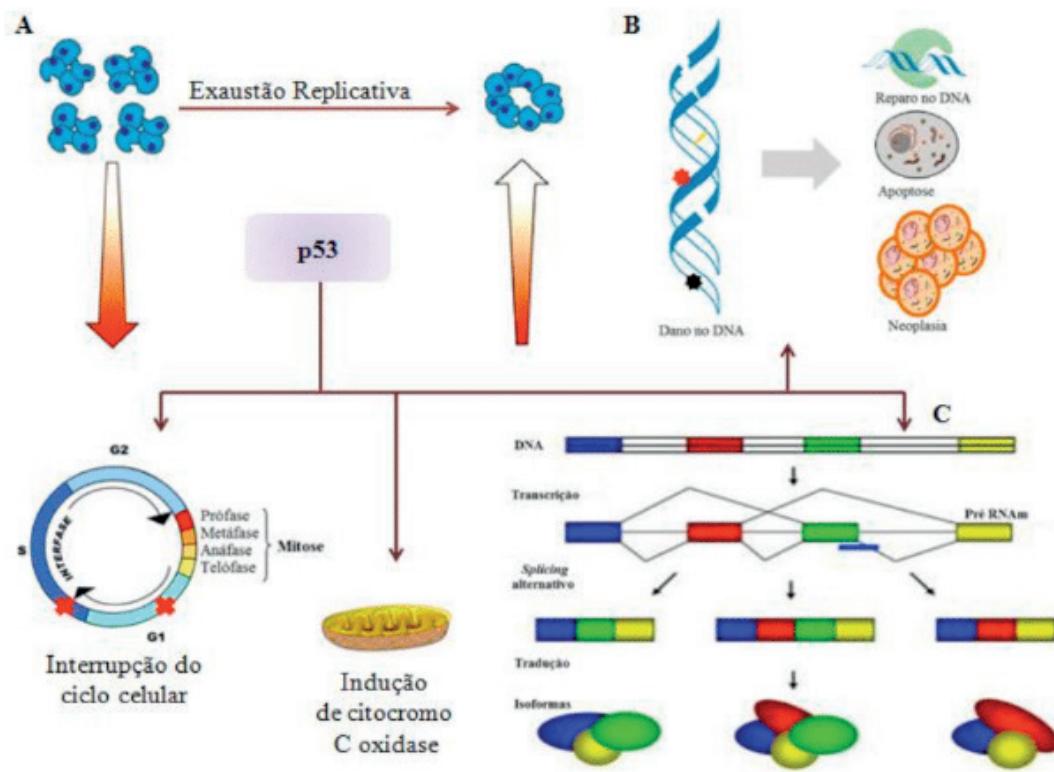


Figura 1: Vias de interesse sob a influência da p53. (A) Síntese diferenciada conforme o estado celular; (B) Importância na parada do ciclo celular para execução de reparos, indução de apoptose e, quando suprimida, surgimento de neoplasias; (C) Exemplificação de *Splicing* alternativo da p53. Fonte: Mastella, 2018

Um fator interessante a ser mencionado sobre a p53 é sua versatilidade de *splicing* alternativos (Figura 1C), ou seja, de uma vez formada a fita de pré-RNAm haver retirada diferenciada de íntrons e éxons que compõe a fita única, permitindo que o mesmo gene dê origens a diferentes proteínas, como a p16, p21 e p44. Os processos de senescência podem ser afetados quando ocorre desequilíbrio de p53 e suas variantes, indicando que a modulação dos processos de envelhecimento requerem a presença da p53 (MAIER et al., 2004; PEHAR et al., 2014).

Ainda, estudos demonstraram a capacidade reguladora da Sir1 (Sirtuína) sobre a p53 em células sob senescência ou já envelhecidas, corroborando acerca das diferentes vias influentes nos processos de envelhecimento, não apenas produzirem influências de modo isolado, mas cooperativamente (DESCHÈNES e CHABOT, 2017).

O telômero é uma região importante pelo seu desempenho como protetor do cromossomo estando muito além da característica de “relógio biológico”. Isto porque, em certo grau também limita fusões entre diferentes cromossomos. Isso é possível graças às extensas repetições ricas em guaninas nas terminações, que permitem a dobra sobre si mesmo, formando o chamado T-loop (Figura 2A) que, nas extremidades, também impede o acesso da maquinaria proteica de síntese (LEMOS, 2015).

Visto que a síntese de DNA ocorre no sentido 5' – 3', é observada uma perda progressiva de nucleotídeos na extremidade 3' a cada replicação devido a incapacidade replicativa exercida pela DNA polimerase em finalizar a síntese (Figura 2B) (LIBERTINI e FERRARA, 2017). O encurtamento telomérico contínuo decorrente de sucessivas divisões celulares induz a célula a um estado de senescência o que pode, posteriormente, acarretar em morte celular, processo mais comumente observado com o avançar da idade (Figura 2C) (CÁRCANO, 2016; HEIDENREICH e KUMAR, 2017).

A telomerase é uma enzima com atividade catalítica de transcriptase reversa com capacidade de reconhecer telômeros encurtados, em outras palavras, ela permite a criação de um molde na extremidade do telômero onde a síntese não foi concluída, possibilitando que a DNA polimerase siga a sequência substituindo pelos nucleotídeos adequados conforme avança (GAO, 2015; LIU e XING, 2016).

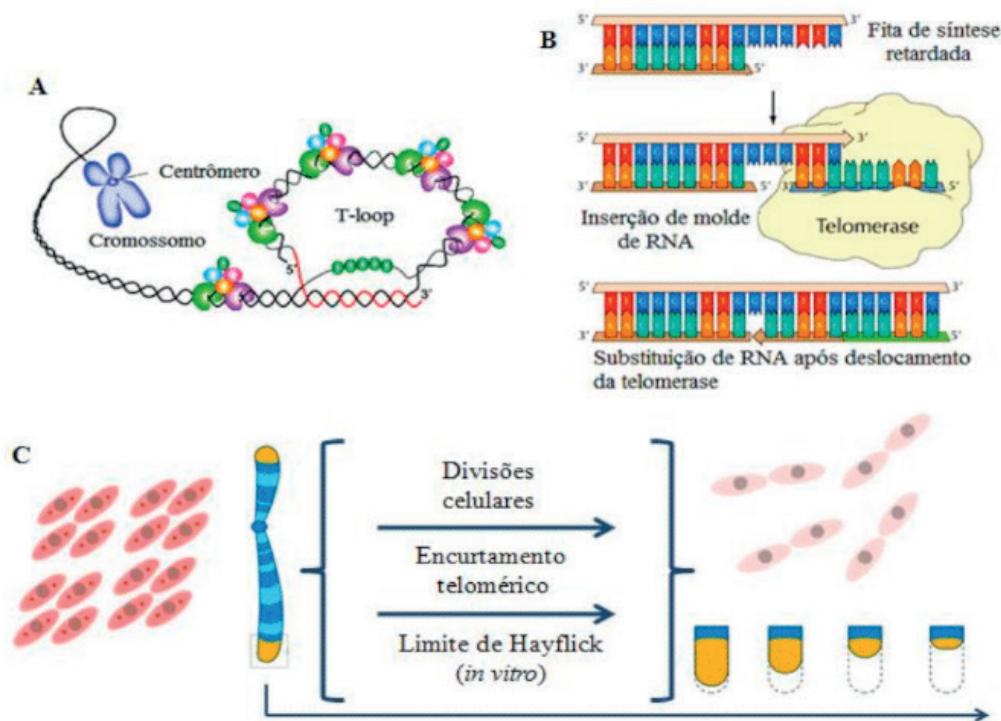


Figura 2: Funcionamento e ações da telomerase nos telômeros. (A) Formação de T-loop na extremidade do cromossomo. (B) Prolongamento telomérico pela ação da telomerase. (C) Senescência decorrente da divisão. Fonte: Mastella, 2018.

Ao apresentar essa questão se evidencia que a telomerase fornece potencial de replicação ilimitado, uma vez que o ônus da redução telomérica seria compensado por sua reconstrução através da ação enzimática. No entanto, é característico de células normais, saudáveis e em diferenciação que a telomerase se apresente em níveis pouco expressivos e, assim, não tenha ou forneça discreta ação (BARBON, 2016; HEIDENREICH e KUMAR, 2017). Fora desse escopo, a expressão e atividade

excessiva da telomerase são encontradas em células-tronco embrionárias devido à intensa duplicação para formação tecidual, bem como em células cancerosas ou tumorais onde se instala divisão celular descontrolada, fornecendo, em ambos os casos, capacidade proliferativa indefinida (GAO, 2015; BARBON, 2016).

Com base nestas características o estudo da expressão proteica e gênica da telomerase fornece informações sobre o estado potencial de senescência celular, principalmente queratinócitos e fibroblastos que são as principais células constituintes da pele.

Estresse oxidativo e senescência celular

Uma das teorias mais populares do envelhecimento biológico é a chamada “teoria dos radicais livres” que foi proposta por Harmann nos anos 50. Esta teoria considerava que a maior parte dos efeitos deletérios observados nas organelas, células e tecidos era causada por níveis elevados e descontrolados das EROs. Posteriormente esta teoria foi reforçada na medida em que se evidenciou o papel da disfunção mitocondrial na elevação nos níveis de EROs e estabelecimento de estados de estresse oxidativo (HARRIS, 2009; TEIXEIRA e GUARIENTO, 2010). No interior dessas organelas, o oxigênio passa pela cadeia transportadora de elétrons gerando ATP (Trifosfato de Adenosina), ou seja, energia metabólica. Isto porque, na respiração aeróbia conduzida na mitocôndria, a redução do oxigênio é incompleta e conduz à geração de diferentes EROs, tais como o radical superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), considerado o principal contribuinte dos danos oxidativos (VITALE et al., 2013). O H_2O_2 é capaz de originar outras EROs, principalmente o radical hidroxila (OH^-), que por ter uma meia vida bastante curta dificilmente é sequestrado *in vivo* (PERL, 2013; BARBISAN et al., 2014).

Por outro lado, evidências posteriores também descreveram que, em níveis baixos e controlados alguns tipos de EROs, como o óxido nítrico e o peróxido de hidrogênio atuavam como moléculas sinalizadoras de algumas rotas celulares associadas com a sua proliferação, migração, sobrevivência e diferenciação celular (RANG e DALE 2012; MACHADO et al., 2014).

Como mecanismos de controle dos níveis de EROs, organismos aeróbios incluindo os seres humanos possuem dois sistemas principais de defesa antioxidante: o exógeno e o endógeno. O sistema exógeno é adquirido via alimentação através do consumo e absorção de moléculas bioativas com ação redutora de moléculas oxidativas. O sistema endógeno é constituído por um conjunto de enzimas antioxidantes com destaque para: Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutationa Peroxidase (GPX) (Figura 3) (MONTAGNER, 2010). Entretanto, cabe também salientar que o organismo também é capaz de produzir moléculas com ação antioxidante que não são enzimas, como é o caso da glutationa.

No sistema antioxidante enzimático, a primeira linha de defesa é constituída pela enzima SOD, que catalisa a reação de O_2^- em H_2O_2 . Existem três isoformas da enzima SOD, sendo que a isoforma SOD dependente de manganês (MnSOD ou SOD2) tem papel crucial na sobrevivência celular, uma vez que atua no interior da mitocôndria dismutando O_2^- que é constantemente produzido pela cadeira respiratória em um processo conhecido como vazamento do superóxido (em inglês *superoxide-leak*). O H_2O_2 produzido pela reação da SOD2 é catalizado por três enzimas, que atuam conforme o compartimento celular: a CAT, a glutatona reduzida e a GPX catalisam a degradação de H_2O_2 em H_2O (água). Assim, essas enzimas são capazes de neutralizar os agentes oxidantes, e mantê-los em níveis adequados no organismo (NEVES et al., 2014). No caso, o estresse oxidativo se instaura quando há uma queda no sistema de defesa enzimático e/ou um aumento na produção de EROs (HALLIWELL, 2007).

Estudos demonstram que o estresse oxidativo está intimamente associado ao processo de envelhecimento e morte celular por apoptose. As EROs têm sido consideradas como pré-requisito para o processo inflamatório e apoptótico, o estresse oxidativo teria assim, um papel central em processos de envelhecimento celular, além de patologias e perda da homeostase do organismo (SINHA et al., 2014).

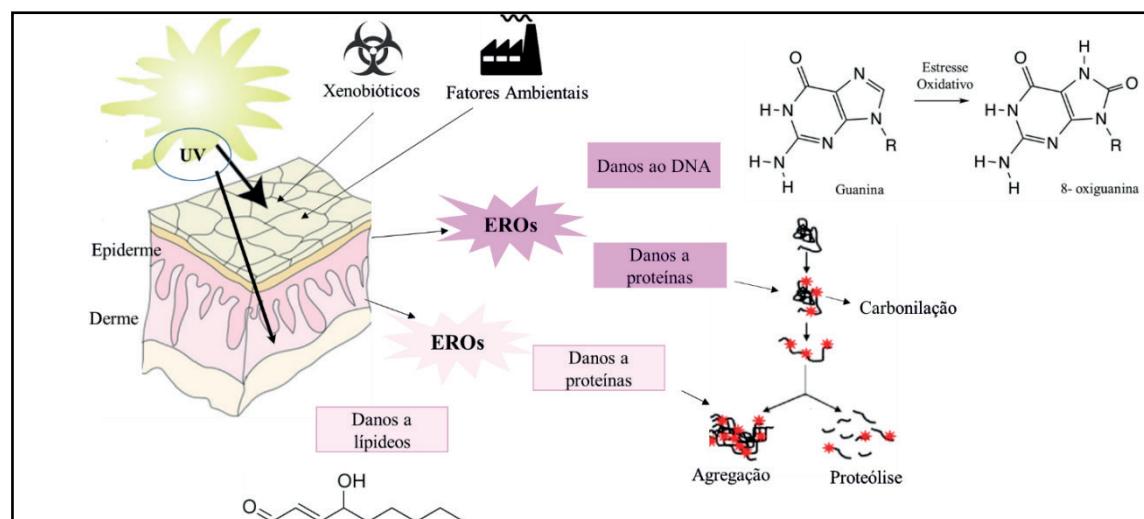


Figura 3: As EROs têm sua formação aumentada pela incidência de radiação UV, exposição a fatores ambientais e xenobióticos. As EROs podem causar danos protéicos do tipo agregador ou lisante e danos lipídicos que podem vir a afetar a membrana celular, tornando-a mais permeável e, assim, interferindo na sua homeostase e desestabilizando o tecido e favorecendo o aparecimento de patologias associadas. Fonte: o autor.

Inflamação e senescência celular

O termo “*inflammaging*”, cunhado no início dos anos 2000 pelo pesquisador Claudio Franceschi, tem sido usado para definir o sistema estéril (na ausência

de infecção) crônico e de baixo grau de estado de inflamação que hoje em dia é considerado um essencial biológico do processo de envelhecimento. De fato, a inflamação é um processo benéfico como uma resposta imune a condições prejudiciais, mas com o envelhecimento há uma redução na capacidade de suportar desencadeantes antigênicos, químicos, físicos e nutricionais, tornando-se crônica e de baixo grau, levando aos tecidos disfunção e degeneração (LEONARDI et al., 2018).

Numerosas evidências têm mostrado que aparentemente diferentes doenças crônicas não-transmissíveis, incluindo câncer, morbidades cardiovasculares e diabetes tipo 2 têm em comum um quadro de inflamação crônica de baixo grau. Assim, estudos epidemiológicos têm sugerido relação entre níveis aumentados de inflamação mediados pela interleucina (IL)-6 ou proteína C-reativa (CPR) a múltiplas doenças relacionadas à idade (VASTO et al., 2009; LEONARDI et al., 2018).

A associação de inflamação crônica e senescência celular ocorre já que, apesar de células senescentes interromperem sua atividade replicativa, elas ainda assim continuam metabolicamente ativas, principalmente em nível transcripcional, interferindo no seu microambiente via ocorrência do chamado “fenótipo senescente”. Com este fenótipo, as células podem alterar a quantidade e qualidade de produção de proteínas e também diminuir a eficiência na catalise de resíduos metabólicos pelos lisossomos. Além disso o estresse oxidativo também pode gerar uma maior quantidade de resíduos metabólicos que podem permanecer dentro das células ou no meio extracelular. Este grupo de elementos não desejáveis passou a ser denominado de “padrão molecular associado aos danos” (DAMPs). As DAMPs podem atuar como indutoras de respostas inflamatórias, por ativarem células imunes como os macrófagos de modo similar ao que ocorre na presença de patógenos. Na medida que a produção e o acúmulo de DAMPs não é controlado pode se estabelecer quadros inflamatórios crônicos, via manutenção de níveis elevados de citocinas pro-inflamatórias como a IL-1 β , IL-6, TNF- α , e níveis baixos de citocinas antioxidantes como a IL-10. Por este motivo, Huang et al (2015) propuseram que as DAMPs representariam biomarcadores ideais do envelhecimento celular constituindo um alvo atraente para intervenções no envelhecimento e também nas doenças associadas à idade.

CONCLUSÃO

A pele é um órgão multifuncional e está sujeita a envelhecimento intrínseco e extrínseco, resultando em perda de capacidade funcional. O envelhecimento cutâneo se manifesta como uma mudança observável na aparência externa da pele, sendo o

principal acelerador do processo de envelhecimento nossas interações com o meio ambiente, como a exposição crônica à irradiação solar (UV, IV ou comprimentos de onda visíveis da luz). Assim, conforme o que foi exposto a compreensão dos aspectos moleculares do envelhecimento cutâneo é de fundamental relevância para o desenvolvimento de novos métodos preventivos e de tratamento.

REFERÊNCIAS

- SCHNEIDER, R. H.; IRIGARAY, T. Q. **O envelhecimento na atualidade: aspectos cronológicos, biológicos, psicológicos e sociais**. Estudos de Psicologia, v. 25, p. 585-593, 2008.
- VANZELLA, E.; DO NASCIMENTO J.A.; DOS SANTOS, S.R. **O envelhecimento, a transição epidemiológica da população brasileira e o impacto nas hospitalizações**. Rev. Elet Estácio Saú. v.7, n.1, 2018.
- Organização Mundial de Saúde**. 2016. Disponível em: < <http://cemi.com.pt/2016/03/04/conceito-de-saude-segundo-oms-who/> > Acesso em: 14 mar., 2018.
- BARROS, E. J. L. et al. **Ações ecossistêmicas e gerontotecnológicas no cuidado de enfermagem complexo ao idoso estomizado**. Rev Bras Enferm, v. 67(1), p. 91-6, 2014.
- SANTOS, M. A. **Câncer e suicídio em idosos: determinantes psicossociais do risco, psicopatologia e oportunidades para prevenção**. Ciência & Saúde Coletiva, v. 22(9), p. 3061-3075, 2017.
- DOUGLAS, C. R. **Tratado de fisiologia aplicada às ciênciasmédicas** – [6 Ed.] - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica** – [12. Ed]. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.
- JENKINS, G. **Mechanisms of Ageing and Development**. Mech Ageing Dev., v. 123(7), p. 801-810, 2002.
- KHAVKIN, J.; ELLIS, D. A. F. **Aging Skin: Histology, Physiology, and Pathology**, Facial Plast Surg Clin North Am., v. 19(2), p. 229-234, 2011.
- MONTAGNER, S.; COSTA, A. **Bases biomoleculares do fotoenvelhecimento**. An. Bras Dermatol, v. 84(3), p. 263-269, 2009.
- PERES, G. R. P. **Prevalência e fatores associados às lesões por fricção em idosos de instituições de longa permanência**. Dissertação (Mestrado) – Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, 75 p. São Paulo, 2014.
- LeBLANC, K. et al. **Skin tears: state of the science: consensus statements for the prevention, prediction, assessment, and treatment of skin tears**. AdvSkinWoundCare, v. 24(9), p. 2-15, 2011.
- ARKING, R. **Biologia do envelhecimento. 2a ed.** Ribeirão Preto: Funpec, 2008.
- CRUZ, I. B. M. **Genetics of aging and its impact on human longevity: theories and evidences that helps to prevent age-associated diseases**. Pan American Journal of Aging Research. v. 2(1), p. 3-14, 2014.

CRUZ, I. B. M.; SCHWANKE, C. H. A. **Reflexões sobre biogerontologia como uma ciência generalista, integrativa e interativa.** Estud. interdiscip. envelhec., Porto Alegre, v.3, p.7-36, 2001.

LÓPEZ-OTÍN, C. et al. **The hallmarks of aging.** Cell., v.153(6), p.1194-217, 2013.

NICOLAI, S. et al. **DNA repair and aging: the impact of the p53 family.** Aging (Albany), v. 7(12), p. 1050-1065, 2015.

PRATES MORI, M.; SOUZA-PINTO, N.C. **Role of mitochondrial dysfunction in the pathophysiology of DNA repair disorders.** Cell Biol Int., v. 42(6), p. 643-650, 2018.

BARBON, F. J.; WIETHOLTER P.; FLORES, R.A. **Alterações celulares no envelhecimento humano.** J Oral Invest, v. 5, n.1, p. 61-65, 2016.

ALMEIDA, A. J. P. O. **Envelhecimento: aspectos moleculares e suas implicações sobre o sistema cardiovascular.** 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia) – Universidade Federal da Paraíba (UFPB), 2017.

FERRER, D. M. P. et al. **Contribuição dos telômeros e da telomerase no surgimento de neoplasias e no processo de envelhecimento.** Revista Interdisciplinar Ciências e Saúde, v. 4(2), p. 89-99, 2017.

BENJAMIN, C. L.; ANANTHASWAMY, H. N. **p53 and the Pathogenesis of Skin Cancer.** Toxicol Appl Pharmacol., v. 224(3), p. 241–248, 2007.

BRASH, D. E. et al. **Colonization of adjacent stem cell compartments by mutant keratinocytes.** Seminars in Cancer Biology, v. 15, p. 97–102, 2005.

MELO, V.C. et al. **Produção científica sobre envelhecimento e câncer: uma revisão integrativa.** Anais CIEH, v. 2, n.1, 2015.

RUFINI, A. et al. **Senescence and aging: the critical roles of p53.** Oncogene, v. 32, n. 43, p. 5129-5143, 2013.

CAMPISI, J.; D'ADDA DI FAGAGNA, F. **Cellular senescence: when bad things happen to good cells.** Nat Rev Mol Cell Biol, v. 8, n. 9, p. 729-740, 2007.

ZHANG, C. et al. **Parkin, a p53 target gene, mediates the role of p53 in glucose metabolism and the Warburg effect.** Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 108, n. 39, p. 16259-16264, 2011.

MACIEJOWSKI, J.; DE LANGE, T. **Telomeres in cancer: tumour suppression and genome instability.** Nat Rev Mol Cell Biol, v. 18, n. 3, p. 175-186, 2017.

MAIER, B. et al. **Modulation of mammalian life span by the short isoform of p53.** Genes Dev., v.18, p.306–319, 2004.

PEHAR, M. et al. **P44, the “longevity-assurance” isoform of P53, regulates tau phosphorylation and is activated in an age-dependent fashion.** Aging Cell, v.13, p.449–456, 2014.

DESCHÈNES, M.; CHABOT, B. **The emerging role of alternative splicing in senescence and aging.** Aging Cell, v.16, p. 918–33, 2017.

LEMOS, C.A.R.C. **Aspectos estruturais e funcionais do complexo telômero/telomerase.** 2015. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.

LIBERTINI, G.; FERRARA, N. **Possible interventions to modify aging**. Biochemistry, Moscow, v. 81, n. 12, pp. 1413- 1428, 2016.

CÁRCANO, FM. **Study of clinicopathological associations with molecular and genetic alterations in testicular germ cell tumors**. Thesis (Doctorate's degree). Barretos: Barretos Cancer Hospital, 2016.

HEIDENREICH, B.; KUMAR, R. **TERT promoter mutations in telomere biology**. Mutation Research, v.771, p. 15-31, 2017.

GAO, K. et al. **Can Genomic Amplification of human telomerase gene and C-MYC in Liquid-Based Cytological Specimens be use as a method for opportunistic cervical cancer screening?** Gynecol Obstet Invest, v. 80, p.153-163, 2015.

LIU, R.; XING, M. **TERT promoter mutations in thyroid cancer**. Endocr Relat Cancer, v.24, n.2, p.97-106, 2016.

HALLIWELL, B. **Biochemistry of oxidative stress**. Biochem. Soc. Transact., v. 35, p. 1147-1150, 2007.

HARRIS, M. I. N. C. **Pele: estrutura, propriedades e envelhecimento**. 3 ed. Rev. ampl, São Paulo: Senac, 2009.

TEIXEIRA, I. N. D. O.; GUARIENTO, M. E. **Biologia do envelhecimento: teorias, mecanismos e perspectivas**. Ciência & Saúde Coletiva, v. 15(6), p. 2845-2857, 2010.

VITALE, G.; SALVIOLI, S.; FRANCESCHI, C. **Oxidative stress and the ageing endocrine system**. Nat. Rev. Endocrinol. v. 9, p. 228–240, 2013.

VASTO, S. et al. **Inflammation, ageing and cancer**. Mech Ageing Dev., v. 130(1-2), p. 40-5, 2009.

BARBISAN, F.; et al. **Methotrexate-related response on human peripheral blood mononuclear cells may be modulated by the Ala16Val-SOD2 gene polymorphism**. PlosOne, v. 9, p. e107299, 2014.

RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M., FLOWER, R.J., HENDERSON, G. **Farmacologia**. 7^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

MACHADO, A. K. **Efeito cito-genômico do peróxido de hidrogênio e do guaraná (*Paullinia cupana*) em células tronco mesenquimais**. 2014. 95 f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2014.

MONTAGNER, G. F. S. **Efeito *in vitro* do polimorfismo Ala16Val do gene da superóxido dismutase dependente de manganês no metabolismo oxidativo de linfócitos**. 2010. 68p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Toxicológica) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2010.

NEVES, G. Y. S. et al. **Avaliação do consumo de alimentos ricos em antioxidantes e do conhecimento sobre os radicais livres por partes dos acadêmicos de Ciências Biológicas e Enfermagem da FAFIMAN**. Diálogos & Saberes, Mandaguari, v. 10, n. 1, p. 47-62, 2014.

SINHA, M. et al. **Restoring Systemic GDF11 Levels Reverses Age-Related Dysfunction in Mouse Skeletal Muscle**. Science, v. 9, p. 649-652, 2014.

LEONARDI, I. et al. **CX3CR1+ mononuclear phagocytes control immunity to intestinal fungi**.

Science, v. 359(6372), p. 232-236, 2018.

HUANG, J. et al. **DAMPs, ageing, and cancer: The 'DAMP Hypothesis'**. Ageing Res Rev., v. 24(Pt A), p. 3-16, 2015.

SOBRE O ORGANIZADORA

ELEUZA RODRIGUES MACHADO - Possui graduação em Biologia e Geografia - Universidade Federal de Uberlândia (UFU), graduação em Farmácia - Faculdade Anhanguera de Brasília - Unidade Taguatinga (FAB), mestrado em Imunologia e Parasitologia Aplicada pela Universidade Federal de Uberlândia, doutorado em Parasitologia pela Universidade Estadual de Campinas, Pós-doutorado em Parasitologia pela Universidade de São Paulo de Ribeirão Preto, Pós-doutorado em Imunologia pela Tuft's University School for Medicine, USA, e Pós-doutorado em Biologia Molecular e Celular pela Universidade de Brasília, UnB. Especialização em Farmácia Clínica – Área de Conhecimento: Saúde e Bem-Estar Social pela Faculdade Anhanguera de Brasília. Atualmente é acessora do Jurnal of Public Health, Journal of Bacteriology Research e Journal of Entomology and Nematology, SARE Ensaio e Ciência. Tenho experiência na área de Imunologia, Microbiologia, e Parasitologia, com ênfase em Fungos e Helmintologia Animal e Humana. Trabalha com os modelos experimentais: *Strongyloides stercoralis*, *S. venezuelensis*, *Schistosoma mansoni*, *Candida albicans*, Diabetes mellitus e testes de plantas medicinais. Nesses modelos analisa os fatores relacionados com a inflamação como: eosinofilia, anticorpos, citocinas, quimiocinas, leucotrienos, prostaglandinas. Tem conhecimento em diagnóstico imunológico e parasitológico das doenças humana causadas por helmintos e protozoários. Ministrou aulas em: Embriologia, Biologia Celular, Doenças de Notificação Compulsória, Fisiologia, Histologia, Imunologia, Microbiologia, Parasitologia, Pesquisa e Atividades Complementares II, Responsabilidade Social e Meio Ambiente, Projeto de Monografia I e Projeto Integrador I, Tutora de Ensino a Distância de Responsabilidade Social e Meio Ambiente, e Gestão de Conhecimentos. Professora e Orientadora de TCC II e Projeto Integrador II dos cursos de: Biomedicina, Ciências Biológicas e Enfermagem. Ministras aulas de Parasitologia para os cursos de Biologia, Enfermagem, Farmácia, e Medicina da Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília (UnB), e ministra disciplinas no curso de Pós-Graduação na Medicina Tropical da UnB. Orienta alunos em cursos de pós-graduações.

ÍNDICE REMISSIVO

A

- Ácido cítrico 65, 281, 282, 284, 285, 286
Ácido clorogênico 89, 91, 92, 95, 96, 100, 282, 284, 286
Aedes aegypti 112, 113, 115, 116, 120, 121
Aeração intermitente 248, 249, 250, 251, 252
Aleloquímico 96
Aroeira 180, 181, 209

B

- Bacteriocinas 35, 103, 104, 105
Banheiros 37, 38, 39, 40, 42, 43, 44
Beca 112, 113, 116, 117, 118, 119, 120
Biologia floral 169
Biossorvente 138, 139, 140, 141, 142
Biotecnologia 102, 138, 168, 169, 217, 218, 220, 253
Borboletas Frugívoras 222, 223, 224, 226, 227, 229, 230
Brunfelsia uniflora 243, 244

C

- Candida albicans* 10, 11, 15, 16, 18, 332
Carcinicultura 144, 145, 146, 149
Chinavia impicticornis 208, 209, 210
Citocromo P450 46
Conscientização ambiental 289

D

- Desemulsificação 83, 85, 86, 87

E

- Educação Ambiental 289, 290, 292, 294, 295
Efluente de laticínio 248
Ensino-aprendizagem 262, 268, 270, 276, 277, 282, 284, 296, 297, 301, 303, 305, 308, 309
Ensino de Biologia 50, 262, 273, 278, 296, 297, 298, 301
Enterococcus durans 103, 104, 106

F

- Farinha de *Leucaena* 159
Fitoterápicos 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 201, 202, 203, 204, 205, 206
Fluorose dentária 50, 51, 53, 54, 55, 56, 57, 60

Fragmentación de áreas verdes 130

G

Grãos de Kefir 75, 76, 77, 78

H

HIV 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8

I

Infecções trato urinário 38

J

Jogos Didáticos 262, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 273, 276, 277, 278

L

Lactobacillus reuteri 28, 29, 30, 31, 36

Lepton 253, 254, 255, 256, 261

Lúdico 262, 266, 268, 269, 270, 271

M

Macrobrachium amazonicum 144, 145, 146, 154

Manihot esculenta 169, 170, 171, 178, 179

Mata Atlântica 136, 222, 223, 224, 228, 229, 247

Mimosina 156, 157, 158, 159, 160, 161, 163, 164, 165

Modificação Genética 217

Moradores de rua 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7

Morfometria espermática 123, 125, 126

N

Novos antimicrobianos 63

O

Óleo essencial de orégano 62, 63, 64, 65, 69, 73

P

Parque Nacional Iguazú 130, 133

Pé Diabético 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20

Piaractus brachypomus 122, 123, 124, 129

Plantas medicinais 100, 102, 182, 188, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 332

Polimorfismo 46, 48, 173, 177, 330

Probióticos 75, 76, 77

Pseudotrimezia 231, 232, 233, 234, 235, 237, 238, 239, 241, 242

R

Reuterina 28, 29, 30, 32, 33, 34, 35

S

Saponinas 87, 181, 182, 184, 188

Schinus molle 180, 181, 186, 187, 188, 189, 208, 209, 210

Sementes 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 192, 234, 284

Sífilis 1, 2, 3, 6, 7, 8

T

Técnicas de cultivo de células 22

Toxoplasma gondii 22, 23, 24, 26, 27

Tratamento de água 138, 139

Atena
Editora
2 0 2 0