

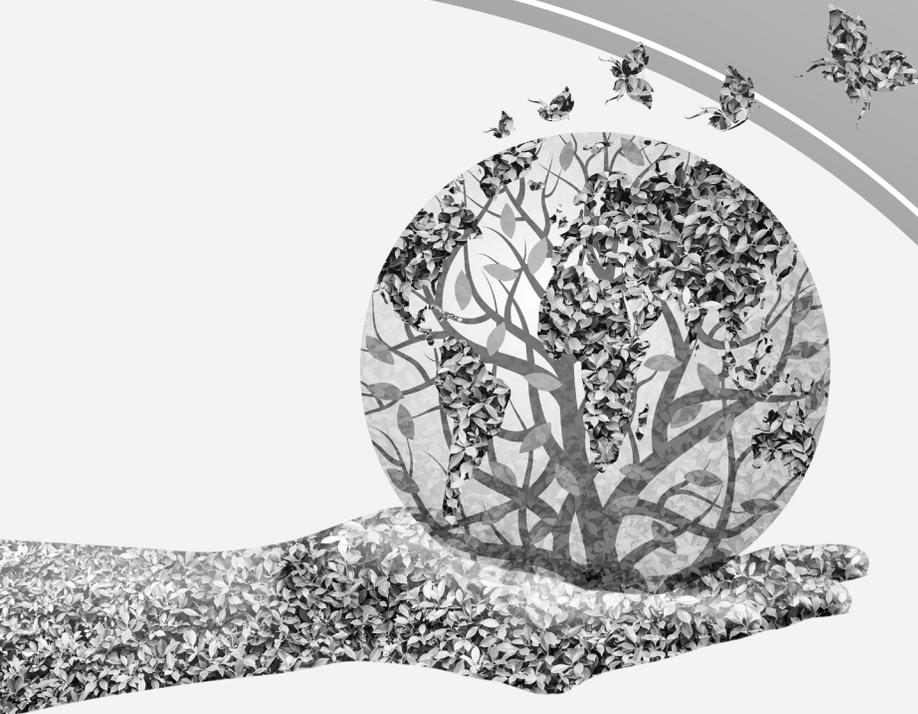
Ciências biológicas: Realidades e virtualidades 2

Edson da Silva
(Organizador)



Ciências biológicas: Realidades e virtualidades 2

Edson da Silva
(Organizador)



Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da Capa

iStock

Edição de Arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os autores

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2021 Os autores

Copyright da Edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. 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.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Profª Drª Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa

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. Arnaldo Oliveira Souza Júnior – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Crisóstomo Lima do Nascimento – Universidade Federal Fluminense
Prof^a Dr^a Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvson de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof^a Dr^a Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Prof. Dr. Humberto Costa – Universidade Federal do Paraná
Prof^a Dr^a Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. José Luis Montesillo-Cedillo – Universidad Autónoma del Estado de México
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^a Dr^a Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Prof^a Dr^a Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Miguel Rodrigues Netto – Universidade do Estado de Mato Grosso
Prof. Dr. Pablo Ricardo de Lima Falcão – Universidade de Pernambuco
Prof^a Dr^a Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^a Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof^a Dr^a Vanessa Ribeiro Simon Cavalcanti – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. William 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. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Prof^a Dr^a Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^a Dr^a 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
Prof^a Dr^a Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof^a Dr^a Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Prof^a Dr^a Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof^a Dr^a 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
Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Welma Emidio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Profª Drª Ana Grasielle Dionísio Corrêa – Universidade Presbiteriana Mackenzie
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Sidney Gonçalo de Lima – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Edna Alencar da Silva Rivera – Instituto Federal de São Paulo
Profª Drª Fernanda Tonelli – Instituto Federal de São Paulo,
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Profª Ma. Adriana Regina Vettorazzi Schmitt – Instituto Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Alex Luis dos Santos – Universidade Federal de Minas Gerais
Prof. Me. Alexandre Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Profª Ma. Aline Ferreira Antunes – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Amanda Vasconcelos Guimarães – Universidade Federal de Lavras
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Andrezza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia
Profª Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá
Profª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Profª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Me. Carlos Augusto Zilli – Instituto Federal de Santa Catarina
Prof. Me. Christopher Smith Bignardi Neves – Universidade Federal do Paraná
Profª Drª Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará

Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Edson Ribeiro de Brito de Almeida Junior – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Prof. Dr. Everaldo dos Santos Mendes – Instituto Edith Theresa Hedwing Stein
Prof. Me. Ezequiel Martins Ferreira – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Me. Fabiano Eloy Atilio Batista – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Prof. Me. Francisco Odécio Sales – Instituto Federal do Ceará
Prof. Me. Francisco Sérgio Lopes Vasconcelos Filho – Universidade Federal do Cariri
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramirez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFGA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR
Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Profª Ma. Lilian de Souza – Faculdade de Tecnologia de Itu
Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Profª Drª Lúvia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Profª Ma. Luana Ferreira dos Santos – Universidade Estadual de Santa Cruz
Profª Ma. Luana Vieira Toledo – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Me. Luiz Renato da Silva Rocha – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Ma. Luma Sarai de Oliveira – Universidade Estadual de Campinas
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos

Prof. Me. Marcelo da Fonseca Ferreira da Silva – Governo do Estado do Espírito Santo
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
Prof. Me. Marcos Roberto Gregolin – Agência de Desenvolvimento Regional do Extremo Oeste do Paraná
Profª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará
Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof. Dr. Pedro Henrique Abreu Moura – Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Prof. Me. Pedro Panhoca da Silva – Universidade Presbiteriana Mackenzie
Profª Drª Poliana Arruda Fajardo – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Rafael Cunha Ferro – Universidade Anhembi Morumbi
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Renan Monteiro do Nascimento – Universidade de Brasília
Prof. Me. Renato Faria da Gama – Instituto Gama – Medicina Personalizada e Integrativa
Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco
Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão
Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Prof. Dr. Sullivan Pereira Dantas – Prefeitura Municipal de Fortaleza
Profª Ma. Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Universidade Estadual do Ceará
Profª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Ciências biológicas: realidades e virtualidades 2

Bibliotecária: Janaina Ramos
Diagramação: Maria Alice Pinheiro
Correção: Maiara Ferreira
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os autores
Organizador: Edson da Silva

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C569 Ciências biológicas: realidades e virtualidades 2 /
Organizador Edson da Silva. – Ponta Grossa - PR:
Atena, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5983-249-1

DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.491211207>

1. Ciências Biológicas. I. Silva, Edson da (Organizador).
II. Título.

CDD 570

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.arenaeditora.com.br
contato@arenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, desta forma não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

APRESENTAÇÃO

As Ciências Biológicas integram diversas áreas do conhecimento que estudam os seres vivos e suas relações entre o meio ambiente, além de mecanismos e processos que condicionam a vida. Sua integração envolve ciências da saúde, biotecnologia, meio ambiente, biodiversidade entre outros fatores.

Descobertas e inovação no âmbito das Ciências Biológicas exigem a compreensão de que a vida se organiza no decorrer do tempo, com a ação de processos evolutivos, resultando na diversidade de formas sobre as quais atuam as condições ambientais e o desenvolvimento dos seres vivos. Diante disso, os seres humanos não estão isolados. Eles estabelecem sistemas que constituem complexas relações de interdependência.

Neste contexto a obra “Ciências Biológicas: realidades e virtualidades” foi contemplada com dois novos volumes. O volume 2 está organizado com 17 capítulos e o volume 3 com 15. Os capítulos contaram com a autoria de diversos profissionais, universitários e/ou pesquisadores de diferentes regiões do Brasil, que compartilham seus dados resultantes de pesquisas de natureza básicas e aplicadas, revisões de literatura, ensaios teóricos e vivências no contexto educacional relacionado às Ciências da Vida.

Desejamos que esta coletânea contribua para o enriquecimento da formação universitária e da atuação profissional no âmbito das Ciências da Vida. Agradeço os autores pelas contribuições que tornaram essa edição possível, e juntos, convidamos os leitores para desfrutarem as publicações.

Edson da Silva

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

DESENVOLVIMENTO DAS MALFORMAÇÕES DO ESPECTRO DA POLIMICROGIRIA E SEUS CORRELATOS COM A EPILEPSIA

Cecília Santos de Brito
Luiza dos Santos Heringer
Laura Maria Borges Savoldi
Greice Nascimento Pires
Vanessa Kiill Rios
Debora Magalhães Portela
Brenda Marvila Costa e Silva
Nadine Moura Martins
Julia Rios Carvalho
Henrique Rocha Mendonça

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4912112071>

CAPÍTULO 2..... 19

O USO DE FIBRAS PREBIÓTICAS NA PREVENÇÃO DE DOENÇAS OBSTRUTIVAS NO JABUTI-PIRANGA (CHELONOIDIS CARBONARIA) – RELATO DE CASO

Manuele Tryuys Penteadó
Julia Maria Ribeiro
Pâmela Beatriz do Rosário Estevam dos Santos

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4912112072>

CAPÍTULO 3..... 22

AVALIAÇÃO DA GESTÃO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS E SOLUÇÕES PARA A SUA DESTINAÇÃO EM ZOOLOGICOS: REVISÃO DE LITERATURA

Brandow Willy Souza
Renan Henrique Cardoso
Pâmela Beatriz do Rosário Estevam dos Santos

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4912112073>

CAPÍTULO 4..... 32

AVALIAÇÃO DA FITOTOXICIDADE DE NANOTUBOS DE CARBONO EM *LACTUCA SATIVA*

Juliana Tatiara da Costa Siqueira
Aryane Campos Reis
Rhaisa Bernardes Silva Dias
Humberto de Mello Brandão
Michele Munk Pereira
Saulo Marçal de Sousa

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4912112074>

CAPÍTULO 5.....39

OCORRÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO DE GALHAS DE INSETOS NO PARQUE DA LAGOA COMPRIDA, AQUIDAUANA-MS

Alerrandra Ortega Nobre
Tatiane do Nascimento Lima

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4912112075>

CAPÍTULO 6.....50

CLIMATIZAÇÃO DE RESIDÊNCIAS COM USO DE RECICLÁVEIS

Fabiula Aletéia de Souza Santana
Marielen de Souza Arguelho
José Carlos Santana Júnior
Bruna Gardenal Fina Cicalise

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4912112076>

CAPÍTULO 7.....59

ASPECTOS BOTANICOS, FITOQUIMICOS E ATIVIDADE BIOLÓGICA PRELIMINAR DE EXTRATOS DE *TRADESCANTIA ZEBRINA*

Vagner Cardoso da Silva
Alessandra da Silva Guedes
Aníbal de Freitas Santos Junior

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4912112077>

CAPÍTULO 8.....74

AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO E INFLUÊNCIA DO PH NA FERMENTAÇÃO DE GLICEROL RESIDUAL POR *KLEBSIELLA OXYTOCA*

Fabio Moura Cavalcante
Arnaldo Márcio Ramalho Prata

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4912112078>

CAPÍTULO 9.....84

A POLUIÇÃO MICROPLÁSTICA EM SISTEMAS AQUÁTICOS DO BRASIL

Maurício Zimmer Ferreira Arlindo
Andressa Rossatto
Taiana Denardi de Souza
Christiane Saraiva Ogradowski

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4912112079>

CAPÍTULO 10.....88

RECICLAGEM DE ÓLEO DE COZINHA PARA FABRICAÇÃO DE SABÃO: UMA ABORDAGEM PRÁTICA NO ENSINO DE QUÍMICA

Bárbara Ferreira de Souza
Airton Gasparini Júnior

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.49121120710>

CAPÍTULO 11..... 99

DESCOMPLICANDO A BIOQUÍMICA: PROPONDO UMA AULA EXPERIMENTAL PARA A DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES EM ALIMENTOS DO COTIDIANO

Tiago Maretti Gonçalves

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.49121120711>

CAPÍTULO 12..... 110

SISTEMAS FOTOBIOELETROQUÍMICOS COMO UMA ALTERNATIVA PARA PRODUÇÃO DE BIOENERGIAS E BIORREMEDIAÇÃO – UMA ABORDAGEM BASEADA EM TECNOLOGIAS LIMPAS

Vanessa Rosana Ribeiro

Marcondes Mafaciolli Pacheco

Ênio Leandro Machado

Tiele Medianeira Rizzetti

Rosana de Cassia de Souza Schneider

Lisianne Brittes Benitez

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.49121120712>

CAPÍTULO 13..... 129

INFLUÊNCIA DA BIOMETRIA E DO DÉFICIT HÍDRICO NA GERMINAÇÃO DE *CENOSTIGMA MACROPHYLLUM* TUL

Maria Jaislanny Lacerda e Medeiros

Mateus Henrique Freire Farias

Ana Caroline Ribeiro Costa

Marcones Ferreira Costa

Francisco Igor Ribeiro dos Santos

Clarissa Gomes Reis Lopes

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.49121120713>

CAPÍTULO 14..... 140

CARTAS-MOLÉCULAS: JOGO DE CARTAS PARA AUXILIAR A APRENDIZAGEM DOS CONCEITOS BÁSICOS DE BIOMOLÉCULAS

Luiz Henrique Pontes dos Santos

Juliana Osório Alves

Paulo Elesson Guimarães de Oliveira

Isabele da Silva Pereira

Raquel Martins de Freitas

Stela Mirla Felipe

Christina Pacheco Santos Martin

Paula Matias Soares

Vânia Marilande Ceccatto

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.49121120714>

CAPÍTULO 15..... 157

ESTUDO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DOS FRUTOS DA *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* (ANACARDEACEAE)

Djalma Menezes de Oliveira

Juliana Lago Leite
Rosane Moura Aguiar
Vilisaimon da Silva de Jesus

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.49121120715>

CAPÍTULO 16..... 172

EXSUDADOS UTILIZADOS COMO REMÉDIOS PELOS CABLOCOS DO RIO UNINI, AM, BRASIL - CLASSIFICAÇÃO BASEADA EM SEUS COMPOSTOS QUÍMICOS

Eliana Rodrigues
Juliana de Faria Lima Santos
Marcelo Funicelli de Oliveira
Fernando Cassas Salles Machado
Priscila Baptistella Yazbek
Thamara Sauini
Joao Henrique Ghilardi Lago

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.49121120716>

CAPÍTULO 17..... 187

BIOMONITORAMENTO FISIOQUÍMICO E FITORREMEDIAÇÃO DE CAFEÍNA UTILIZANDO MACRÓFITAS

Sophia de Aquino Ilário

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.49121120717>

SOBRE O ORGANIZADOR..... 202

ÍNDICE REMISSIVO..... 203

CAPÍTULO 1

DESENVOLVIMENTO DAS MALFORMAÇÕES DO ESPECTRO DA POLIMICROGIRIA E SEUS CORRELATOS COM A EPILEPSIA

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 26/05/2021

Cecília Santos de Brito

Universidade Federal do Rio de Janeiro –
Campus Macaé – Instituto de Biodiversidade e
Sustentabilidade NUPEM – Macaé.
<http://lattes.cnpq.br/9028716757408042>

Luiza dos Santos Heringer

Universidade Federal do Rio de Janeiro –
Campus Macaé – Instituto de Biodiversidade e
Sustentabilidade NUPEM – Macaé.
Programa de Pós-Graduação em Medicina:
Anatomia Patológica – Universidade Federal do
Rio de Janeiro.
<http://lattes.cnpq.br/4294725935644260>

Laura Maria Borges Savoldi

Universidade Federal do Rio de Janeiro –
Campus Macaé – Instituto de Biodiversidade e
Sustentabilidade NUPEM – Macaé.
Programa de Pós-Graduação em Medicina:
Anatomia Patológica – Universidade Federal do
Rio de Janeiro.
<http://lattes.cnpq.br/1419989671246720>

Greice Nascimento Pires

Universidade Federal do Rio de Janeiro –
Campus Macaé – Instituto de Biodiversidade e
Sustentabilidade NUPEM – Macaé.
Programa de Pós-Graduação em Medicina:
Anatomia Patológica – Universidade Federal do
Rio de Janeiro.
<http://lattes.cnpq.br/0410891895460467>

Vanessa Kiill Rios

Universidade Federal do Rio de Janeiro –
Campus Macaé – Instituto de Biodiversidade e

Sustentabilidade NUPEM – Macaé.

Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em
Ciências Fisiológicas – SBFis.
<http://lattes.cnpq.br/3367437304278379>

Debora Magalhães Portela

Universidade Federal do Rio de Janeiro –
Campus Macaé – Instituto de Biodiversidade e
Sustentabilidade NUPEM – Macaé.
<http://lattes.cnpq.br/0014516572913578>

Brenda Marvila Costa e Silva

Universidade Federal do Rio de Janeiro –
Campus Macaé – Instituto de Biodiversidade e
Sustentabilidade NUPEM – Macaé.
Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em
Ciências Fisiológicas – SBFis.
<http://lattes.cnpq.br/9943280615741492>

Nadine Moura Martins

Universidade Federal do Rio de Janeiro –
Campus Macaé – Instituto de Biodiversidade e
Sustentabilidade NUPEM – Macaé.
<http://lattes.cnpq.br/5322147280211888>

Julia Rios Carvalho

Universidade Federal do Rio de Janeiro –
Campus Macaé – Instituto de Biodiversidade e
Sustentabilidade NUPEM – Macaé.
<http://lattes.cnpq.br/6848103410214150>

Henrique Rocha Mendonça

Universidade Federal do Rio de Janeiro –
Campus Macaé – Instituto de Biodiversidade e
Sustentabilidade NUPEM – Macaé.
Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em
Ciências Fisiológicas – SBFis.
Programa de Pós-Graduação em Medicina:
Anatomia Patológica – Universidade Federal do
Rio de Janeiro.
<https://orcid.org/0000-0002-0940-5675>

RESUMO: As malformações do espectro da polimicrogiria consistem no tipo mais comum de malformação cortical, estando relacionadas à epilepsia e atraso global no desenvolvimento. Sua prevalência é desconhecida, uma vez que o diagnóstico por imagem requer ressonância magnética de alta definição, indisponível na rotina da maioria dos centros de saúde nacionais e internacionais. A epilepsia é observada em 78% dos pacientes diagnosticados com polimicrogiria, sendo a metade farmacorresistente. Sua causa mais comum consiste na infecção congênita viral, principalmente por citomegalovírus. Uma vez infectado pelo CMV, o vírus permanece latente no organismo, podendo sofrer processo de reativação subsequente. Sua prevalência é alta, ficando entre 40 e 60% em países do hemisfério norte e situando-se entre 80 a 100% na África e América Latina. Diversos processos fisiopatológicos emergem como candidatos a moduladores da epileptogênese após essas malformações. A hipóxia causada pelo dano vascular e hemorragia pode modular a neuroinflamação, excitotoxicidade, estresse oxidativo e morte neuronal. Por fim, esses processos modulam a excitabilidade neuronal, a fisiologia sináptica, a plasticidade neural e/ou mielinização, culminando na epileptogênese. Assim, essa revisão se propõe a discutir essas malformações e seu desenvolvimento, preenchendo uma lacuna na literatura brasileira, fornecendo alicerce para neurologistas, fisioterapeutas, terapeutas ocupacionais, pediatras e pesquisadores desenvolverem suas atividades com informações consistentes.

PALAVRAS - CHAVE: Malformações do desenvolvimento cortical; Polimicrogiria; Esquizencefalia; Epilepsia.

DEVELOPMENT OF MALFORMATIONS OF THE POLYMICROGYRIA SPECTRUM AND ITS CORRELATES WITH EPILEPSY

ABSTRACT: Malformations of the polymicrogyria spectrum are the most common type of cortical malformation, being related to epilepsy and global developmental delay. Its prevalence is unknown, since the diagnosis requires high definition magnetic resonance imaging, unavailable in the routine of most national and international health centers. Epilepsy is observed in 78% of patients diagnosed with polymicrogyria, half of which are drug-resistant. Its most common cause is congenital viral infection, mainly by cytomegalovirus. Once infected with cytomegalovirus, it remains latent, and can undergo a subsequent reactivation process. Its prevalence is high, between 40 and 60% in countries in the northern hemisphere and between 80 and 100% in Africa and Latin America. Several pathophysiological processes emerge as candidates for modulators of epileptogenesis after these malformations. Hypoxia caused by vascular damage and hemorrhage can modulate neuroinflammation, excitotoxicity, oxidative stress and neuronal death. Finally, these processes modulate neuronal excitability, synaptic physiology, neural plasticity and / or myelination, culminating in epileptogenesis. Thus, this review proposes to discuss these malformations and their development, filling a gap in Brazilian literature, providing a foundation for neurologists, physiotherapists, occupational therapists, pediatricians and researchers to develop their activities with consistent information.

KEYWORDS: Malformations of cortical development; Polymicrogyria; Schizencephaly; Epilepsy.

1 | INTRODUÇÃO

As mais prevalentes malformações do desenvolvimento cortical (MCDs) são as malformações do espectro da polimicrogiria, que inclui ela mesma e sua forma mais grave, a esquizencefalia, representando cerca de 20% de todas as MCDs, e compreendendo um importante fator causador de incapacidades neurológicas (Barkovich AJ et al., 2005; Leventer R et al., 1999). O estudo dessas malformações, foco de revisão neste artigo, é crucial no campo da neurociência do desenvolvimento neural humano, já que a possível compreensão acerca da etiologia, patofisiologia, vias genéticas e processos celulares afetados, fornecendo maior discernimento no estudo dos processos relativos ao desenvolvimento cortical, além de proporcionar novos meios clínicos para se diagnosticar e tratar as consequências de tais malformações.

As malformações corticais estão diretamente relacionadas com a epilepsia, que é uma doença caracterizada pela predisposição permanente do cérebro em originar crises eletrográficas e por suas consequências, tanto neurobiológicas quanto cognitivas e sociais. A prevalência mundial da forma ativa de epilepsia varia entre 0,5% e 1,0% da população mundial e no Brasil entre 11,9:1.000 e de 16,5:1.000 nas grandes capitais (BRASIL, 2019). Em termos gerais, cerca de 15% das epilepsias pediátricas são resistentes a tratamentos farmacológicos e dessas, 40% são causadas por malformações corticais (Guerrini R, 2006; Kuzniecky et al, 1993; Fraeter et al. 2000; Pasquier et al. 2002).

2 | POLIMICROGIRIA

A polimicrogiria (PMG) representa um espectro heterogêneo de malformações corticais, cujas características em comum são excessivos microgiros e padrão anormal de estrutura e laminação cortical, com fusão de giros adjacentes entre si e fusão entre as camadas moleculares que invaginam na região do microsulco (Judkins AR et al., 2011).

Em termos epidemiológicos, ainda não há estudos assertivos acerca da prevalência da PMG, já que é uma malformação bastante diversificada, com múltiplos fatores causadores e distintas manifestações clínicas. Além disso, possui um difícil diagnóstico, uma vez que para ser identificada requer tecnologias avançadas, como o imageamento por ressonância magnética (MRI) de alta definição para ser identificada. Porém, mesmo com a utilização de MRI, pode ser um desafio atingir a precisão diagnóstica, visto que estudos recentes indicam que a PMG pode aparecer sob formas distintas, devido a sua grande heterogeneidade fenotípica (Barkovich AJ, 2010).

Macroscopicamente, o córtex polimicrogírico possui superfície irregular, com múltiplos giros pequenos de padrão anormal e sulcos superficiais, podendo apresentar diferentes aparências em neuroimagem: espesso e irregular ou fino e delicado, com sulcos superficiais ou profundos, o que corrobora com a ideia de heterogeneidade fenotípica

dessa MCD (Stutterd CA et al., 2014; Barkovich AJ, 2010).

A classificação histológica atual das PMGs abarca as formas laminada e não-laminada, as quais possuem, respectivamente, de 4 a 6 camadas e 2 camadas (Figura 1B e 1C). As formas laminadas apresentam necrose laminar intracortical, com um desarranjo cortical pós-migracional na organização e alterações decorrentes de migração neuronal tardia (Judkins AR et al., 2011). Já nas formas não-laminadas, os neurônios abaixo da camada molecular possuem distribuição radial, mas organização laminar ausente, sugerindo distúrbio migracional. A Figura 1A apresenta o córtex normal e a Figura 1F apresenta a representação das camadas e tipos celulares representados nos esquemas.

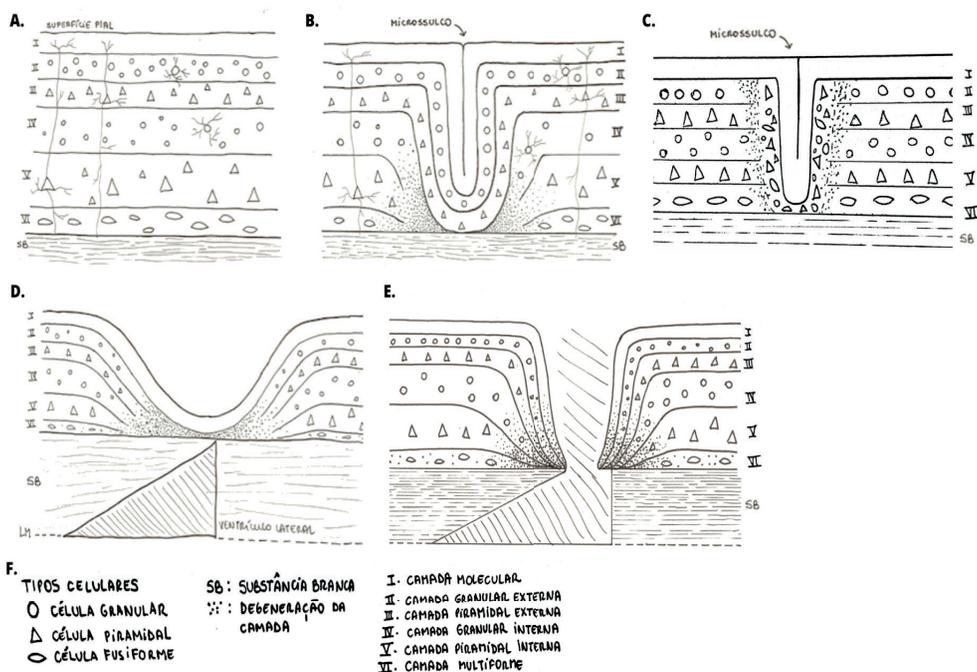


Figura 1. Ilustrações representativas do córtex normal (A) e frente às diferentes malformações do espectro da polimicrogyria, a saber: Polimicrogyria laminada (B), Polimicrogyria não-laminada (C), Esquizencefalia de lábios fechados (D) e Esquizencefalia de lábios abertos (E). A Figura F ilustra os tipos celulares e as camadas celulares representadas nas figuras de A – E.

Os dois tipos de PMG podem ocorrer em áreas corticais contíguas, de modo que representam uma variação da mesma malformação (Verroti A et al., 2009; Jansen A et al., 2005).

A polimicrogyria pode ainda se apresentar isoladamente ou acompanhada por outras malformações encefálicas, sendo uni e/ou bilaterais, generalizada ou focais/multifocais. A área mais frequentemente afetada é o córtex da região perisilviana, ao redor da fissura de Sylvius (Leventer R., 2007). O quadro clínico varia de acordo com a localização, e na

grande maioria das vezes é representado por atraso psicomotor e/ou mental e epilepsia, podendo ter sintomas mais graves na PMG generalizada. As malformações mais comumente associadas são agênese ou hipogênese do corpo caloso, hipoplasia cerebelar (Barkovich AJ et al, 2007), heterotopia periventricular nodular (Wieck G, et al., 2005), e heterotopia subcortical (Barkovich AJ, 2000), além de microcefalia ou macrocefalia (Dobyns W, et al, 2008). Além disso, por vezes é associada à hipomielinização (Santos AC et. al., 2014). Pode aparecer também como parte de diversas síndromes congênitas, tais quais síndrome de DiGeorge e de Aicardi, sendo que mais de 30 genes já foram identificados em associação à PMG (Stutterd CA et al., 2014). Esse conjunto de fatores sugere que essa malformação cortical pode ser o resultado de vários processos e mecanismos distintos, podendo gerar desafios terapêuticos e diferentes prejuízos na qualidade de vida dos indivíduos acometidos por essa malformação.

A PMG foi relacionada a diversas causas, tais como hipoperfusão placentária no segundo trimestre, hipóxia-isquemia cerebral perinatal, perda de um gêmeo no útero e uso de drogas de abuso por parte da gestante (Guerrini R et al., 2001). Recentemente, tem sido demonstrado seu aparecimento após infecção congênita por zika Vírus (Parra-Saavedra et al., 2017), e classicamente o principal gatilho para seu desenvolvimento são infecções congênitas, em especial por citomegalovírus (CMV). De forma alarmante, uma vez infectado pelo CMV, o vírus permanece latente no organismo, podendo sofrer processo de reativação subsequente. Estudos mostram que a prevalência da infecção por CMV no Brasil na última década era 81% no Rio de Janeiro, 90% em São Paulo e Santa Catarina e 87% em Salvador (Mendrone Júnior, 2010), sendo muito provável sua presença em gestantes. De fato, Miura e colaboradores (2006) mostraram que 0,8% dos nascidos vivos em Porto Alegre se infectam com CMV durante a gestação, consistindo em fator de risco de grande importância para a ocorrência dessa e outras malformações (Miura et al., 2006). As regiões encefálicas próximas à microgirria podem conter inclusões virais, focos necróticos, calcificações, heterotopia neuronal e obstrução do suprimento sanguíneo. Logo, vários mecanismos simultâneos - incluindo morte celular, perda de integridade da superfície pial, hipóxia e isquemia e outros prejuízos vasculares causados por danos endoteliais a nível capilar podem influenciar o desenvolvimento cortical, levando a essa malformação (Jansen A et al., 2005). Atualmente, o consenso científico converge para a proposição de que a grande maioria dos casos de PMG são desordens pós-migracionais, visto que há certa manutenção da organização laminar (Judkins AR et al., 2011). Entretanto, há estudos envolvendo PMGs decorrentes de mutações heterozigóticas no gene PAX6, importante regulador da migração neuronal, de forma que não se pode generalizar a ideia da PMG como uma desordem sempre pós-migracional (Mitchell TN et al., 2003). Portanto, é bem provável que a etiologia dessa desordem seja heterogênea, tanto com causas ambientais quanto genéticas, afetando processos tanto migracionais quanto pós-migracionais, culminando em um fenótipo similar: um córtex excessivamente dobrado, com laminação

anormal e fusão das camadas moleculares formando um microsulco.

As manifestações clínicas dependem de inúmeros fatores, tais como a causa da PMG, a presença de síndromes e MCDs associadas, tamanho e localização, e também a influência continuada de seus sintomas, como a epilepsia (Stutterd CA et al., 2014). O espectro de quadros clínicos pode variar muito, havendo desde pacientes com perda pontual de funções cognitivas até aqueles que convivem com encefalopatias e epilepsia farmacologicamente intratável, por exemplo (Galaburda AM et al., 1985). É de conhecimento geral que as formas de surgimento precoces e generalizadas resultam em sequelas mais severas, sendo portanto mais letais. Relatos apontam que o atraso no desenvolvimento global está presente em 70% dos pacientes diagnosticados, e 51% apresentam quadriplegia espástica bilateral ou hemiplegia unilateral. Contudo, a manifestação mais relatada em associação à PMG é a epilepsia. [Leventer et al., 1999]

Praticamente todas as crianças com PMG têm um alto risco de desenvolver epilepsia, que está presente em cerca de 78% dos casos (Leventer et al., 1999). As crises geralmente se iniciam entre os 4 e 12 anos de idade, mas há relatos de crises que se iniciaram em pacientes desde 1 dia de vida até 16 anos e 6 meses (Ohtsuka Y et al., 2002), sendo resistentes à medicação em aproximadamente 65% dos pacientes. Os mais frequentes tipos de crises epiléticas relativas à PMG são ausências atípicas, quedas súbitas (*drop attacks*) tônicas ou atônicas, e convulsões tônico-clônicas generalizadas (Spalice A et al., 2006; Guerrini R, 2005).

3 | ESQUIZENCEFALIA

A esquizencefalia (SCZ) é uma malformação estrutural do córtex que se enquadra no espectro da PMG (Pang T et al., 2008), sendo uma forma mais grave. Pouco é conhecido acerca de sua frequência na população. Em um estudo com 109 pacientes com malformações corticais realizado por Leventer e colaboradores, apenas 5% dos indivíduos apresentavam esquizencefalia, o que leva à conclusão de que é uma MCD bastante rara (Leventer et al., 1999). É caracterizada por fendas congênitas que se aprofundam no córtex, sem fusão das camadas moleculares de cada lado da fenda, margeadas por substância cinzenta (Barth PG, 1992; Curry et al., 2005) e contornadas por um córtex polimicrogírico (Pang T et al., 2008). Possui, assim como a PMG, causas heterogêneas, muitas das quais se relacionam à disrupção vascular durante a formação embrionária dos vasos sanguíneos (Curry et al., 2005). Frequentemente, está associada também a outros defeitos congênitos. Sua prevalência está entre 1,48 a 5,4 casos a cada 100 mil nascimentos (Curry et al, 2005; Szabó et al, 2009). A localização dessas fissuras é bastante variável, mas a região perisilviana é mais frequentemente afetada, assim como na polimicrogiria (Amaral JGP et al., 2001; Packard AM et al., 1997). Não há casos relatados de esquizencefalia que não estejam associados à polimicrogiria, apesar de haver polimicrogírias isentas de

manifestações esquizencefálicas (Barkovich et al., 2005).

Há dois tipos conhecidos de SCZ: o tipo I, caracterizado pela presença de lábios fechados (em que as bordas da fenda, formadas por substância cinzenta, permanecem contínuas, mas sem fusão das camadas moleculares nos dois lados de córtex), e o tipo II, que apresenta lábios abertos (as margens não estão contínuas e uma fenda conecta a superfície pial ao ventrículo lateral do mesmo hemisfério, sendo preenchida por líquido), sendo o segundo tipo mais comum que o primeiro (Figura 1D e 1E). Além disso, as fendas esquizencefálicas podem ser tanto uni quanto bilaterais, simétricas ou assimétricas (Guerrini R, 2005).

Pacientes com SCZ unilateral de lábios fechados geralmente têm hemiparesia leve e crises epiléticas, mas sem comprometer os marcos normais do desenvolvimento, já quando a fenda é aberta, os pacientes têm retardo leve a moderado do desenvolvimento e hemiparesia. Pacientes com fendas bilaterais apresentam déficits mentais bem mais severos e graves anormalidades motoras, como quadriparesia espástica. O desenvolvimento da linguagem é mais prejudicado nos pacientes com SCZ bilateral, e a cegueira devido à hipoplasia do nervo óptico é relativamente comum, uma vez que se apresenta comumente relacionada à displasia septo-óptica. Diversos tipos de crises epiléticas foram descritos, incluindo tônico-clônica generalizada e crises parciais motoras ou sensitivas, e como na PMG, a estabilidade só pode ser atingida, predominantemente, através de cirurgia de ressecção do foco epilético (Granata T et al., 2005; Verroti A et al., 2009).

A esquizencefalia se diferencia da porencefalia, uma outra MCD, por ser uma desordem migracional dos neurônios, cujas fendas são margeadas por polimicrogiria. Em contrapartida, a porencefalia é uma desordem pós-migracional destrutiva (Hino-Fukuyo N et al, 2016), em que o cisto porencefálico é margeado por substância branca ou gliose (Stutterd CA et al., 2014). Desse modo, estudos sugerem que tais malformações podem ser distinguidas a partir do período em que ocorrem. Um estudo recente demonstrou que mutações no gene COL4A1 podem causar tanto porencefalia quanto esquizencefalia, com 16% dos casos de porencefalia e 50% dos de SCZ apresentando uma mutação nesse gene (Yoneda Y et al., 2013). Esses resultados sugerem que o mesmo mecanismo patológico pode resultar em duas malformações distintas.

4 | MECANISMOS OPERANTES NO DESENVOLVIMENTO DAS MALFORMAÇÕES DO ESPECTRO DA POLIMICROGIRIA

As MDC podem se desenvolver em decorrência de condições patológicas do SNC, como infecções por CMV e ZIKV, hemorragia, isquemia e hipóxia. Tais perturbações geram danos vasculares que resultam em neuroinflamação, excitotoxicidade e estresse oxidativo, culminando em alterações na morfologia cortical.

4.1 Infecções congênitas por Citomegalovírus ou Zika vírus:

Apesar do SNC ter um transporte transcelular altamente regulado pela barreira hematoencefálica desde o desenvolvimento embrionário, infecção ou reativação de vírus neurotrópicos durante a gravidez estão associadas a um quadro inflamatório e neurodesenvolvimento prejudicado (ABBOTT et al, 2006). A resposta inflamatória como consequência da replicação viral, propicia o aparecimento de hemorragias e promove alteração na permeabilidade da barreira hematoencefálica, facilitando a infiltração de leucócitos e ativação microglial e astrocitária. A secreção de mediadores inflamatórios, resultante dessas ativações, amplifica a resposta inflamatória podendo gerar danos enormes ao SNC (Ji Ru Rong, 2018; Chagas, 2020).

Ao decorrer do desenvolvimento cerebral, as infecções congênitas por CMV e ZIKV são preocupantes devido à capacidade de ultrapassar a barreira placentária, bem como a barreira hematoencefálica. Estudos histopatológicos de mães que tiveram fetos abortados por infecção congênita por CMV revelaram que 100% possuíam placenta positiva para partículas virais (Kawasaki et al, 2017). Após transpassar a placenta, o CMV utiliza os pericitos externos à vasculatura como reservatório para sua replicação, gerando uma cascata pró-inflamatória que contribui para o quadro de inflamação (DONALD et al, 2012).

Uma vez que o CMV atinge células endoteliais, o mesmo se difunde para diversos órgãos do feto em desenvolvimento, como o encéfalo (Kawasaki et al, 2017). Um estudo realizado a partir de fetos abortados por infecção por CMV, mostrou que 55% dos fetos apresentavam partículas virais no cérebro e 33% dos cérebros apresentavam necrose e infiltrado inflamatório (Gabrielli et al, 2009). Adicionalmente, já foi descrita a presença do vírus nas camadas da zona ventricular e na zona cortical da prole de camundongos que tiveram a placenta infectada com CMV no décimo segundo dia de gestação. O vírus infecta principalmente células da glia radial comprometendo a migração neuronal e formação das camadas do córtex cerebral (TSUTSUI, 2009). Além disso, ao realizarem uma análise tardia do hipocampo e do córtex cerebral após a infecção, foram encontrados antígenos virais em neurônios e macrófagos. Já na área periventricular, a maior parte das células com antígeno viral também eram positivas para f4/80, caracterizando-se como macrófagos ou micróglia (SAKAO-SUZUKI et al, 2014). Estudos de casos de infecção por CMV sugeriram que a microglia ocorre devido a uma falha de perfusão cortical entre a 20ª e a 24ª semana do desenvolvimento, devido à vasculite ou hipotensão transitória, levando a isquemia/hipóxia da região irrigada (Marques Dias e Harmant-Van Rijckevorsel, 1984).

Recentemente, achados semelhantes aos de infecção congênita por CMV foram encontrados para a infecção congênita por ZIKV. Dentre as células neurais susceptíveis à infecção por ZIKV, foram identificados astrócitos, células da glia radial, células progenitoras intermediárias, neurônios excitatórios e inibitórios, além de micróglia e células endoteliais (Hamel et al., 2015, Nowakowski et al., 2017). Além disso, estudos com camundongos

inoculados com ZIKV durante a gestação, apresentaram prole com neuroinflamação acentuada confirmada pela presença de astrogliose difusa, ativação de macrófagos e microglia, resultando em alterações fisiológicas durante o desenvolvimento que geram malformações encefálicas, culminando no desenvolvimento de epilepsia (FIGUEIREDO et al, 2019).

4.2 Hemorragia

Os processos hemorrágicos, secundários à uma infecção ou não, também induzem inflamação de modo que a microglia e astrócitos são ativados, liberando citocinas e quimiocinas que coordenam o recrutamento de neutrófilos e monócitos, gerando radicais livres que causam danos no tecido cerebral. Quando reativos, os astrócitos demonstram alterações fisiológicas e moleculares, como redução da corrente de influxo de K⁺, modulação nos transportadores de glutamato e diminuição dos níveis de adenosina ocasionada pelo aumento da enzima adenosina quinase, podendo conduzir a um quadro de hiperexcitabilidade. Além do mais, os astrócitos possuem estreita relação com a microvasculatura, de modo que seus prolongamentos circundam os capilares atuando sobre estrutura endotelial através do fortalecimento das junções oclusivas entre as células endoteliais, impedindo assim a passagem de macromoléculas pela barreira hematoencefálica, contribuindo para sua manutenção. Em condições de neuroinflamação, as junções ficam prejudicadas permitindo que citocinas e quimiocinas possam atuar favorecendo o quadro neuroinflamatório (Devinsky, 2013). Em concordância com os achados anteriores, a análise neuropatológica de bebês prematuros natimortos com distúrbio circulatório encefálico revelou que a hemorragia com dano isquêmico apresenta padrões aumentados de astrocitose reativa, infiltrado de macrófagos e gliose na substância branca interferindo na mielinização. Esses achados demonstram que a hemorragia leva a inflamação e diversas alterações que modificam a homeostase tecidual (Squier, 1991).

4.3 Hipóxia e Neuroinflamação

Para o bom desenvolvimento e funcionamento das células nervosas e integridade da atividade cerebral, é necessário que haja um suprimento adequado de fluxo sanguíneo, trazendo oxigênio e nutrientes. A hipóxia consiste na diminuição de aporte de oxigênio para o cérebro, o que desencadeia uma cascata de eventos bioquímicos, como ativação de proteases e caspases, levando à morte celular e consequente disfunção cerebral. A lesão por hipóxia comumente se manifesta como dano ou perda de tecido no córtex cerebral, núcleos da base e/ou hipocampo, causando diminuição de seus volumes (Fatemi *et al.*, 2009). Cinco segundos de falta de suprimento de oxigênio já podem levar a um comprometimento funcional severo do SNC, como a perda de sinapses, neurônios e funções a eles relacionadas (Oehmichen & Meissner, 2006). Visando sua própria sobrevivência, o organismo em resposta à hipóxia promove eritropoiese, vasodilatação e angiogênese,

assim como alterações na atividade do fator de transcrição induzido por hipóxia, HIF-1 α , que controla a expressão de genes codificantes de proteínas participantes do metabolismo anaeróbico (Virués-Ortega *et al.*, 2004). A insuficiência de oxigênio pode levar também a mudanças na resposta inflamatória, levando ao aumento de citocinas e células pró-inflamatórias (Ellison *et al.*, 2005). Neutrófilos, monócitos e linfócitos circulantes extravasam para tecido acometido durante o primeiro dia da lesão hipóxico-isquêmica, aumentando a neuroinflamação (Bélanger *et al.*, 2011). Essa entrada de células inflamatórias da periferia é uma resposta importante para a fagocitose de restos de células que morreram por processos de necrose e apoptose, entretanto, o perfil pró-inflamatório leva a uma resposta sustentada, cronificando a lesão tecidual (Abbas *et al.*, 2000; Gomes-leal, 2002).

A resposta inflamatória mediante a um quadro de hipóxia encefálica envolve a liberação de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6, TNF α e HMGB1. Essas citocinas promovem reatividade astrocitária e microglial e contribuem para disfunção neuronal por vários mecanismos, incluindo alterações na neurotransmissão e na composição das subunidades dos receptores para ácido gama-aminobutírico (GABA) e glutamato (Vezzani *et al.*, 2011a). A IL-1 β aumenta a liberação de glutamato através da fosforilação do receptor TRPV1 pela PKC e medeia os efeitos inibitórios da IL-1 β no potencial pós-sináptico inibitório, sugerindo que a IL-1 β contribui para determinar a excitabilidade da rede neuronal em condições patológicas associadas à neuroinflamação, levando à hiperexcitabilidade (Ji Ru Rong, 2018). O TNF- α , aumenta a excitabilidade dos circuitos neurais, exercendo essa ação através do aumento da frequência de potencial pós-sináptico excitatório dependente do receptor AMPA em neurônios do hipocampo, córtex cerebral, amígdala e medula espinal de camundongo (Semple, *et al.*, 2020). Por fim, os efeitos do TNF- α no AMPA-R são revertidos pela ativação dos receptores canabinóides CB1. Este mecanismo neuroprotetor contrapõe o aumento de TNF- α e a excitotoxicidade induzida por cainato (KA) (Devinsky *et al.*, 2013).

4.4 Hipóxia e excitotoxicidade

Independentemente de sua causa, a hipóxia pode levar ao aumento do nível de glutamato extracelular. A falta de oxigênio e glicose no parênquima encefálico, leva a uma perda da produção de ATP e falha na bomba Na⁺/K⁺, alterando o potencial de membrana, favorecendo a despolarização, geração de potenciais de ação e liberação de neurotransmissores, levando à excitotoxicidade por liberação de glutamato no encéfalo (Larsen *et al.*, 2006). O acúmulo de glutamato na fenda sináptica aumenta ainda mais a despolarização do neurônio pós-sináptico, levando ao aumento de cálcio intracelular e ativação de proteases dependentes de cálcio e apoptose mediada por ativação de Caspase 3. Assim, a ausência abrupta do fluxo sanguíneo para regiões encefálicas leva também à neurotoxicidade, que somada à inflamação cerebral promove a morte de neurônios e células da glia, por necrose e apoptose (Hossain., 2005). Em conjunto, as alterações

homeostáticas e metabólicas oriundas do processo de hipóxia podem aumentar a suscetibilidade a convulsões na idade adulta. Em modelos animais de hipóxia perinatal no dia pós natal 10-12, foi demonstrado que os animais apresentaram convulsões tônico-clônicas espontâneas, bem como uma maior predisposição a convulsões na fase adulta (Jensen et al., 1991). Além disso, o retorno abrupto de oxigênio para a área isquêmica leva à geração de radicais livres, exacerbando o dano e morte celular (Larsen et al, 2006).

4.5 Estresse Oxidativo

A superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROS) resulta no estresse oxidativo, um processo intimamente relacionado à neuroinflamação. Entre as enzimas que participam desse processo estão a NADPH OXIDASE 2 (NOX2), a mieloperoxidase e a óxido nítrico sintase induzida (iNOS) (Li et al., 2020). A NOX2 é encontrada em células fagocíticas como neutrófilos, macrófagos e microglia, estando presente em tecidos cerebrais que sofreram algum tipo de lesão, processos degenerativos e crises epiléticas ou induzidas por estimulação elétrica, pilocarpina e ácido kaínico. A partir de NADPH e oxigênio molecular, a NOX2 produz superóxido, um ânion altamente reativo. Em modelos de lesão encefálica traumática, a inibição de NOX2 diminui a perda neuronal no neocórtex e no hipocampo, além de melhorar a recuperação funcional. Uma das formas de combate a patógenos pelos neutrófilos se dá pela secreção de ácido hipocloroso, composto altamente reativo produzido pela mieloperoxidase. Contudo, essa substância pode interagir com estruturas do tecido hospedeiro, resultando na morte de células neurais e prejudicando as funções fisiológicas (Babior, 2000; Eastman et al., 2019). Já foi mostrado que a inflamação e a neurodegeneração promovem a deterioração tecidual via estresse oxidativo, devido a presença de um infiltrado leucocitário em lesões encefálicas traumáticas (Eastman et al., 2019). Dessa forma, as células inflamatórias promovem estresse oxidativo no parênquima do SNC, causando por exemplo, peroxidação lipídica no local de inflamação através da atividade da NOX2 e mieloperoxidase (Osawa, 2018). Outra enzima importante no estresse oxidativo é a iNOS, a qual encontra-se em níveis elevados quando microglia e macrófagos humanos são expostos a citocinas pró inflamatórias. Em resposta a essa exposição, a iNOS produz óxido nítrico (NO) a partir de arginina, oxigênio e NADPH (Babior, 2000). Um dos caminhos através dos quais o aumento dos níveis de a lesão tecidual, sua resposta inflamatória associada e a produção de EROS e neuroinflamação conduzem à epileptogênese, é a sinalização por HMGB1, IL1 β e TNF- α . O HMGB1 é uma molécula liberada pelos tecidos em resposta à lesão tecidual, que sinaliza ativando macrófagos, microglia e astrócitos. HMGB1 possui propriedades quimioatraentes de leucócitos quando estão em estado reduzido, além de estimular a secreção de citocinas pró-inflamatórias como IL1 β e TNF- α , quando seus resíduos de cisteínas são oxidados. Assim, as EROS podem influenciar a expressão de mediadores inflamatórios, cronificando o processo de dano tecidual (Wang et al., 2018; Eastman et al., 2019).

4.6 Achados similares em outras MCDs

Avaliando as displasias corticais focais, cuja geração de epilepsia farmacorresistente já é bem estabelecida, outras vias inflamatórias foram descritas presentes nessa malformação (Iffland *et al.*, 2017). Acerca das malformações corticais, foi demonstrada a presença de marcadores inflamatórios, como Toll Like Receptor 4 (TLR4), COX-2 e NF-κB e também de marcadores de estresse oxidativo, como xCT e iNOS em diferentes malformações do córtex cerebral, como a displasia cortical focal IIb (FCDIIb) e esclerose tuberosa (TS). Assim, evidenciou-se a correlação com a expressão dos marcadores pró-inflamatórios no tecido epileptogênico, com os marcadores de estresse oxidativo sendo mais prevalentes em neurônios dismórficos e células Balão no córtex de pacientes com FCD IIb ou TSC, (Van Scheppinger *et al.*, 2016). Adicionalmente, um estudo conduzido por Arena e colaboradores também mostrou a relação entre o estresse oxidativo em pacientes com quadros de epilepsia decorrente da inflamação cerebral presente em malformações corticais, como a displasia cortical focal (FCD) e tubérculos corticais no complexo de esclerose tuberosa (TSC), evidenciando assim, que o processo neuroinflamatório ocorre em concomitância com o estresse oxidativo encontra-se presente nas malformações corticais (Arena *et al.*, 2018). Por fim, estudos empregando a tomografia por emissão de pósitrons revelaram presença de microglia ativada e aumento na proteína translocadora 18kDa (TSPO), um marcador de microglia ativada e astrócitos reativos, em pacientes com displasia cortical focal (Butler *et al.*, 2013., Butler., 2016 e Dickstein, 2019).

5 | CONCLUSÃO

Em suma, esta revisão chama atenção para os processos vasculares, inflamatórios e de estresse oxidativo presentes no desenvolvimento das malformações do desenvolvimento cortical, e o quão amplo e incerto ainda é esse campo. Esses processos podem causar injúrias, resultando em perdas de células neurais durante o desenvolvimento, e os diversos mecanismos discutidos devem ser considerados possíveis alvos para intervenções terapêuticas. Como esses processos conduzem à reorganização de circuitos, mielinização e padrões de atividade neuronal alterados são tópicos que também precisam ser mais bem estudados para promover meios de prevenção e tratamento adequado às diversas manifestações das MCDs, entre elas o atraso global no desenvolvimento e a epilepsia. Ademais, o estímulo às pesquisas será essencial para promover não só maiores níveis de conhecimento sobre tais mecanismos, que ainda são mistérios neurológicos, mas também a conscientização da sociedade sobre doenças que, embora raras, influenciam a vida de muitos indivíduos. Permitir-se-á, assim, seu reconhecimento social, imprescindível à construção de uma sociedade que possa fornecer melhor qualidade de vida a essas pessoas e que seja mais receptiva às diferenças.

REFERÊNCIAS

A JANSEN, **Genetics of the polymicrogyria syndromes.** Journal Of Medical Genetics, [S.L.], v. 42, n. 5, p. 369-378, 2005.

ABBAS, A, K; A J., Charles. **Immunology: improving on nature in the twenty-first century.** Cell, [S.L.], v. 100, n. 1, p. 129-138, 2000.

ABBOTT, N. J.; RÖNNBÄCK, L.; HANSSON, E. **Astrocyte–endothelial interactions at the blood–brain barrier.** Nature Reviews Neuroscience, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 41-53, 2006.

AMARAL, J. G. P.; YANAGA, R. H.; GEISLER, H. J.; CARVALHO NETO, A.; BRUCK, I.; ANTONIUK, S. A. **Esquizencefalia: relato de onze casos.** Arquivos de Neuro-Psiquiatria, [S.L.], v. 59, n. 2, p. 244-249, 2001.

ARENA, A.; ZIMMER, T. S.; VAN SCHEPPINGEN, J.; KOROTKOV, A.; ANINK, J. J.; MÜHLEBNER, A.; JANSEN, F. E.; VAN HECKE, W.; SPLIT, . G.; VAN RIJEN, P. C. **Oxidative stress and inflammation in a spectrum of epileptogenic cortical malformations: molecular insights into their interdependence.** Brain Pathology, [S.L.], v. 29, n. 3, p. 351-365, 2018.

BABIOR, B. M. **Phagocytes and oxidative stress.** The American Journal Of Medicine, [S.L.], v. 109, n. 1, p. 33-44, 2000.

Barkovich, A. J. **“Morphologic characteristics of subcortical heterotopia: MR imaging study.”** American journal of neuroradiology 21, [S.L.], n. 2, 2000.

BARKOVICH, A. J. **Current concepts of polymicrogyria.** Neuroradiology, [S.L.], v. 52, n. 6, p. 479-487, 2010.

BARKOVICH, A. J.; KUZNIECKY, R. I.; JACKSON, G. D.; GUERRINI, R.; DOBYNS, W. B. **A developmental and genetic classification for malformations of cortical development.** Neurology, [S.L.], v. 65, n. 12, p. 1873-1887, 2005.

BARKOVICH, A. J.; MILLEN, K. J.; DOBYNS, W. B. **A developmental classification of malformations of the brainstem.** Annals Of Neurology, [S.L.], v. 62, n. 6, p. 625-639, 2007.

Barth, P. G. **Schizencephaly and nonlissencephalic cortical dysplasias.”** American journal of neuroradiology 13, [S.L.], no. 1, 104-106, 1992.

BÉLANGER, M.; ALLAMAN, I.; MAGISTRETTI, P. J. **Differential effects of pro- and anti-inflammatory cytokines alone or in combinations on the metabolic profile of astrocytes.** Journal Of Neurochemistry, [S.L.], v. 116, n. 4, p. 564-576, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (CONITEC).** Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para epilepsia, 2019.

BUTLER, T.; LI, .i; TSUI, W.; FRIEDMAN, D.; MAOZ, A.; WANG, X.; HARVEY, P.; TANZI, E.; MORIM, S.; KANG, Y. **Transient and chronic seizure-induced inflammation in human focal epilepsy.** Epilepsia, [S.L.], v. 57, n. 9, p. 191-194, 2016.

CHAGAS, L. D. S.; SANDRE, P. C.; RIBEIRO, N. C. A. R.; MARCONDES, H.; SILVA, P. O.; SAVINO, W.; SERFATY, C. A. **Environmental Signals on Microglial Function during Brain Development, Neuroplasticity, and Disease.** International Journal Of Molecular Sciences, [S.L.], v. 21, n. 6, p. 2111, 2020.

CURRY, C. J.; LAMMER, E. J.; NELSON, V.; SHAW, G. M. **Schizencephaly: heterogeneous etiologies in a population of 4 million california births.** American Journal Of Medical Genetics Part A, [S.L.], v. 137, n. 2, p. 181-189, 2005.

DEVINSKY, O.; VEZZANI, A.; NAJJAR, S.; LANEROLLE, N. C. D.; ROGAWSKI, M. A. **Glia and epilepsy: excitability and inflammation.** Trends In Neurosciences, [S.L.], v. 36, n. 3, p. 174-184, 2013.

DIAS, M. M.; RIJCKEVORSEL, G. H. V.; LANDRIEU, P.; LYON, G. **Prenatal Cytomegalovirus Disease and Cerebral Microgyria: evidence for perfusion failure, not disturbance of histogenesis, as the major cause of fetal cytomegalovirus encephalopathy.** Neuropediatrics, [S.L.], v. 15, n. 01, p. 18-24, 1984.

DICKSTEIN, L. P.; LIOW, J.; AUSTERMUEHLE, A.; ZOGHBI, S.; INATI, S. K.; ZAGHLOUL, K.; ZANOTTI-FREGONARA, P.; THEODORE, W. H. **Neuroinflammation in neocortical epilepsy measured by PET imaging of translocator protein.** Epilepsia, [S.L.], p. 1248-1254, 2019.

DOBYNS, W. B.; MIRZAA, G.; CHRISTIAN, S. L.; PETRAS, K.; ROSEBERRY, J.; CLARK, G. D.; CURRY, C. J. R.; MCDONALD-MCGINN, D.; MEDNE, L.; ZACKAI, E. **Consistent chromosome abnormalities identify novel polymicrogyria loci in 1p36.3, 2p16.1–p23.1, 4q21.21–q22.1, 6q26–q27, and 21q2.** American Journal Of Medical Genetics Part A, [S.L.], v. 146, n. 13, p. 1637-1654, 2008.

EASTMAN, C. L.; D'AMBROSIO, R.; GANESH, T. **Modulating neuroinflammation and oxidative stress to prevent epilepsy and improve outcomes after traumatic brain injury.** Neuropharmacology, [S.L.], v. 172, p. 107907, 2020.

ELLISON, D. W.; ONILUDE, O. E.; LINDSEY, J. C.; LUSHER, M. E.; WESTON, C. L.; TAYLOR, R. E.; PEARSON, A. D.; CLIFFORD, S. C. **β -Catenin Status Predicts a Favorable Outcome in Childhood Medulloblastoma: the united kingdom children's cancer study group brain tumour committee.** Journal Of Clinical Oncology, [S.L.], v. 23, n. 31, p. 7951-7957, 2005.

FATEMI, A.; WILSON, M. A.; JOHNSTON, M. V. **Hypoxic-Ischemic Encephalopathy in the Term Infant.** Clinics In Perinatology, [S.L.], v. 36, n. 4, p. 835-858, 2009.

FIGUEIREDO, C. P.; BARROS-ARAGÃO, F. G. Q.; NERIS, R. L. S.; FROST, P. S.; SOARES, C.; SOUZA, I. N. O.; ZEIDLER, J. D.; ZAMBERLAN, D. C.; SOUSA, V. L. D.; SOUZA, A. S. **Zika virus replicates in adult human brain tissue and impairs synapses and memory in mice.** Nature Communications, [S.L.], v. 10, n. 1, 3890, 2019.

FRATER, J. L.; PRAYSON, R. A.; MORRIS III, H. H.; BINGAMAN, W. E. **Surgical pathologic findings of extratemporal-based intractable epilepsy: a study of 133 consecutive resections.** Archives of pathology & laboratory medicine 124, no. 4, p. 545-549, 2000.

GABRIELLI, L.; BONASONI, M. P.; LAZZAROTTO, T.; LEGA, S.; SANTINI, D.; FOSCHINI, M. P.; GUERRA, B.; BACCOLINI, F.; PICCIRILLI, G.; CHIAREGHIN, A. **Histological findings in fetuses congenitally infected by cytomegalovirus.** Journal Of Clinical Virology, [S.L.], v. 46, p. 16-21, 2009.

GALABURDA, A. M.; SHERMAN, G. F.; ROSEN, G. D.; ABOITIZ, F.; GESCHWIND, N.. **Developmental dyslexia: four consecutive patients with cortical anomalies.** *Annals Of Neurology*, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 222-233, 1985.

GOMES-LEAL, W. **Inflamação Aguda, Resposta Glial e Degeneração Axonal em um Modelo de Excitotoxicidade na Medula Espinhal.** 20D2. 197f. Tese (Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Área de concentração em Neurociências) -Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2002.

GRANATA, T.; FRERI, E.; CACCIA, C.; SETOLA, V.; TARONI, F.; BATTAGLIA, G. **Schizencephaly clinical spectrum, epilepsy, and pathogenesis.** *Journal Of Child Neurology*, [S.L.], v. 20, n. 4, p. 313-318, 2005.

GUERRINI, R. **Genetic Malformations of the Cerebral Cortex and Epilepsy.** *Epilepsia*, [S.L.], v. 46, n. 1, p. 32-37, 2005.

GUERRINI, R. **Epilepsy in children.** *The Lancet*, [S.L.], v. 367, n. 9509, p. 499-524, 2006.

GUERRINI, R.; CARROZZO, R. **Epileptogenic brain malformations: clinical presentation, malformative patterns and indications for genetic testing.** *Seizure*, [S.L.], v. 10, n. 7, p. 532-547, 2001.

HAMEL, R.; DEJARNAC, O.; WICHIT, S.; EKCHARIYAWAT, P.; NEYRET, A.; LUPLERTLOP, N.; PERERA-LECOIN, M.; SURASOMBATPATTANA, .; TALIGNANI, L.; THOMAS, F. **Biology of Zika Virus Infection in Human Skin Cells.** *Journal Of Virology*, [S.L.], v. 89, n. 17, p. 8880-8896, 2015.

HOSSAIN, M. A.; **Molecular mediators of hypoxic–ischemic injury and implications for epilepsy in the developing brain.** *Epilepsy & Behavior*, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 204-213, 2005.

HINO-FUKUYO, N.; TOGASHI, N.; TAKAHASHI, R.; SAITO, J.; INUI, T.; ENDO, W.; SATO, R.; OKUBO, Y.; SAITSU, H.; HAGINOYA, K. **Neuroepidemiology of Porencephaly, Schizencephaly, and Hydranencephaly in Miyagi Prefecture, Japan.** *Pediatric Neurology*, [S.L.], v. 54, p. 39-42.1, 2016.

IFFLAND, P. H.; CRINO, P. B. **Focal Cortical Dysplasia: gene mutations, cell signaling, and therapeutic implications.** *Annual Review Of Pathology: Mechanisms of Disease*, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 547-571., 2017.

JENSEN, F. E.; APPLGATE, C. D.; HOLTZMAN, D.; BELIN, T. R.; BURCHFIEL, J. L. **Epileptogenic effect of hypoxia in the immature rodent brain.** *Annals Of Neurology*, [S.L.], v. 29, n. 6, p. 629-637, 1991.

JI, R. R.; NACKLEY, A.; HUH, Y.; TERRANDO, N.; MAIXNER, W. **Neuroinflammation and Central Sensitization in Chronic and Widespread Pain.** *Anesthesiology*, [S.L.], v. 129, n. 2, p. 343-366, 2018.

JUDKINS, A. R.; MARTINEZ, D.; FERREIRA, P.; DOBYNS, W. B.; GOLDEN, J. A.. **Polymicrogyria Includes Fusion of the Molecular Layer and Decreased Neuronal Populations But Normal Cortical Laminar Organization.** *Journal Of Neuropathology & Experimental Neurology*, [S.L.], v. 70, n. 6, p. 438-443., 2011.

- KAWASAKI, H.; KOSUGI, I.; MEGURO, S.; IWASHITA, T. **Pathogenesis of developmental anomalies of the central nervous system induced by congenital cytomegalovirus infection.** Pathology International, [S.L.], v. 67, n. 2, p. 72-82, 2017.
- KUZNIECKY, R.; MURRO, A.; KING, D.; MORAWETZ, R.; SMITH, J.; POWERS, R.; YAGHMAI, F.; FAUGHT, E.; GALLAGHER, B.; SNEAD, O. C.. **Magnetic resonance imaging in childhood intractable partial epilepsies: pathologic correlations.** Neurology, [S.L.], v. 43, n. 4, p. 681-681, 1993.
- LARSEN, G. A.; SKJELLEGRIND, H. K.; BERG-JOHNSEN, J.; MOE, M. C.; VINJE, M. L. **Depolarization of mitochondria in isolated CA1 neurons during hypoxia, glucose deprivation and glutamate excitotoxicity.** Brain Research, [S.L.], v. 1077, n. 1, p. 153-160, 2006.
- LEVENTER, R. J.; JANSEN, A.; PILZ, D. T.; STOODLEY, N.I.; MARINI, C.; DUBEAU, F.; MALONE, J.; MITCHELL, L. A.; MANDELSTAM, S.; SCHEFFER, I. E. **Clinical and imaging heterogeneity of polymicrogyria: a study of 328 patients.** Brain, [S.L.], v. 133, n. 5, p. 1415-1427, 2010.
- LEVENTER, R.J.; PHELAN, E.M.; COLEMAN, L.T.; KEAN, M.J.; JACKSON, G.D.; HARVEY, A. S. **Clinical and imaging features of cortical malformations in childhood.** Neurology, [S.L.], v. 53, n. 4, p. 715-715, 1999.
- LI, Y.-F.; THOM, M.; JACQUES, T. S. **Novel therapeutic targets in epilepsy: oxidative stress and iron metabolism.** Neuropathology And Applied Neurobiology, [S.L.], v. 46, n. 6, p. 519-521, 2020.
- MENDRONE JUNIOR, A. **Prevalência da infecção pelo citomegalovírus: a importância de estudos locais.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia 32, no. 1, p. 7-8, 2010
- MITCHELL, T. N.; FREE, S. L.; WILLIAMSON, K. A.; STEVENS, J. M.; CHURCHILL, A. J.; HANSON, I. M.; SHORVON, S. D.; MOORE, A. T.; VAN HEYNINGEN, V.; SISODIYA, S. M. **Polymicrogyria and absence of pineal gland due toPAX6 mutation.** Annals Of Neurology, [S.L.], v. 53, n. 5, p. 658-663, 2003.
- MIURA, C. S.; MIURA, E.; MOMBACH, A. B.; CHESKY, M. **The prevalence of congenital cytomegalovirus infection in newborn infants at an intensive care unit in a public hospital.** Jornal de Pediatria, [S.L.], v. 82, n. 1, p. 46-50, 2006.
- NOWAKOWSKI, T. J.; POLLEN, A. A.; DI LULLO, E.; SANDOVAL-ESPINOSA, C.; BERSHTEYN, M.; KRIEGSTEIN, A. R. **Expression Analysis Highlights AXL as a Candidate Zika Virus Entry Receptor in Neural Stem Cells.** Cell Stem Cell, [S.L.], v. 18, n. 5, p. 591-596, 2016.
- OECHMICHEN, M.; MEISSNER, C. **Cerebral Hypoxia and Ischemia: the forensic point of view.** Journal Of Forensic Sciences, [S.L.], v. 51, n. 4, p. 880-887, 2006.
- OHTSUKA, Y.; TANAKA, A.; KOBAYASHI, K.; OHTA, H.; ABIRU, K.; NAKANO, K.; OKA, E. **Childhood-onset epilepsy associated with polymicrogyria.** Brain And Development, [S.L.], v. 24, n. 8, p. 758-765, 2002.
- OSAWA, T. **Development and application of oxidative stress biomarkers.** Bioscience, Biotechnology, And Biochemistry, [S.L.], v. 82, n. 4, p. 564-572, 2018.

PACKARD, A. M.; MILLER, V. S.; DELGADO, M. R.. **Schizencephaly: correlations of clinical and radiologic features.** Neurology, [S.L.], v. 48, n. 5, p. 1427-1434, 1997.

PANG, T.; ATEFY, R.; SHEEN, V. **Malformations of Cortical Development.** The Neurologist, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 181-191, 2008.

PARRA-SAAVEDRA, M.; REEFHUIS, J.; PIRAQUIVE, J. P.; GILBOA, S. M.; BADELL, M. L.; MOORE, C. A.; MERCADO, M.; VALENCIA, D.; JAMIESON, D. J.; BELTRAN, M. **Serial Head and Brain Imaging of 17 Fetuses With Confirmed Zika Virus Infection in Colombia, South America.** Obstetrics & Gynecology, [S.L.], v. 130, n. 1, p. 207-212, 2017.

PASQUIER, B., M.; PÉOC'H, B. F. B.; BENSAADI, L.; PASQUIER, D.; HOFFMANN, D.; KAHANE, P.; TASSI, L.; LE BAS, J. F. **Surgical pathology of drug-resistant partial epilepsy. A 10-year-experience with a series of 327 consecutive resections.** Epileptic disorders 4, no. 2, p. 99-119, 2002.

SAKAO-SUZUKI, M.; KAWASAKI, H.; AKAMATSU, T.; MEGURO, S.; MIYAJIMA, H.; IWASHITA, T.; TSUTSUI, Y.; INOUE, N.; KOSUGI, I. **Aberrant fetal macrophage/microglial reactions to cytomegalovirus infection.** Annals Of Clinical And Translational Neurology, [S.L.], v. 1, n. 8, p. 570-588, 2014.

SANTOS, A. C.; ESCORSI-ROSSET, S.; SIMAO, G. N.; TERRA, V. C.; VELASCO, T.; NEDER, L.; SAKAMOTO, A. C.; MACHADO, H. R.. **Hemispheric dysplasia and hemimegalencephaly: imaging definitions.** Child'S Nervous System, [S.L.], v. 30, n. 11, p. 1813-1821, 2014.

SEMPLER, B. D.; DILL, L. K.; O'BRIEN, T. J. **Immune Challenges and Seizures: how do early life insults influence epileptogenesis?.** Frontiers In Pharmacology, [S.L.], v. 11, 2, 2020.

SPALICE, A.; PARISI, P.; MASTRANGELO, M.; LUCA, F. D>; VERROTTI, A.; IANNETTI, P. **Bilateral perysylvian polymicrogyria in Chiari I malformation.** Child'S Nervous System, [S.L.], v. 22, n. 12, p. 1635-1637, 2006.

SQUIER, M.; KEELING, J. W.. **The incidence of prenatal brain injury.** Neuropathology And Applied Neurobiology, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 29-38, 1991.

STUTTERD, C. A.; LEVENTER, R. J.. **Polymicrogyria: a common and heterogeneous malformation of cortical development.** American Journal Of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics, [S.L.], v. 166, n. 2, p. 227-239, 2014.

SZABÓ, N.; HEGYI, Á.; BODA, M.; PÁNCSICS, M.; PAP, C.; ZÁGONYI, K.; ROMHÁNYI, É.; TÚRI, S.; SZTRIHA, L. **Bilateral Operculum Syndrome in Childhood.** Journal Of Child Neurology, [S.L.], v. 24, n. 5, p. 544-550, 2009.

TSUTSUI, Y. **Effects of cytomegalovirus infection on embryogenesis and brain development. Congenital Anomalies,** [S.L.], v. 49, n. 2, p. 47-55, 2009.

VAN SCHEPPINGEN, J.; IYER, A. M.; PRABOWO, A. S.; MÜHLEBNER, A.; ANINK, J. J.; SCHOLL, T.; FEUCHT, M.; JANSEN, F. E.; SPLIET, W. G.; KRSEK, P.. **Expression of microRNAs miR21, miR146a, and miR155 in tuberous sclerosis complex cortical tubers and their regulation in human astrocytes and SEGA-derived cell cultures.** Glia, [S.L.], p. 1066-1082, 2016.

VERROTTI, A.; SPALICE, A.; URSITTI, F.; PAPETTI, L.; MARIANI, R.; CASTRONOVO, A.; MASTRANGELO, M.; IANNETTI, P. **New trends in neuronal migration disorders.** European Journal Of Paediatric Neurology, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 1-12, 2010.

VEZZANI, A.; FRENCH, J.; BARTFAI, T.; BARAM, T. Z. **The role of inflammation in epilepsy.** Nature Reviews Neurology, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 31-40. 2010.

VIRUÉS-ORTEGA, J.; BUELA-CASAL, G.; GARRIDO, E.; ALCÁZAR, B. **Neuropsychological Functioning Associated with High-Altitude Exposure.** Neuropsychology Review, [S.L.], v. 14, n. 4, p. 197-224. 2004.

WANG, L., XIN Z., YIZHOU Y., YUXIN M., DESAI W., AND XUEDONG Z.. **“Hyperglycemia induces neutrophil extracellular traps formation through an NADPH oxidase-dependent pathway in diabetic retinopathy.”** Frontiers in immunology 9 (2019): 3076.

WIECK, G.; LEVENTER, R. J.; SQUIER, W. M.; JANSEN, A.; ANDERMANN, E.; DUBEAU, F.; RAMAZZOTTI, A.; GUERRINI, R.; DOBYNS, W. B. **Periventricular nodular heterotopia with overlying polymicrogyria.** Brain, [S.L.], v. 128, n. 12, p. 2811-2821. 2005. Oxford University Press (OUP).

YONEDA, Y.; HAGINOYA, K.; KATO, M.; OSAKA, H.; YOKOCHI, K.; ARAI, H.; KAKITA, A.; YAMAMOTO, T.; OTSUKI, Y.; SHIMIZU, S. **Phenotypic Spectrum of COL4A1 Mutations: porencephaly to schizencephaly.** Annals Of Neurology, [S.L.], v. 73, n. 1, p. 48-57. 2012. Wiley.

CAPÍTULO 2

O USO DE FIBRAS PREBIÓTICAS NA PREVENÇÃO DE DOENÇAS OBSTRUTIVAS NO JABUTI-PIRANGA (CHELONOIDIS CARBONARIA) – RELATO DE CASO

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 15/05/2021

Manuele Truyts Penteadó

Universidade Paulista (UNIP)

Jacaréi – São Paulo

<http://lattes.cnpq.br/2123453665695991>

Julia Maria Ribeiro

Faculdade de ciências agrárias e veterinárias -

FCAV Unesp campus de Jaboticabal

Jacaréi – São Paulo

Pâmela Beatriz do Rosário Estevam dos Santos

Instituto de Ciência e Tecnologia (SJC) da

Universidade Estadual Paulista “Júlio de

Mesquita Filho”

Jacaréi – São Paulo

<http://lattes.cnpq.br/2714256660676295>

RESUMO: Os Jabutis-Piranga (*Chelonoidis carbonaria*), espécie mais comumente vista nas matas brasileiras, têm sido frequentemente acometidos por doenças ósseas e obstrutivas derivadas da má alimentação e da falta de acompanhamento veterinário regularmente. Tratando-se de uma classe de animais ovíparos, os répteis demandam uma dieta rica em nutrientes, que seja capaz de suprir as possíveis disfunções de seu organismo. Este trabalho é o relato de um caso clínico tratado em novembro de 2019, com má formação de ovos e obstrução do sistema reprodutor do animal, a fim de criar uma maior consciência acerca do problema e

das formas de prevenção deste.

PALAVRAS - CHAVE: Répteis, dieta, distocia, tartaruga, cálcio.

THE USE OF PREBIOTIC FIBERS TO PREVENT OBSTRUCTIVE ILLNESS ON JABUTI-PIRANGA (CHELONOIDIS CARBONARIA) – CASE REPORT

ABSTRACT: The Jabuti-Piranga (*Chelonoidis carbonaria*), the most commonly seen species in the Brazilian forests, have been frequently affected by bone and obstructive diseases due to bad eating habits and lack of regular veterinarian follow-ups. Dealing with a class of oviparous animals, the reptiles demand a nutrient-rich diet, that is capable of supplying all the possible dysfunctions of your organism. This production is a case report of a clinical case treated in November of 2019, with incomplete egg formation and obstruction of the animal's reproductive system, to create more awareness about this problem and its preventions.

KEYWORDS: Reptiles, diet, dystocia, turtles, calcium.

1 | INTRODUÇÃO

Reptília, do latim rastejantes, representa uma das principais classes de vertebrados tetrápodes e ectodérmicos do mundo que engloba cobras, serpentes, jacarés, crocodilos, cágados, jabutis, entre outros. Por serem os primeiros animais a conquistarem o ambiente terrestre demonstram uma grande capacidade adaptativa em relação às demais classes,

possuindo uma pele queratinizada, sem a presença de glândulas e revestidas por placas ósseas, o que reduz a perda de água através da superfície cutânea e impede um processo de ressecamento agressivo.

Porém, mesmo se tratando de animais altamente resistentes, os répteis domésticos devem seguir uma alimentação balanceada que supra quaisquer problemas nutricionais possíveis. No caso dos jabuti-piranga, por exemplo, a oferta de alimentos deve ser de 70% de verduras, como folhas verde escuras, 15% de legumes, 10% de frutas e 5% de cálcio, outros minerais e proteínas. Mas esta dieta nem sempre é respeitada pelos tutores, afetando a saúde do animal e causando disfunções passíveis de óbito.

2 | RELATO DE CASO

Estudos apontam que a ingestão de oligossacarídeos, um exemplo de fibras prebióticas, pode causar uma melhor absorção de cálcio no organismo humano (PARK, 2011), algo possível de se aplicar em uma dieta apropriada a seres dessa classe, como o *Chelonoidis carbonaria*, cuja alimentação deve ser constituída, em sua maioria, por fibras. Em novembro de 2019, uma mulher deu entrada em sua tartaruga em uma clínica veterinária particular, na cidade de Jacareí, a fim de realizar exames de rotina. O resultado do hemograma, porém, apresentou um grave desequilíbrio nutricional e uma taxa de cálcio mais baixa que o usual. Realizou-se, então, uma ultrassonografia que pôde identificar cerca de cinco ovos, sendo três completamente formados e dois parcialmente desenvolvidos. Em alguns casos, essa distocia, se obstrutiva, pode implicar em diversas complicações e poderá acarretar no óbito do animal (FERREIRA, 2012).

3 | O TRATAMENTO

Por não se tratar de um caso com extrema gravidade, o tratamento para expulsão dos ovos se iniciou com doses de cálcio e ocitocina injetadas semanalmente, a fim de estimular o animal a botar, e com o uso de alimentos fibrosos, como tomate, chicória e aspargos, com finalidade de aumentar o consumo de fibras e o equilíbrio do organismo. A espécie foi mantida em observação constante por um período de um mês, sendo avaliada nutricionalmente através de hemogramas e análises físicas, como ductibilidade do casco e qualidade da pele. Após esse período, a tutora foi instruída a manter a dieta indicada anteriormente por um determinado período, retornar para realização de mais exames e identificar os possíveis efeitos dessa alimentação. Surpreendentemente o animal se encontrava mais saudável, com consistência fecal adequada, níveis de nutrientes equilibrados e sem maiores problemas em seus tratos reprodutivo e excretor, pois a absorção de cálcio estava dentro dos conformes sem a necessidade de suplementação complementar.

4 | CONCLUSÃO

Portanto, baseando-se nos resultados obtidos através deste caso clínico, pode-se compreender a importância do acompanhamento veterinário regular na rotina dos animais domésticos a fim de manter hábitos saudáveis em prol da saúde deste. Compreende-se também que a adoção de fibras prebióticas na alimentação de quelônios é uma forma eficaz de prevenir futuras que enfermidades, como a distocia obstrutiva, acometam aquele animal e o leve a óbito prematuro.

REFERÊNCIAS

BRITO, Alice Dantas. Répteis - **Primeiros vertebrados a conquistar o ambiente terrestre** – Disponível em: <https://educacao.uol.com.br/disciplinas/ciencias/repteis-primeiros-vertebrados-a-conquistar-o-ambiente-terrestre.htm>. Acesso em: 15 de maio. 2021.

FERREIRA, Alessandro Silva. **Obstrução esofágica em muar – relato de caso**. Cruz das Almas – BA, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2019 (Trabalho de Conclusão de Curso). Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Paula Cardoso Peixoto.

O que jabuti come? Disponível em: <https://www.eusemfronteiras.com.br/o-que-jabuti-come/>. Acesso em: 15 de maio. 2021.

Park, Clara, and Connie Weaver. “**Calcium and bone health: influence of prebiotics.**” *Functional Food Reviews* 3.2 (2011): 62-72.

AVALIAÇÃO DA GESTÃO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS E SOLUÇÕES PARA A SUA DESTINAÇÃO EM ZOOLOGICOS: REVISÃO DE LITERATURA

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 14/05/2021

Brandow Willy Souza

Universidade Paulista – UNIP

<http://lattes.cnpq.br/2225440313625575>

Renan Henrique Cardoso

Universidade Paulista – UNIP

<http://lattes.cnpq.br/0051857326492729>

Pâmela Beatriz do Rosário Estevam dos Santos

Universidade Paulista – UNIP

<http://lattes.cnpq.br/2714256660676295>

RESUMO: A proposta inicial de instituições como os zoológicos consistia em expor espécies de animais à sociedade, entretanto, nos dias atuais eles desempenham vários papéis criticamente importantes com relação à pesquisa e preservação. É de extrema importância levar em consideração a geração dos resíduos sólidos nesses ambientes, assim como a necessidade de novas soluções para a destinação desses resíduos visando a diminuição de impactos ambientais. O uso da compostagem e do biodigestor seriam boas alternativas que contribuiriam positivamente para um sistema autossustentável. Dessa forma, a presente pesquisa utilizará a revisão bibliográfica de forma a investigar sobre os zoológicos, sua produção de resíduos sólidos, e a identificação da possibilidade de utilizar medidas como a compostagem e os biodigestores. Os resultados

consistem na identificação dos impactos gerados pela produção de resíduos sólidos em zoológicos, assim como em formas de implantar a sustentabilidade com medidas práticas aplicáveis à realidade atual de zoológicos em todo o mundo.

PALAVRAS - CHAVE: Indicadores de Desenvolvimento Sustentável, Resíduos Sólidos, Compostagem, Animais de Zoológico.

EVALUATION OF SOLID WASTE MANAGEMENT AND SOLUTIONS FOR ITS DISPOSAL IN ZOOS: LITERATURE REVIEW

ABSTRACT: The initial proposal of institutions like zoos was to expose animals species to society, however, nowadays they play several critical roles in research and preservation. It is extremely important to consider the generation of solid waste in these environments, as well as the need for new solutions for the disposal of this waste in order to reduce environmental impacts. The use of compost and biodigester would be good alternatives that would contribute positively to a self-sustainable system. Thus, this research will use the bibliographic review to investigate zoos, their production of solid waste, and the identification of the possibility of using alternatives such as composting and biodigesters. The results consist in the identification of the impacts generated by the production of solid waste in zoos, as well as in ways to implement sustainability with practical measures applicable to the current reality of zoos worldwide.

KEYWORDS: Sustainable Development Indicators, Solid Waste, Composting, Zoo Animals.

1 | INTRODUÇÃO

Antes da urbanização, os ecossistemas do mundo ainda eram capazes de absorver os danos ecológicos promovidos pela extensa industrialização e desenvolvimento do ser humano, no entanto, com o aumento rápido e contínuo da população mundial, assim como da industrialização, cada vez mais é observado que a Terra não suporta as alterações drásticas do meio ambiente promovida pelas ações antrópicas (Mirsa, 2000; Goosen, 2012).

Para a categorização dos impactos ambientais por meio de indicadores de sustentabilidade, estes impactos são avaliados como positivos ou negativos de acordo com as ações humanas (Little & Hester & Carey, 2016), que podem proporcionar diversos impactos no mundo, como chuva ácida, derretimento do gelo glacial, evaporação em larga escala nos trópicos e aumento da nebulosidade em maiores altitudes (Goosen, 2012). Como observado nos estudos citados, ocorre uma maior demanda por medidas sustentáveis como forma de solução gerando menos impactos ambientais, sem causar danos a ecossistemas saudáveis.

Por volta dos anos 2000, o desenvolvimento sustentável passou a ser considerado como o modelo a ser seguido por muitas organizações e seus stakeholders (Goosen, 2012), sua definição, de acordo com o Relatório Brundtland *et al.* (1987), é “desenvolvimento que satisfaz as necessidades do presente sem comprometer a capacidade das gerações futuras de satisfazerem as suas próprias necessidades”. No relatório destacam-se três componentes fundamentais do desenvolvimento sustentável: igualdade social, proteção ambiental e crescimento econômico, sendo responsáveis pela representação dos três pilares da sustentabilidade e que estão intimamente relacionados (Little & Hester & Carey, 2016).

Dessa forma, Daly (1990) propôs três regras operacionais: recursos renováveis, como peixes, solo e águas subterrâneas, devem ser usados não mais rapidamente do que a taxa em que se regeneram; recursos não renováveis, como minerais e combustíveis fósseis, não devem ser utilizados mais rapidamente do que os substitutos renováveis; e a poluição e os resíduos não devem ser emitidos tão rapidamente quanto os sistemas naturais podem absorvê-los, reciclá-los ou torná-los inofensivos.

Com relação ao desenvolvimento sustentável em aquários e zoológicos, a WZACS (World Zoo and Aquarium Conservation Strategy) estimula-os a serem mais sustentáveis, sendo um exemplo de como a sustentabilidade em zoológicos pode ser promovida, e indicando também quais as atitudes e comportamentos sociais podem ser alterados, e como carecem de uma estratégia de conservação integrada por meio do uso racional dos recursos, com isso permite atingir o benefício sustentável no máximo para a conservação das espécies ameaçadas, dos seus habitats e dos seres humanos (Penning *et al.*, 2009).

Por a sustentabilidade ser um assunto relativamente novo, ainda mais em zoológicos, a falta de divulgação e das práticas ainda estarem em desenvolvimento

apresenta dificuldades no quesito de sua implantação. Por isso é de extrema importância a divulgação além de novas soluções eficientes para a promoção da sustentabilidade, como por exemplo, a WZACS tem feito nesses anos todos.

Assim, o presente artigo retrata uma revisão bibliográfica no intuito de coletar dados a fim de sanar problemas da gestão dos resíduos relacionados aos zoológicos, além da estimulação de métodos sustentáveis nos zoológicos. A partir disso, segue o raciocínio do funcionamento dos resíduos sólidos nos zoológicos e as possíveis soluções para a sua destinação minimizando os danos ao meio ambiente e assegurar a sustentabilidade desses ambientes, tornando-os locais exemplares para a Educação Ambiental de pessoas com todas as idades.

2 | SUSTENTABILIDADE EM ZOOLOGICOS

Inicialmente, os zoológicos e aquários apresentavam o propósito de exposição das espécies à sociedade, porém essas instituições têm evoluído de serem simplesmente atrações exóticas, para priorizar a pesquisa, educação e conservação de forma que agora há o desempenho de várias funções estritamente importantes, como apoiar iniciativas globais de conservação e também servir como pontes por meio das quais a sociedade tem papel fundamental na proteção ativa das populações selvagens, sendo a educação ambiental um grande exemplo (Barongi & Fiskén & Parker, 2015).

Como consequência disso, necessita-se de planos sustentáveis como suporte para os esforços da conservação em campo, enquanto facilitam em conjunto com a mudança de comportamento em prol do ambiente, sendo um exemplo, a promoção e exemplificação de práticas sustentáveis na questão do manejo das populações de espécies, as estruturas e o meio ambiente (Barongi & Fiskén & Parker, 2015). Como exemplares de práticas sustentáveis é possível citar que nove zoológicos já possuem a ISO 14.001, dentre eles o Chester Zoo e o Paigton Zoo (Reino Unido) e a rede de Zoos Victoria (Austrália) sendo instituições que promovem a utilização de telhados verdes, aproveitamento de águas pluviais, sistemas de reciclagem e compostagem e diminuem o consumo de materiais (Augusto & Nassar, 2018). A certificação do Sistema de Gestão Ambiental da Fundação Parque Zoológico de São Paulo por meio da ISO 14001 é a única da América Latina e no mundo há apenas dez instituições do gênero (Miura, 2007).

Os zoológicos e aquários, por receberem um público visitante, possuem a oportunidade de conscientizar esse público por conta de sua prática de ações sustentáveis que podem ser repetidas no dia-a-dia, sendo um bom exemplo a segregação correta do lixo, que é uma maneira de sensibilizar as pessoas na questão do tratamento dispensado aos resíduos sólidos produzidos (Abreu, 2009; Barongi & Fiskén & Parker, 2015).

A operação de um zoológico de grande porte apresenta diversos desafios, um dos mais relevantes é a gestão de resíduos sólidos que inclui: estrume, dejetos, carcaças

de animais, restos alimentares; tratamento e destino de efluentes; resíduos gerados nos cuidados veterinários e com os visitantes e colaboradores (alimentação, sanitários, lavatórios, plásticos, vidros, metais, papéis, restos alimentares), de maneira a atender os conceitos da conservação ambiental, e manter as condições de conforto e bem estar dos animais, visitantes e colaboradores (Cubas & Silva & Catão-Dias, 2006).

Com o aumento da urbanização, os impactos ambientais são ampliados à medida que a população aumenta e a coleta, o processamento e o descarte inadequado de resíduos sólidos eventualmente levam a impactos adversos, como por exemplo, a contaminação das águas subterrâneas assim como as águas superficiais por lixiviados, a poluição do ar pela queima dos resíduos, o favorecimento de reprodução dos vetores que podem transmitir doenças pelo contato com o ar e com a água (Hoornweg & Bhada-Tata, 2012; Reinhart & Bolyard & Berge, 2016). Com isso, é de extrema importância levar em consideração a composição dos resíduos, as taxas de sua geração e a coleta que parte desde o ponto de produção até o ponto de disposição (Hoornweg & Bhada-Tata, 2012).

A Agenda Ambiental na Administração Pública (A3P) demonstra a triagem dos resíduos: resíduos líquidos são rejeitos industriais, águas utilizadas e chorumes; resíduos sólidos que inclui resíduos orgânicos tratando-se de restos alimentares, galhos e folhas, papel higiênico e os resíduos inorgânicos tratando-se dos plásticos, papéis, vidros e metais; resíduos secos são os de “longa vida”; resíduos úmidos são os restos de alimentos, cascas de frutas e podas de jardim; outros resíduos são todos aqueles que não se enquadram nas outras classificações (Abreu, 2009). Com a triagem realizada adequadamente, promove-se um recolhimento permitindo que materiais selecionados antecipadamente possam ser recuperados, separados e recebam uma destinação correta com a reutilização, a reciclagem, a compostagem ou o aterro sanitário, por isso é muito importante que, os aquários e zoológicos, por exemplo, definam e adotem mecanismos para a destinação adequada dos resíduos gerados, aproveitando para promover o uso do conceito dos 5R’s: Repensar, Recusar, Reduzir, Reutilizar e Reciclar (Abreu, 2009).

Assim, a implementação de uma coleta seletiva, envolvendo o processo de seleção do lixo, segregação e coleta, devem prever a separação dos materiais, evitando o surgimento dos possíveis danos ambientais (Abreu, 2009).

Um dos principais impactos ambientais está relacionado com o transporte de resíduos não recicláveis ao aterro, sendo os veículos da coleta de lixo alguns dos grandes responsáveis pelo consumo de combustíveis fósseis e emissões de gases de efeito estufa (Hoornweg & Bhada-Tata, 2012). Os próprios aterros sanitários, utilizados como um coletor final de resíduos pela a maioria dos zoológicos contribuem para o aumento de riscos ambientais além da saúde das pessoas devido à presença de componentes como o nitrogênio amoniacal, metais dissolvidos, matéria orgânica recalcitrante e gases tóxicos (Favoino *et al.*, 2013; ; Reinhart & Bolyard & Berge, 2016). Como alternativa, é utilizada a incineração como forma de eliminação desses resíduos, no entanto, essa prática

contribuiu para a poluição do ar e os produtos gerados, as cinzas, apresentam um problema no seu descarte, além de que o alto teor de água presente nos resíduos que reduz a eficiência da combustão e a recuperação de energia, sendo vista como uma alternativa não correspondente (Favoino *et al.*, 2013; Hoornweg & Bhada-Tata, 2012; Reinhart & Bolyard & Berge, 2016).

3 I SOLUÇÕES PARA A DESTINAÇÃO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS

Por conta desses processos, ocorre uma necessidade de novas soluções para a destinação dos resíduos visando na diminuição de impactos ambientais e na promoção de medidas sustentáveis nos zoológicos (Barongi & Fiskén & Parker, 2015), sendo boas alternativas a compostagem e o biodigestor funcionando integrados, que podem contribuir positivamente para a economia do uso de combustíveis fósseis, reduzindo a quantidade de emissão de gases e também a fim de aproveitar os benefícios da devolução de matéria orgânica ao solo criando um sistema autossustentável (Favoino *et al.*, 2013; Cecchi & Cavinato, 2019).

3.1 Compostagem

A compostagem é chamada de “reciclagem dos resíduos orgânicos”: é uma técnica que permite a transformação de restos orgânicos em adubo (Compostagem, 2017). É definida como um processo aeróbico, bioquímico e microbiano que provoca a hidrólise do material orgânico em húmus (Wei *et al.*, 2014), sendo exemplo de um processo que produz fertilizantes ricos em nutrientes, que podem ser utilizados em um sistema sustentável, e impedindo a produção e emissão do gás metano (Douglas *et al.*, 2017).

Como observado na figura 1, os microrganismos realizam a decomposição da matéria orgânica utilizando como substrato o carbono e o nitrogênio que fornecem energia junto com o oxigênio e água, garantindo a produção de água, dióxido de carbono, calor e adubo orgânico, ocorrendo também um aumento gradativo de temperatura que auxilia na eliminação de patógenos, tornando o composto gerado mais seguro durante o seu manejo e uso (Douglas *et al.*, 2017; Rastogi & Nandal & Khosla, 2020).

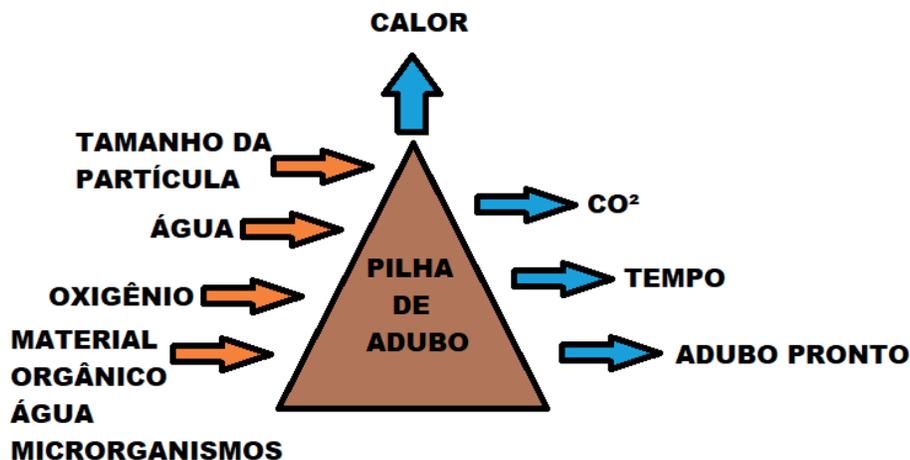


Figura 1 – Componentes do processo de compostagem.

Fonte: Adaptado de Rastogi & Nandal & Khosla, 2020.

O processo de compostagem é separado em fases: a fase inicial (também chamada de mesofílica) é aquela em que a degradação de compostos simples como açúcares e aminoácidos é realizada por bactérias e fungos mesofílicos, em que há um aumento rápido da temperatura; a segunda fase (fase termofílica) é a constituída pela ação dos microrganismos termofílicos que degradam matéria orgânica (como gorduras, celulose, hemicelulose e lignina) e, durante esta fase, o conteúdo de carbono orgânico diminui na matéria-prima por conta das atividades metabólicas de microrganismos tolerantes ao calor; e por fim, a fase de resfriamento é caracterizada por uma atividade microbiana reduzida assim como a temperatura, seguida por um declínio na taxa de degradação da matéria orgânica e um aumento na taxa de humificação dos compostos orgânicos (Rastogi & Nandal & Khosla, 2020).

Por meio dessas etapas, pode ser observado que a compostagem é uma forma de recuperar os nutrientes dos resíduos orgânicos gerados e retorná-los ao ciclo natural, como por exemplo, a um sistema sustentável, sendo que todo esse processo é uma alternativa para redução do volume de lixo produzido em zoológicos, destinando corretamente um resíduo que se acumularia nos aterros e lixões (e que gera odores, a liberação de gases do efeito estufa e a produção de um líquido altamente contaminável) que poderia prejudicar a saúde e o ambiente (Compostagem, 2017).

3.2 Biodigestão

Outra alternativa considerada foi o uso de biodigestor, uma tecnologia sustentável, cujo benefício é a eliminação dos dejetos presentes de modo inadequado no meio ambiente, de forma a diminuir a contaminação da água, do solo e do ar, evitando também o contato humano e a proliferação de pragas e doenças, além das vantagens de gerar

energia renovável (biogás), e biofertilizantes (Silva *et al.*, 2018).

Como exemplo de estrutura de biodigestor é possível citar um modelo indiano descrito na literatura em que a constituição é feita por três partes: a caixa de carga, onde são colocados os dejetos e água; o tanque de placas, que consiste em uma câmara onde ocorre o processo de biodigestão anaeróbica e a caixa de descarga que é o recipiente que recebe os resíduos do processo de fermentação, denominados biofertilizantes, que podem ser aplicados para a produção orgânica de alimentos (Silva *et al.*, 2018).

A biodigestão é um processo metabólico complexo que requer condições favoráveis e é dependente da atividade microbiana em associação para a transformação do material orgânico em dióxido de carbono e metano: o seu processo converte substratos orgânicos em biogás e digere por meio de quatro etapas principais: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (Ariunbaatar *et al.*, 2017; Kunz & Steinmetz & Amaral, 2019; Sharma *et al.*, 2020).

De maneira mais detalhada, na fase de hidrólise as bactérias hidrolíticas degradam os polímeros em monômeros e solúveis; na fase acidogênese as bactérias anaeróbicas e facultativas degradam os monômeros em ácidos orgânicos de cadeia curta, resultando na formação de acetato, amônia, dióxido de carbono e sulfeto de hidrogênio; na fase de acetogênese as bactérias acetogênicas possuem relação de simbiose com outras bactérias, fazendo com que os ácidos de cadeia longa sejam transformados em ácidos com apenas um ou dois átomos de carbono; e na fase final, a metanogênese, que ocorre em condições estritamente anaeróbicas, o carbono contido na biomassa é convertido a dióxido de carbono e metano por meio da ação das arqueas metanogênicas, como demonstrado na figura 2 (Kunz & Steinmetz & Amaral, 2019).

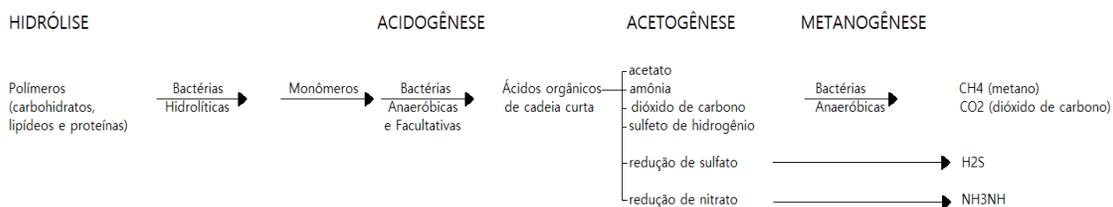


Figura 2 – Processos de hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese.

Fonte: Adaptado de Deublein e Steinhauser, 2011.

Portanto, o biodigestor é responsável pela recuperação de energia por meio do metano, e por outro produto gerado de grande relevância: o biofertilizante, que pode ser utilizado em produção orgânica (Sharma *et al.*, 2020). Todo esse sistema oferece proteção ambiental sendo considerado como uma alternativa econômica e sustentável a partir da

gestão adequada de resíduos sólidos gerados em zoológicos (Ariunbaatar *et al.*, 2017).

Considerando as informações estudadas, é possível observar que há grande necessidade de práticas sustentáveis com relação à gestão dos resíduos sólidos em zoológicos, destacando-se a integração de compostagem com biodigestor que fornecem produtos para um sistema de produção orgânica de alimentos, podendo ser usados para fornecer alimentos para os animais existentes (Sharma *et al.*, 2020; Compostagem, 2017).

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio da revisão bibliográfica realizou um panorama da gestão dos resíduos nos zoológicos, abrangendo as técnicas utilizadas, estruturação e possíveis alternativas para a solução dos problemas apresentados.

Cada vez mais os zoológicos vêm apresentando diferentes utilidades além da conservação dos animais, como da conscientização da população ao local e a promoção de medidas sustentáveis. Podemos observar por meio de constantes divulgações, como matérias ou revistas, práticas “verdes” em zoológicos no mundo todo, sendo bons exemplos o Zoológico de São Paulo e Woodland Park que apresentam dados do antes e depois da implementação da sustentabilidade fortalecendo o movimento.

Portanto, o artigo compromete a uma reavaliação das práticas adotadas nos zoológicos por meio dos dados coletados do benefício da sustentabilidade com base nos zoológicos que já adotaram essas medidas.

REFERÊNCIAS

ABREU, G. V. Agenda Ambiental na Administração Pública. 5. ed. Brasília: Ministério do Meio Ambiente – MMA, 2009. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/a3p>.

ARIUNBAATAR, J. *et. al.* Bioaugmentation of the anaerobic digestion of food waste by dung of herbivore, carnivore, and omnivore zoo animals. *Environmental Technology*, v. 39, n. 4, p. 516-526, 27 mar. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1305002>.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO 14001: Sistema de gestão ambiental – requisitos com orientações para uso. Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <http://www.abnt.org.br/>.

AUGUSTO, A. M.; NASSAR, C. A. G. Panorama da Gestão dos Resíduos Sólidos nos Zoológicos do Brasil. *Revista Gestão & Gerenciamento na Engenharia Ambiental e Urbana*, Rio de Janeiro, v. 10, n.10, p. 27-36, 21 dez. 2018. Disponível em: <https://nppg.org.br/revistas/gestaoegerenciamento>.

BARONGI, R.; FISKEN, F. A.; PARKER, M.; GUSSET, M. *Committing to Conservation: The World Zoo and Aquarium Conservation Strategy*. Suíça: World Association of Zoos and Aquariums (WAZA), 2015. Disponível em: <https://www.waza.org/>.

BRUNDTLAND, G. H. et al. Our Common Future: The World Commission on Environment and Development. 1. ed. Estados Unidos: Oxford University Press, 1987. CECCHI, F.; CAVINATO, C. Smart Approaches to Food Waste Final Disposal. International Journal of Environmental Research and Public Health, Itália, v. 16, n. 16, 10 ago. 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-4601/16/16/2860>.

Compostagem. Site Ministério do Meio Ambiente, 2017. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/informma/item/7594-compostagem>.

CUBAS, Z.S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014. DALY, H. E. Toward some operational principles of sustainable development. Ecological Economics, Washington DC, v.2, n. 1, p. 1-6, abr. 1990. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/092180099090010R>.

DOUGLAS, P. et al. Use of dispersion modelling for Environmental Impact Assessment of biological air pollution from composting: Progress, problems and prospects. Waste Management, Reino Unido, v. 70, p. 22-29, dez. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956053X17305950>.

FAVOINO, E. et al. Food Waste as A Global Issue. Áustria: the International Solid Waste Association (ISWA), 2013. Disponível em: <https://www.iswa.org>.

GOOSEN, M. F. A. Environmental management and sustainable development. Procedia Engineering, Riade, v. 33, p. 6-13, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877705812012027>.

HOORNWEG, D.; BHADA-TATA, P. What a Waste: A Global Review of Solid Waste Management. Washington: The World Bank, 2012. Disponível em: <https://www.worldbank.org/urban>.

KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, A. C. FUNDAMENTOS DA DIGESTÃO ANAERÓBIA, PURIFICAÇÃO DO BIOGÁS, USO E TRATAMENTO DO DIGESTATO. 1. ed. Concórdia-SC: BNDES, 2019.

LITTLE, J. C.; HESTER, E. T.; CAREY, C. C. Assessing and Enhancing Environmental Sustainability: A Conceptual Review. Environmental Science & Technology, v. 50, n. 13, p.6830-6845, 22 jun. 2016. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.6b00298>.

MIRSA, B. New Economic Policy and Economic Development. IASSI Quarterly, n.18, v. 4, p. 20, 2000. Disponível em: <http://iassi.org/index.html>.

MIURA, N. ZOOLOGICO DE SÃO PAULO É O 10º NO MUNDO A OBTER A CERTIFICAÇÃO E O ÚNICO NA AMÉRICA LATINA. Secretaria de Infraestrutura e Meio Ambiente, 2007. Disponível em: <https://www.infrastrukturameioambiente.sp.gov.br/noticias/2007/04/zoologico-desao-paulo-e-o-10º-no-mundo-a-obter-a-certificacao-e-o-unico-na-america-latina/>.

PENNING, M. et al. Turning the Tide: A Global Aquarium Strategy for Conservation and Sustainability. Suíça: World Association of Zoos and Aquariums (WAZA), 2009. Disponível em: <https://www.waza.org/>.

RASTOGI, M.; NANDAL, M.; KHOSLA, B. Microbes as vital additives for solid waste composting. Heliyon, Índia, v. 6, n. 2, p. 1-11, fev. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844020301882>.

REINHART, D.; BOLYARD, S. C.; BERGE, N. Grand Challenges – Management of Municipal Solid Waste. *Waste Management*, v. 49, p. 1-2, mar. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26949031/>.

SHARMA, P. et al. Microbial strategies for bio-transforming food waste into resources. *Bioresource Technology*, Índia, v. 299, mar. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852419318103>.

SILVA, M. J. et al. Extensão rural e tecnologia sustentável: utilização de biodigestor na agricultura familiar. *Diversitas Journal*, v. 3, n. 3, p. 867-876, set. 2018. Disponível em: https://periodicos.ifal.edu.br/diversitas_journal/article/view/687.

WEI, L. et al. Biochar influences the microbial community structure during tomato stalk composting with chicken manure. *Bioresource Technology*, v. 154, p. 148- 154, fev. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852413018397>.

AVALIAÇÃO DA FITOTOXICIDADE DE NANOTUBOS DE CARBONO EM *LACTUCA SATIVA*

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 14/05/2021

Juliana Tatiara da Costa Siqueira

Departamento de Biologia, Universidade
Federal de Juiz de Fora
Juiz de Fora - Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/7607512426429380>

Aryane Campos Reis

Departamento de Biologia, Universidade
Federal de Juiz de Fora
Juiz de Fora - Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/7130316406868595>

Rhaisa Bernardes Silva Dias

Departamento de Biologia, Universidade
Federal de Juiz de Fora
Juiz de Fora - Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/0305894862603149>

Humberto de Mello Brandão

Laboratório de Nanotecnologia, Empresa
Brasileira de Pesquisa Agropecuária
(EMBRAPA)
Juiz de Fora – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/4646271838089206>

Michele Munk Pereira

Departamento de Biologia, Universidade
Federal de Juiz de Fora
Juiz de Fora - Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/8094404295191170>

Saulo Marçal de Sousa

Departamento de Biologia, Universidade
Federal de Juiz de Fora
Juiz de Fora - Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/1072595667261078>

RESUMO: Os nanotubos de carbono (CNTs) possuem uma ampla aplicação devido suas propriedades nanoestruturais únicas. Em decorrência dessa gama de aplicações, gerando uma alta taxa de produção, a probabilidade de liberação desses nanomateriais no meio ambiente aumenta bem como as preocupações relacionadas ao seu efeito no ecossistema. Neste sentido, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial fitotóxico dos nanotubos de carbono de parede múltipla carboxilados (MWCNT-COOH) em sementes de *Lactuca sativa*. Para isso, sementes de *L. sativa* foram cultivadas em água destilada (controle negativo) ou em suspensão contendo MWCNT-COOH em cinco concentrações: 0,1; 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 µg/mL por 48 horas em estufa escura a 25 ± 2 °C. Após o tempo de exposição, foram medidos os percentuais de germinação e a comprimento das radículas para análise da taxa germinativa e do desenvolvimento radicular, respectivamente. Os dados foram analisados por ANOVA e as médias foram comparadas por Teste de Dunnett, considerando significativos valores de $p < 0,05$. Os resultados mostraram que não houve alterações significativas nos valores da taxa germinativa ($p = 0,2164$) e do desenvolvimento radicular ($p = 0,9283$) em *L. sativa* após exposição aos MWCNT-COOH. Na literatura, efeitos positivos sobre a germinação e desenvolvimento de mudas, foram relatados, particularmente, em doses mais baixas de tratamentos com MWCNT, gerando aumento das raízes e consequente otimização da absorção de nutrientes. Além disso, também foram observados efeitos negativos que resultaram na inibição do crescimento da planta

devido ao estresse oxidativo gerado pelos MWCNT em níveis mais altos de exposição. Estudos anteriores apontaram que a determinação da fitotoxicidade por parâmetros macroscópicos nem sempre é precisa, o que necessita de análises citogenotóxicas complementares para prever o potencial toxicológico desses nanomateriais. Conclui-se assim que os MWCNT-COOH não apresentaram efeitos fitotóxicos nas condições experimentais e nos parâmetros avaliados neste estudo para as células de *L. sativa*.

PALAVRAS - CHAVE: alface; nanomateriais; toxicidade; germinação; radículas

PHYTOTOXICITY EVALUATION OF CARBON NANOTUBES IN *LACTUCA SATIVA*

ABSTRACT: Carbon nanotubes (CNTs) have a wide application due to their unique nanostructural properties. As a result of this range of applications, generating a high production rate, the probability of releasing these nanomaterials into the environment increases as well as concerns related to their effect on the ecosystem. In this sense, the objective of this work was to evaluate the phytotoxic potential of multi-walled carbon nanotubes carboxylated (MWCNT-COOH) in seeds of *Lactuca sativa*. For this, *L. sativa* seeds were grown in distilled water (negative control) or in suspension containing MWCNT-COOH in five concentrations: 0.1; 1.0; 10.0; 50.0 and 100.0 $\mu\text{g/mL}$ for 48 hours in a dark oven at $25 \pm 2^\circ \text{C}$. After the exposure time, the germination percentages and root lengths were measured to analyze the germination rate and root development, respectively. The data were analyzed by ANOVA and the means were compared by Dunnett's test, considering significant values of $p < 0.05$. The results showed that there were no significant changes in the germinative rate ($p = 0.2164$) and root development ($p = 0.9283$) in *L. sativa* after exposure to MWCNT-COOH. In the literature, positive effects on germination and seedling development have been reported, particularly in lower doses of treatments with MWCNT, generating increased roots and consequent optimization of nutrient absorption. In addition, negative effects were also observed that resulted in the inhibition of plant growth due to the oxidative stress generated by MWCNT at higher levels of exposure. Previous studies have pointed out that the determination of phytotoxicity by macroscopic parameters is not always accurate, which requires complementary cytogenotoxic analyzes to predict the toxicological potential of these nanomaterials. It is concluded that the MWCNT-COOH didn't present phytotoxic effects in the experimental conditions and in the parameters evaluated in this study for *L. sativa* cells.

KEYWORDS: lettuce; nanomaterials; toxicity; germination; root.

1 | INTRODUÇÃO

A nanotecnologia consiste na manipulação e controle de materiais na escala nanométrica (SHRIVASTAVA et al., 2019). Estes nanomateriais possuem propriedades físicas e químicas peculiares que permitem um desempenho aprimorado em relação aos seus equivalentes em massa, com potencial finalidade para a geração de novos produtos, dispositivos e sistemas (JEEVANANDAM et al., 2018). Deste modo, devido ao desenvolvimento de nanomateriais que, atualmente, são alternativas para melhorar a eficiência de produtos já existentes, bem como a criação de novos em um amplo

campo de aplicação, as atividades de pesquisa na área da nanotecnologia aumentaram significativamente (DRASLER et al., 2017).

Um dos grupos com maior importância dentre os nanomateriais, apresentando uma ampla aplicação, são os nanotubos de carbono (CNTs). Os CNTs são folhas de grafeno enroladas cilíndricamente (PENG et al., 2020) e incluem nanotubos de carbono de parede única (SWCNT) e nanotubos de carbono de parede múltipla (MWCNT). Devido às suas nanoestruturas unidimensionais únicas, os CNTs apresentam propriedades ópticas e eletrônicas interessantes, distinguindo-se de outros nanomateriais à base de carbono e nanopartículas (GUPTA et al., 2018), podendo ser amplamente utilizados nas áreas de biomedicina (MOHAJERI et al., 2018), eletrônica (ZHANG et al., 2014), energia (LUO et al., 2018), fotoeletricidade (YI et al., 2018) e, também, na área agrícola (ZAYTSEVA & NEUMANN, 2016).

Em decorrência de uma gama de aplicações e de uma grande taxa de produção, as preocupações relacionadas ao potencial impacto dos CNTs nos sistemas ambientais, plantas, animais e saúde humana aumentaram, bem como as pesquisas relacionadas a essa área (PENG et al., 2020). Devido ao aumento exponencial da produção de CNTs, a probabilidade de liberação desses nanomateriais no meio ambiente aumenta, o que pode causar seu acúmulo em diferentes níveis tróficos, sendo as plantas um dos principais organismos atingidos (GHOSH et al., 2019). Estima-se que 50% dos CNTs descartados entrem no solo, resultando em uma liberação de 20 a 40 toneladas anuais até 2030 e uma concentração de 0,01 a 3 µg/kg de solo (GOTTSCHALK et al., 2013; SUN et al., 2016, 2017). Com isso, é necessário conhecer os possíveis impactos desse nanomaterial no ambiente e nas espécies vegetais. Alguns estudos relataram um efeito positivo na germinação das sementes e uma baixa toxicidade (MIRALLES et al., 2012), entretanto outros estudos mostraram uma diminuição, por exemplo, no crescimento das plantas de espinafre e pepino (BEGUM; IKHTIARI; FUGETSU, 2014), indicando efeitos adversos dos CNTs sob condições diferentes.

Dentre os organismos vegetais para testes experimentais, *Lactuca sativa* (alface) é muito relatada na literatura por sua sensibilidade em testes de toxicidade, incluindo citotoxicidade, fitotoxicidade e genotoxicidade (PINHEIRO et al., 2015; SILVEIRA et al., 2017), tornando-se eficaz neste tipo de estudo. Esta espécie é bastante pesquisada e suas características moleculares, fisiológicas e suas respostas ambientais são bem descritas e conhecidas, além de ser a hortícola mais produzida no mundo (FERREIRA, 2007; MONTEIRO et al., 2009). A espécie *L. sativa* possui um desenvolvimento rápido, sendo importante para testes de toxicidade aguda. Além disso, é um modelo de fácil acesso e de baixo custo (SILVEIRA et al., 2017).

Pelo exposto, podemos ver que, embora os possíveis efeitos dos CNTs tenham despertado considerável atenção, certos impactos destes nanomateriais nas plantas ainda estão em debate. Neste contexto, a fim de elucidar os possíveis riscos dos CNTs

nos sistemas vegetais, esse estudo tem como objetivo avaliar o potencial fitotóxico dos nanotubos de carbono de parede múltipla carboxilados (MWCNT-COOH) em *L. sativa*.

2 | METODOLOGIA

2.1 Material vegetal e condições de exposição

Para este estudo, 100 sementes de *L. sativa* foram dispostas aleatoriamente em placas de Petri de poliestireno (90x15 mm) contendo papel filtro embebidos em 6 mL de água destilada (controle negativo) ou em 6 mL da suspensão de MWCNT-COOH em cinco diferentes concentrações: 0,1; 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 µg/mL, e foram cultivadas por 48 horas na estufa a 25 ± 2°C sem fotoperíodo.

2.2 Avaliação da fitotoxicidade

Para analisar a fitotoxicidade dos MWCNT-COOH, 100 sementes de *L. sativa* foram expostas aos MWCNT-COOH. O percentual de sementes germinadas foi calculado com base na equação abaixo:

$$\% \text{ germinação} = \frac{n^{\circ} \text{ sementes germinadas}}{n^{\circ} \text{ total de sementes}} \times 100$$

O comprimento da raiz foi medido utilizando um paquímetro digital (150 mm/MTX). Foram mensuradas 30 raízes por placa. Em seguida, todas as raízes foram fixadas em fixador Carnoy I (etanol: ácido acético, 3:1 v/v) e mantidas a - 20°C para posteriores análises.

2.3 Análise estatística

O procedimento seguiu delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) com três repetições (placas de Petri) de cada concentração. Os dados da taxa germinativa e do desenvolvimento radicular foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Dunnett com valores de p<0,05 considerados significativos.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de fitotoxicidade dos MWCNT-COOH nas sementes de *L. sativa* não mostrou redução ou aumento significativo na taxa de germinação (p = 0,2164) em nenhuma das concentrações testadas (Figura 1a). Além disso, também não houve diferença significativa no desenvolvimento radicular (p = 0,9283) nestes tratamentos (Figura 1b) indicando que os MWCNT-COOH não se mostraram tóxicos para esses quesitos.

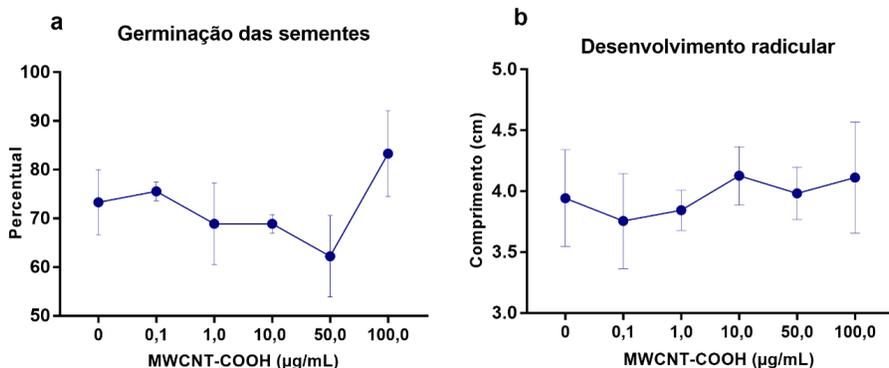


Figura 1 - Análise de fitotoxicidade do MWCNT-COOH em sementes de *L. sativa*. (a) Taxa de germinação de sementes; (b) comprimento das raízes. Dados apresentados por média \pm desvio padrão.

A fitotoxicidade é geralmente estimada pelo percentual de germinação das sementes bem como pelo seu posterior desenvolvimento radicular. Na literatura, efeitos positivos sobre a germinação e desenvolvimento de mudas, foram relatados, particularmente, em doses mais baixas de tratamentos com MWCNT, gerando aumento das raízes e consequente otimização da absorção de nutrientes (GHODAKE et al., 2010; TIWARI et al., 2014). Além disso, também foram observados efeitos negativos que resultaram na inibição do crescimento da planta devido ao estresse oxidativo gerado pelos MWCNT em níveis mais altos de exposição (BEGUM & FUGETSU, 2012). No entanto, nas condições experimentais deste estudo, os MWCNT-COOH não se mostraram fitotóxicos em nenhum tratamento.

Deste modo, é possível concluir que os MWCNT-COOH não apresentaram efeitos fitotóxicos nas condições experimentais e nos parâmetros avaliados neste estudo para as células de *L. sativa*.

REFERÊNCIAS

- BEGUM, P.; FUGETSU, B. Phytotoxicity of multi-walled carbon nanotubes on red spinach (*Amaranthus tricolor* L) and the role of ascorbic acid as an antioxidant. **Journal of Hazardous Materials**, v. 243, p. 212–222, 2012.
- BEGUM, P.; IKHTIARI, R.; FUGETSU, B. Potential Impact of Multi-Walled Carbon Nanotubes Exposure to the Seedling Stage of Selected Plant Species. **Nanomaterials**, v. 4, n. 2, p. 203–221, 2014.
- DRASLER, B. et al. In vitro approaches to assess the hazard of nanomaterials. **NanoImpact**, v. 8, n. August, p. 99–116, 2017.
- FERREIRA, A. L. N. **Exposição de Crómio em alface: acumulação e efeitos na fisiologia e genotoxicidade**. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Ecotoxicologia). Universidade de Aveiro. Aveiro, Portugal, 2007.

GHODAKE, G. et al. Phytotoxicity of carbon nanotubes assessed by brassica juncea and phaseolus mungo. **Journal of Nanoelectronics and Optoelectronics**, v. 5, n. 2, p. 157–160, 2010.

GHOSH, M. et al. Genotoxicity of engineered nanoparticles in higher plants. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 842, n. May 2018, p. 132–145, 2019.

GOTTSCHALK, F.; SUN, T.; NOWACK, B. Environmental concentrations of engineered nanomaterials: Review of modeling and analytical studies. **Environmental Pollution**, v. 181, p. 287–300, 2013.

GUPTA, S.; MURTHY, C. N.; PRABHA, C. R. Recent advances in carbon nanotube based electrochemical biosensors. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 687–703, 2018.

JEEVANANDAM, J. et al. Review on nanoparticles and nanostructured materials: History, sources, toxicity and regulations. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 9, n. 1, p. 1050–1074, 2018.

LUO, Q. et al. All-Carbon-Electrode-Based Endurable Flexible Perovskite Solar Cells. **Advanced Functional Materials**, v. 28, n. 11, p. 1–8, 2018.

MIRALLES, P. et al. Multiwalled carbon nanotubes in alfalfa and wheat: Toxicology and uptake. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 9, n. 77, p. 3514–3527, 2012.

MOHAJERI, M.; BEHNAM, B.; SAHEBKAR, A. Biomedical applications of carbon nanomaterials: Drug and gene delivery potentials. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 1, p. 298–319, 2018.

MONTEIRO, M. S. et al. Microsatellite instability in *Lactuca sativa* chronically exposed to cadmium. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 672, n. 2, p. 90–94, 2009.

PENG, Z. et al. Advances in the application, toxicity and degradation of carbon nanomaterials in environment: A review. **Environment International**, v. 134, n. August 2019, p. 105298, 2020.

PINHEIRO, P. F. et al. Phytotoxicity and Cytotoxicity of Essential Oil from Leaves of *Plectranthus amboinicus*, Carvacrol, and Thymol in Plant Bioassays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 41, p. 8981–8990, 2015.

SHRIVASTAVA, N. et al. Promises and cons of nanobiotechnology: A critical review. **Plant Archives**, v. 19, n. 1, p. 1–11, 2019.

SILVEIRA, G. L. et al. Toxic effects of environmental pollutants: Comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L. **Chemosphere**, v. 178, p. 359–367, 2017.

SUN, T. Y. et al. Dynamic Probabilistic Modeling of Environmental Emissions of Engineered Nanomaterials. **Environmental Science and Technology**, v. 50, n. 9, p. 4701–4711, 2016.

SUN, T. Y. et al. Envisioning Nano Release Dynamics in a Changing World: Using Dynamic Probabilistic Modeling to Assess Future Environmental Emissions of Engineered Nanomaterials. **Environmental Science and Technology**, v. 51, n. 5, p. 2854–2863, 2017.

TIWARI, D. K. et al. Interfacing carbon nanotubes (CNT) with plants: enhancement of growth, water and ionic nutrient uptake in maize (*Zea mays*) and implications for nanoagriculture. **Applied Nanoscience** (Switzerland), v. 4, n. 5, p. 577–591, 2014.

YI, H. et al. Selective prepared carbon nanomaterials for advanced photocatalytic application in environmental pollutant treatment and hydrogen production. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 239, n. May, p. 408–424, 2018.

ZAYTSEVA, O.; NEUMANN, G. Carbon nanomaterials: Production, impact on plant development, agricultural and environmental applications. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 3, n. 1, p. 1–26, 2016.

ZHANG, Y. et al. Flexible and stretchable lithium-ion batteries and supercapacitors based on electrically conducting carbon nanotube fiber springs. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 53, n. 52, p. 14564–14568, 2014.

OCORRÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO DE GALHAS DE INSETOS NO PARQUE DA LAGOA COMPRIDA, AQUIDAUANA-MS

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 14/05/2021

Alerrandra Ortega Nobre

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul,
Curso de Biologia.

Aquidauana - Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/6000681633854622>

Tatiane do Nascimento Lima

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul,
Laboratório de Estudos da Biodiversidade

Aquidauana – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/9261370775986062>

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi observar a ocorrência de galhas de insetos em uma área de ecótono Cerrado-Pantanal durante as estações seca e chuvosa. O estudo foi desenvolvido no Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida, Aquidauana/MS. As amostragens ocorreram durante os meses de agosto a outubro (seca) e novembro a fevereiro (chuvosa). Foram observadas galhas nas espécies vegetais *Duguetia furfuracea* (Annonaceae), *Eugenia pitanga* (Myrtaceae) e *Tabebuia chrysothrycha* (Bignoniaceae). O arbusto *D. furfuracea* apresentou um maior número de galhas na região adaxial da folha, coloração verde, forma globóide, sem pubescência. Seus lóculos variaram de duas a sete câmaras, e de um a 14 orifícios de saída. Nessa espécie foi encontrado um total de cinquenta e dois insetos distribuídos entre as ordens Hymenoptera,

Diptera e Hemiptera, sendo a mais abundante pertencendo a família Cynipidae. Nas árvores *T. chrysothrycha* ocorreram mais galhas na região abaxial, em formato de cone, coloração verde e presença de pubescências. Seus lóculos foram de uma câmara por inseto e um orifício de saída. Apresentaram trinta e três insetos distribuídos entre as ordens Hymenoptera e Hemiptera, sendo a mais abundante pertencente a família Pteromalidae. O arbusto *E. pitanga* apresentou apenas galhas na região adaxial da folha e coloração vermelha. Seus lóculos apresentaram uma câmara por inseto e um orifício de saída. Nesse arbusto foi observado dezoito insetos em fase larval pertencentes a ordem Diptera. A abundância de insetos galhadores foi maior durante a estação chuvosa. Para cada espécie vegetal ocorreu uma única morfologia de galha, com variações nas espécies de inseto, o que contribui com a possível ocorrência de hiperparasitoides entre os insetos parasitoides encontrados.

PALAVRAS - CHAVE: Hospedeiro. Parasita. Sazonalidade. Vespas.

OCCURRENCE AND CHARACTERIZATION OF INSECT GALLS IN PARQUE DA LAGOA COMPRIDA, AQUIDAUANA/MS

ABSTRACT: The aim of this study was to observe the occurrence of galling insects in ecotone area Cerrado-Pantanal area during the dry and rainy seasons. The study was developed in the Lagoa Comprida Municipal Natural Park, Aquidauana / MS. Sampling occurs from August to October (dry) and November to February (rainy). Galls were

observed in the plant species *Duguetia furfuracea* (Annonaceae), *Eugenia pitanga* (Myrtaceae) and *Tabebuia chrysothrycha* (Bignoniaceae). *D. furfuracea* shrub shows a larger number of galls in the adaxial region of the leaf, green color, globoid shape, without pubescence. Their locules ranged from two to seven chambers and one to 14 exit holes. In this species was found 52 insects distributed among the orders Hymenoptera, Diptera and Hemiptera, the most abundant belonging to the family Cynipidae. *T. chrysothrycha* occurs in more than one abaxial, cone-shaped region, in green and in the presence of pubescences. His glasses were from a camera inside and through an exit hole. It presented 33 insects distributed among the orders of Hymenoptera and Hemiptera, being the most abundant belonging to the family Pteromalidae. *E. pitanga* shrub presented only galls in the adaxial region of the leaf and red in color. His glasses concealed a camera inside and through an exit hole. In this case, 10 larval insects belonging to the order Diptera were observed. Through this study, you can see that the number of galls was higher during the rainy season. For each plant species, there was a single gall morphology, with variations in insect species, which contributes to the possible occurrence of hyperparasitoids among galling insects found.

KEYWORDS: Host. Parasite. Seasonality. Wasps.

1 | INTRODUÇÃO

Galhas são transformações atípicas dos tecidos vegetais, hipertrofia e/ou hiperplasia (GONÇALVES – ALVIM; FERNANDES, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2006). Podem ser induzidas por vários organismos, tais como vírus, bactéria, fungos, nematóides, ácaros e principalmente por insetos, as quais são conhecidas como galhas entomógenas (FERNANDES; PRICE, 1988). E, embora essas galhas possam ocorrer em diversas partes da planta, elas são mais comuns nas folhas e ramos (MAIA; FERNANDES, 2004). As galhas estão distribuídas na maior parte do globo, sendo estimada a existência de cerca de 133.000 mil espécies de insetos galhadores no mundo (FERNANDES; PRICE, 1992; ESPÍRITO-SANTO; FERNANDES, 2007). Estudos têm demonstrado que os insetos galhadores apresentam maior riqueza em latitudes intermediárias, em habitats quentes e com vegetação esclerófila como é observado em áreas do Cerrado no Brasil (PRICE *et al.*, 1986; SILVA *et al.*, 1996).

O bioma Cerrado é caracterizado por apresentar duas estações definidas, uma seca (maio-outubro) e outra chuvosa (novembro-abril). Alterações no clima e na paisagem podem interferir na abundância e na sazonalidade dos insetos diretamente, por alterar as características de temperatura e umidade (ARAÚJO; SANTOS, 2009). E, indiretamente, devido ao fato das alterações entre os períodos seco e chuvoso exercerem forte influência na fisiologia e fenologia das plantas, determinando os períodos de crescimento vegetativo, florescimento e frutificação. Fatores esses que aumentam os recursos alimentares para diversas espécies de insetos (KASENENE; ROININEN, 1999; OLIVEIRA; FRIZZAS, 2008).

O município de Aquidauana/MS, foco deste estudo, está localizado em uma área de transição entre os biomas Cerrado e Pantanal (área de ecótono). Embora seja citada a

relação entre as galhas e as áreas de Cerrado, a maior parte dos trabalhos está concentrada em áreas de Cerrado da região sudeste do Brasil (MAIA, 2013; COELHO *et al.*, 2009). De maneira que, não há informações sobre a ocorrência de galhas em áreas de ecótono entre os biomas Cerrado-Pantanal (JULIÃO *et al.*, 2002).

Avaliar a ocorrência e a caracterização das galhas colabora para o entendimento das interações entre as plantas (hospedeiras) e as galhas (parasitos), o que figura como uma ferramenta extremamente útil para compreender os papéis ecológicos desempenhados por cada espécie. O entendimento dessas relações permite compreender aspectos relacionados a estabilidade e a vulnerabilidade das comunidades, por meio do entendimento do papel que cada espécie desempenha na interação.

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi verificar a ocorrência e caracterização de galhas entomógenas nas estações seca e chuvosa em uma área de ecótono, entre os biomas Cerrado-Pantanal, Aquidauana, Mato Grosso do Sul. Sendo os objetivos específicos: 1) observar as características das plantas hospedeiras; 2) o morfotipo de galha; 3) a riqueza de insetos galhadores; e 4) a abundância de galhas nas estações seca e chuvosa.

2 | MATERIAL E MÉTODO

O estudo foi realizado no Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida (PNMLC) (20°27'44"S, 55°46'26"O), localizado no município de Aquidauana na região Centro-Oeste do Brasil, na porção oeste do Mato Grosso do Sul. A área está na transição entre o Planalto de Maracajú-Campo Grande e a Planície Pantaneira, área de ecótono entre os biomas Cerrado e Pantanal. O clima da região, segundo a classificação descrita por Köppen-Geiger é do tipo Aw (Tropical de Savana) com precipitação média anual de 1200 mm e temperaturas médias de 26,2 °C, com inverno seco e verão chuvoso (SILVA; ABDON, 1998).

O PNMLC possui uma área de aproximadamente 74 hectares inserida no perímetro urbano do município, sendo 26,86 hectares compreendem o espelho d'água, 12,51 hectares área de lazer e 34,83 hectares de vegetação remanescente e secundária (SILVA; JOIA, 2001). A vegetação do Parque é formada por gramíneas e espécies arbóreas das ordens Arecales, Dilleniales, Fabales e Malpighiales (REZENDE *et al.*, 2017).

As coletas de galhas foram realizadas entre os meses de agosto a outubro (estação seca) de 2018 e de novembro a fevereiro (estação chuvosa) de 2019. As galhas encontradas foram ensacadas com sacos de organza, coletadas e posteriormente observadas em laboratório até a emergência dos parasitóides. As galhas foram etiquetadas, medidas e quantificadas. Os hospedeiros foram recolhidos e em seguida preservados em eppendorfs com etanol a 70%.

As galhas foram classificadas de acordo com sua coloração; forma; tipo de inseto

galhador; família/espécie do hospedeiro; número de câmaras (lóculos); posição da galha na face foliar; quantidade de orifícios de saída; a presença ou ausência de pubescências; e o comprimento e largura de cada uma das galhas (COSTA *et al.*, 2014). A identificação do inseto galhador ocorreu com o auxílio de lupa e chave de identificação (RAFAEL *et al.*, 2012). Para a medição das galhas foi utilizado paquímetro digital (resolução 0,1 mm).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante as amostragens foram registradas três espécies de plantas parasitadas por galhas de insetos, são elas: *Duguetia furfuracea* (família Annonaceae), *Tabebuia chrysotricha* (família Bignoniaceae) e *Eugenia pitanga* (família Myrtaceae). Entre as espécies de insetos galhadores foram observadas as ordens Coleoptera, Hymenoptera e Diptera. Distribuídos em nove famílias (Torymidae, Braconidae, Cynipidae, Mymaridae, Scelionidae, Cynipidae, Pteromalidae, Scelionidae, Braconidae, Eurytomidae, Mymaridae, Cecidomyiidae, Cecadellidae, Pteromalidae, Eurytomidae e Cecadellidae) e 18 morfoespécies.

O arbusto *Duguetia furfuracea* (Annonaceae), popularmente conhecido como Pindauva do campo, foi o que apresentou a maior abundância de galhas e riqueza de insetos. A morfologia da galha era de coloração verde e em formato globóide, com um total de 241 galhas recolhidas e medidas, apresentando uma média (\pm desvio padrão) de $4,7 \pm 2,39$ mm de largura e uma média de $4,9 \pm 1,93$ mm de comprimento. Localizavam-se em grande parte na região adaxial (parte superior) da folha e não apresentavam pubescências (Figura 1). Seus lóculos variaram de duas até sete câmaras e de um a 14 orifícios de saída.

No arbusto *D. furfuracea* foi quantificado um total de cinquenta e dois insetos. Os insetos que predominaram foram da tribo Cynipini pertencente à família Cynipidae da ordem Hymenoptera. A maioria dos Cynipini são indutores de galhas e parasitam Fagaceae e Nothofagaceae (BRONNER, 1992). As fêmeas cinípidas indutoras colocam seus ovos dentro do tecido vegetal jovem indiferenciado fazendo com que estas sejam mais complexas que qualquer outra induzida por artrópodes (CORNELL, 1983). Elas podem ser formadas em todos os órgãos da planta como nas flores, folhas, brotos, caules, galhos e raízes (BRONNER, 1992).

Valter e colaboradores (2008) também observaram galhas no arbusto *D. furfuracea* com características semelhantes as que foram encontradas neste trabalho. A abundância de galhas neste arbusto pode estar relacionada com os amiloplastos (organelas especializadas no armazenamento e síntese de amido) presentes no tecido nutritivo que podem representar uma fonte importante de alimento para o desenvolvimento do galhador e da galha (ABRAHAMSON; MCCREA, 1986).

A segunda espécie de planta com presença de galhas foi a *Tabebuia chrysotricha* (Bignoniaceae), popularmente conhecida como Ipê Amarelo. Foram observadas em *T. chrysotricha* um total de 92 galhas coletadas. Houve uma maior incidência de galhas na

superfície abaxial (parte inferior) da folha e apresentaram um formato cônico de coloração verde com uma média de $5,0 \pm 1,37$ mm de largura e $2,1 \pm 0,5$ mm de comprimento. Apresentaram pubescências que cobriam toda a região foliar (Figura 1) e seus lóculos foram de uma câmara por inseto e um orifício de saída por galha.

Na espécie *T. chrysotricha* obteve-se um total de trinta e um insetos do tipo galhador, com predomínio da ordem Hymenoptera, família Pteromalidae e subfamília Colotrechninae. Segundo Hanson e Heydon (2006) a maioria dos Pteromalidae são parasitóides e muitos poucos são predadores e fitófagos, com sua maioria sendo provavelmente solitários ectoparasitóides e idiobiontes de ovos e pupas de insetos holometábolos, isto é, que possuem sua metamorfose completa (especialmente Coleoptera e Díptera). Esse modo de vida, do parasitoide, acarretará em hospedeiros mortos ou paralisados antes da sua emergência (BRODEUR; BOIVIN, 2004). Acreditasse que os indivíduos encontrados nesta espécie de planta sejam do tipo fitófago por terem apresentado uma morfologia de galha e apenas uma espécie de inseto galhador. Sua preferência por este hospedeiro pode ser creditada pela presença de secreção de carbonato de cálcio que muitas espécies de *Tabebuia* secretam em suas folhas (DUARTE *et al.*, 2014).

Já o arbusto *Eugenia pitanga* (Myrtaceae) conhecido popularmente como pitangueira-do-cerrado, apresentou galhas na região adaxial (parte superior) e coloração vermelha (Figura 1). Seus lóculos foram de uma câmara por inseto e um orifício de saída. Não foi possível realizar a medição das galhas devido à mudança de sua estrutura logo após a coleta, onde emurcheceram diminuindo seu tamanho e forma. Ao total foram encontrados dezoito insetos, ainda em estado larval, pertencentes à ordem Diptera. Estes parasitoides quando adultos não são dotados de mandíbulas típicas, o que tornaria muito difícil seu escape de ambientes com estruturas muito rígidas (COSTA; PERIOTO, 2009) o que pode explicar a morfologia pouco resistente das galhas encontradas. Esta ordem de insetos atua naturalmente no controle populacional de outras espécies, podendo ser utilizadas como agentes de controle biológico de pragas (COURI, 2012).

A família Myrtaceae é comumente associada a uma rica fauna de galhadores e a uma grande diversidade estrutural, química e de distribuição de inúmeros morfotipos de galhas, além de serem uma das cinco famílias de plantas mais galhadas (MAIA, 2019). Esta família possui glândulas oleíferas, produtoras de óleos essenciais que fazem parte do arsenal químico de defesa dessas plantas contra herbívoros e microorganismo (SIANI; BRANQUINHO, 1997; APEL *et al.*, 2006), o que pode conferir um sistema de defesa para os indutores de determinadas galhas que utilizaram deste recurso para beneficiar sua sobrevivência contra outros organismos vivos.

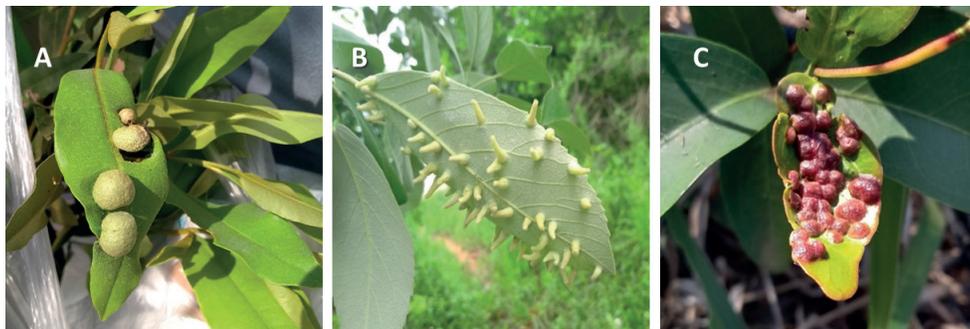


Figura 1. Galhas parasitando o arbusto de *Duguetia furfuracea* (A), árvore de *Tabebuia chrysotricha* (B) e o arbusto de *Eugenia pitanga* (C), Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida, Aquidauana (MS).
Foto: Allerrandra Ortega Nobre.

Embora as características de cada um dos hospedeiros parasitados apresentem apenas uma morfologia de galha, ocorreram variações no tipo de inseto, o que levanta a hipótese de que a variedade de insetos encontrados pode ser em sua maioria de hiperparasitoides, já que fora encontrado uma grande riqueza de insetos entre os espécimes vegetais. O que não condiz com a extrema especialidade existente entre o hospedeiro e o indutor, onde este pode induzir uma diversidade de morfotipos de galhas para uma mesma espécie de planta.

A maioria das espécies identificadas foi encontrada no arbusto de *D. furfuracea* como a família Braconidae que são estrategistas idiobiontes e coinobiontes, parasitas estes que permitem que o hospedeiro cresça e continue a se alimentar mesmo após o parasitismo (BRODEUR; BOIVIN, 2004). A maioria das espécies desta família prefere locais quentes e secos para se desenvolverem e procuram principalmente insetos holometábolos em fase de ovo – larva ou larvas para parasitar. A subfamília Opinae, da qual se identificou 11 vespas, é um endoparasitóide de Diptera que ovopositam em larvas e emergem em último instar ou pupário (CAMPOS; SHARKEY, 2006).

A subfamília Eurytominae (Eurytomidae) que ocorreu no arbusto *D. furfuracea* e na árvore *T. chrysotricha* pode ser entomófaga, fitófagas ou entomofitófagas, onde a maioria das espécies entomofogas parasita estado larval de pupas de coleoptera, diptera e hymenoptera, quando estão encobertas pelo tecido vegetal da planta, isto é, na forma de galha (GATES, 2006).

Outra vespa identificada pertence à família Mymaridae do gênero *Gonatocerus* do qual são todos parasitoides idiobiontes de ovos de insetos. Podem ter de uma a várias gerações por ano, o qual depende da disponibilidade estacional dos ovos do hospedeiro. São bastante oportunistas em relação ao hospedeiro, ao ponto de ter especificidade sobre um só (HUBER, 2006), o que pode justificar o fato desta espécie ter sido encontrada somente no arbusto de *D.furfuracea*. Contrapondo esta espécie temos a subfamília Megastigminae (Torymidae) que é cosmopolita e fitófagas de sementes (HANSON, 2006).

A família Scelionidae apresenta alta especificidade com vespas endoparasitóides idiobiontes solitárias de ovos de insetos e aranhas, os quais procuram encontrar tanto ovos agrupados quanto solitários, tentando evitar fortemente o hiperparasitoidismo e o superparasitismo (MASNER; ARIAS-PENNA, 2006). A ordem Diptera da família Cecidomyiidae particularmente é o grupo mais importante de indutores de galhas, pois ao induzir a formação destas estruturas desenvolvem uma alta especificidade entre o inseto e a planta hospedeira. Além de serem em sua maioria insetos monófagos, isto é, utilizam de uma única espécie de planta hospedeira (MAIA; AZEVEDO, 2009).

Um estudo realizado no bioma Pantanal (município de Corumbá-MS) encontrou espécies de plantas das famílias Fabaceae, Myrtaceae e Sapindaceae sendo infestadas por galhas entomógenas. Neste trabalho também foi observado multiparasitismo. Ou seja, embora os Dípteros (Cecidomyiidae) sejam as galhas mais abundantes. A fauna associada compreendeu parasitóides e inquilinos (ASCENDINO; MAIA, 2017). O que demonstra que a relação entre o inseto galhador e a planta hospedeira é extremamente complexa e envolve uma série de outros organismos. Dessa maneira, outros estudos fazem-se relevantes para compreender essa complexa rede de interação.

Quanto à sazonalidade da ocorrência das galhas, a estrutura das galhas nas folhas foi maior na estação seca (256), do que na estação chuvosa (210). Entretanto, a emergência dos insetos adultos voadores de vida livre, a partir dessas galhas foi maior na estação chuvosa (67) do que na estação seca (36).

A maior emergência dos insetos galhadores adultos de vida livre no período chuvoso pode estar relacionada à maior disponibilidade de plantas verdes (FRANCO, 2005). Para muitos insetos é observada uma maior abundância dos adultos de vida livre na estação chuvosa, pois nessa estação ocorre uma maior oferta de recursos vegetais, uma vez que logo no início do período das chuvas a maioria das plantas aumenta a produção de novas folhas e ramos (FRANCO, 2002). Além disso, na estação chuvosa há um aumento da umidade relativa do ar, que diminui os riscos de dessecação e desidratação, e torna o ambiente mais favorável ao desenvolvimento e sobrevivência dos insetos de vida livre (WOLDA, 1988).

E ainda, de maneira geral em ambiente com estação seca e chuvosa, é no período mais úmido que as plantas investem no aumento da produção de nutrientes, como lipídios e carboidratos. Esse investimento do vegetal ocorre a fim de acelerar seu desenvolvimento e crescimento vegetativo até a próxima estação de seca, para conseguir suportar o estresse hídrico provocado pelo solo. Sendo assim, essa característica torna os vegetais nesse período, uma ótima fonte de alimento e de local para oviposição dos insetos adultos emergidos (SCARIOT *et al.*, 2005; ARAÚJO *et al.*, 2007; FARIA; FERNADES, 2008).

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo colabora para o conhecimento da riqueza de insetos galhadores e suas plantas hospedeiras, em uma área ainda não estudada, do ecótono Cerrado-Pantanal da região de Aquidauana. O estudo ao buscar informações quanto à riqueza desses insetos indutores de galhas, trouxe informações de uma complexa rede de interações que envolvem insetos parasitas, parasitóide, hiperparasitóides e vegetais. O que justifica a necessidade de novos inventários nas áreas estudadas a fim de elucidar as relações ecológicas entre os insetos galhadores e seus hospedeiros.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAMSON, W. G.; MCCREA, K. D. **The impacts of galls and gallmakers on plants.** Proceeding of the Entomological Society of Washington, v.88, n. 2, p. 364-367, 1986.
- APEL, M. A.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T. **Composição química do óleo volátil de *Myrcianthes* nativas da região sul do Brasil.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v.16, n. 3. p. 402-407, 2006.
- ARAÚJO, W. S.; GOMES-KLEIN, V. L.; SANTOS, B. B. **Galhas entomógenas associadas à vegetação do Parque Estadual da Serra dos Pireneus.** Revista Brasileira de Biociências, v. 5. supl. 1, p. 45-47, 2007.
- ARAÚJO, W. S.; SANTOS, B. B. **Effects of seasonality and the size of host plants on abundance of Cecidomyiidae (Diptera) galls on *Piper arboreum* (Piperaceae).** Revista Brasileira de Entomologia, v. 53, n. 2, p. 300-303, 2009.
- ASCENDINO, S.; MAIA, V. **Insects galls of Pantanal areas in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil: characterization and occurrence.** Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 90, n. 2, p.1543-1564, 2017.
- BRODEUR, J.; BOIVIN, G. **Functional Ecology of Immature Parasitoids.** Annual Review of Entomology, v. 49, p. 27-49, 2004.
- BRONNER, R., 1992. **Família Cynipidae.** In: FERNANDEZ, F. & SHARKEY, M. J. Introdução aos Hymenopteros da Região Neotropical. Sociedade Colombiana de Entomologia, Bogotá: Universidad Nacional de Columbia, cap. 98, p. 839-894, 2006.
- CAMPOS, D. F.; SHARKEY, M. J. **Família Braconidae.** In: FERNANDEZ, F. & SHARKEY, M. J. Introdução aos Hymenopteros da Região Neotropical. Sociedade Colombiana de Entomologia, Bogotá (D.C.): Universidad Nacional de Columbia, cap. 29, p.331-894, 2006.
- CORNELL, H. V., 1983. **Família Cynipidae.** In: FERNANDEZ, F. & SHARKEY, M. J. Introdução aos Hymenopteros da Região Neotropical. Sociedade Colombiana de Entomologia, Bogotá: Universidad Nacional de Columbia, cap. 98, p. 839-894, 2006.

- COELHO, M. S. *et al.*. **Gall inducing arthropods from a seasonally dry tropical forest in Serra do Cipó, Brazil**. Revista Brasileira de Entomologia, Belo Horizonte, MG, Brasil, v. 53, n. 3, p. 404-414, 2009.
- COSTA, V. A.; PERIOTO, N. W. **Tecnologia Sustentável Insetos Parasitoides**. 1. Ed. São Paulo (SP): Instituto Biológico, 2009.
- COURI, M. S. **Diptera**. In: RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B.; CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. **Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia**. 1. Ed. Ribeirão Preto (SP), Brasil: Editora Holos, p. 701, 2012.
- COSTA, E. C.; CARVALHO- FERNANDES, S. P.; SANTOS- SILVA, J. **Galhas entomógenas associadas à Leguminosae do entorno do riacho Jatobá, Caetitê, Bahia, Brasil**. Revista Brasileira de Biociências, v. 12, n. 2, p. 115-120, 2014.
- DUARTE, J. L. *et al.* **Análise fitoquímica das folhas de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson (Ipê Amarelo)**. Macapá, v. 4, n. 1, p. 33-43, 2014.
- ESPÍRITO-SANTO, M. M.; FERNANDES, G. W. **How many species of gall-inducing insects are there on earth, and where are they?**. Annals of the Entomological Society of America, v. 100, n. 2, p. 95-99, 2007.
- FERNANDES, G. W.; PRICE, P. W. **Biogeographical gradients in galling species richness: tests of hypotheses**. Oecologia, v. 76, n. 2, p. 161-167, 1988.
- FERNANDES, G. W.; PRICE, P. W. **The adaptive significance of insect gall distribution: survivorship of species in xeric and Mesic habitats**. Oecologia, v. 90, p.14-20, 1992.
- FRANCO, A. C. **Ecophysiology of woody plants**. In: OLIVEIRA, P.S. & MARQUIS, R. J. **The cerrados of Brazil: Ecology and natural history of a neotropical savanna**. 1. Ed. Irvington (NY): Columbia University Press, p. 178-197, 2002.
- FRANCO, A. C. **Biodiversidade de forma e função: implicações ecofisiológicas das estratégias de utilização de água e luz em plantas lenhosas do Cerrado**. In: SCARIOT, A.; SOUSA-SILVA, J. C.; FELFILI, J. M. **Cerrado: Ecologia, Biodiversidade e Conservação**. 1. Ed. Brasília (DF): Ministério do Meio Ambiente, p. 189, 2005.
- FARIA, M. L.; FERNANDES, G. W. **Vigour of a dioecious shrub and attack by a galling herbivore**. Ecological Entomology, v. 26, n. 1, p. 37-45, 2008.
- GONÇALVES – ALVIM, S. J.; FERNANDES, G. W. **Comunidades de insetos galhadores (Insecta) em diferentes fisionomias do cerrado em Minas Gerais, Brasil**. Revista Brasileira de Zoologia, v.18, supl.1, p. 289-305, 2001.
- GATES, M. **Família Eurytomidae**. In: FERNANDEZ, F. & SHARKEY, M. J. **Introdução aos Hymenopteros da Região Neotropical**. Sociedade Colombiana de Entomologia, Bogotá (D.C.): Universidad Nacional de Columbia, cap. 67, p.667-894, 2006.

- HANSON, E. P. **Família Torymidae**. In: FERNANDEZ, F. & SHARKEY, M. J. *Introdução aos Hymenopteros da Região Neotropical*. Sociedade Colombiana de Entomologia, Bogotá (D.C.): Universidad Nacional de Columbia, cap.70, p. 684-894, 2006.
- HANSON, E. P.; HEYDON, L. S. **Família Pteromalidae**. In: FERNANDEZ, F. & SHARKEY, M. J. *Introdução aos Hymenopteros da Região Neotropical*. Sociedade Colombiana de Entomologia, Bogotá (D.C.): Universidad Nacional de Columbia, cap.68, p. 673-894, 2006.
- HUBER, J. T. **Família Mymaridae**. In: FERNANDEZ, F. & SHARKEY, M. J. *Introdução aos Hymenopteros da Região Neotropical*. Sociedade Colombiana de Entomologia, Bogotá (D.C.): Universidad Nacional de Columbia, cap. 83, p.765-894, 2006.
- JULIÃO, G. R.; AMARAL, M. E.; FERNANDES, G. W. **Galhas de insetos e suas Plantas hospedeiras no Pantanal Sul – Mato – Grossense**. *Naturalia*, v. 27, p. 47-74, 2002.
- KASENENE, J. M.; ROININEN, H. **Seasonality of insect herbivory on the leaves of *Neoboutonia macrocalyx* in the Kibale National Park, Uganda**. *African Journal of Ecology*, v. 37, p.61-68, 1999.
- MAIA, V. C.; FERNANDES, G. W. **Insect galls from Serra de São José (Tiradentes, MG, Brazil)**. *Brazilian Journal of Biology*, v. 64, n. 3, p. 423-445, 2004.
- MASNER, L.; ARIAS-PENNA, T. M. **Família Scelionidae**. In: FERNANDEZ, F. & SHARKEY, M. J. *Introdução aos Hymenopteros da Região Neotropical*. Sociedade Colombiana de Entomologia, Bogotá (D.C.): Universidad Nacional de Columbia, cap.86, p. 775-894, 2006.
- MAIA, V. C.; AZEVEDO, M. A. P. **Micro-Hymenoptera associated with Cecidomyiidae (Diptera) galls at Restingas of the Rio de Janeiro State**. *Biota Neotropica*, v. 9, n. 2, 151-164, 2009.
- MAIA, V. C. **Insect galls of São Tomé das Letras (MG, Brazil)**. *Biota Neotropica*, v.13, n.4, p.164-189, 2013.
- MAIA, V. C. **Insect galls on Myrtaceae: richness and distribution in brazilian restingas**. *Biota Neotropica*, vol.19, n.1, e20180526, 2019.
- OLIVEIRA, D. C.; CHRISTIANO, J. C. S.; SOARES, G. L. G.; ISAIAS, R. M. S. **Reações de defesas químicas e estruturais de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl. (Fabaceae) à ação do galhador *Euphalerus ostreoides* Crawford. (Hemiptera: Psyllidae)**. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 29, n.4, p.657-667, 2006.
- OLIVEIRA, C. M.; FRIZZAS, M. R. **Insetos de cerrado: distribuição estacional e abundância**. 1. Ed. Planaltina (GO): Embrapa Cerrados, p. 26, 2008.
- PRICE, P. W.; WARING, G.; FERNANDES G. W. **Hypotheses on the adaptative nature of galls**. *Proceeding of the Entomological Society of Washington*, v. 88, n. 2, p.361-363, 1986.
- RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B.; CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. **Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia**. 1. Ed. Ribeirão Preto (SP), Brasil: Editora Holos, p. 191, 2012.

REZENDE, M. P. G.; CARDOSO, I. L.; OLIVEIRA, N. M.; FIGUEIREDO, G. C. **Impacto de resíduos sólidos urbanos no comportamento do pH e matéria orgânica do solo de uma bacia hidrográfica localizada em Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil.** Revista Neotropical, v.14, n.2, p. 91-100, 2017.

SIANI, A.C.; BRANQUINHO, L. F. **Extração e análise química de óleos essenciais de espécies de Myrtaceae.** In: V REUNIÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, Rio de Janeiro, 1997.

SCARIOT, A.; SOUSA-SILVA, J. C.; FELFILI, J. M. **Cerrado: Ecologia, Biodiversidade e Conservação.** 1. Ed. Brasília (DF): Ministério do Meio Ambiente, 2005.

SILVA, M. F. F.; SECCO, R. S.; LOBO, M. G. A. **Aspectos ecológicos da vegetação rupestre da Serra do Carajás.** Acta Amazônica, v. 26, n. 1/2, p. 17-44, 1996.

SILVA, J. S. V.; ABDON, M. M. **Delimitação do Pantanal Brasileiro e suas sub-regiões.** Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília, v.33, Número Especial, p.1703-1711, 1998.

SILVA, J. F.; JOIA, R. P. **Territorialização e Impacto Ambiental: Um estudo da Zona Ribeirinha de Aquidauana-MS.** Revista Pantaneira, v. 3, n. 1, p. 17-30, 2001.

VALTER, J. L. *et al.* **Varição química no óleo essencial das folhas de seis indivíduos de *Duguetia furfuracea* (Annonaceae).** Revista Brasileira de Farmacognosia, v.18, n.3, p.373-378, 2008.

WOLDA, H. **Insect Seasonality: why?** Annual Review of Ecology and Systematics, v.19, p.1-18, 1988.

CLIMATIZAÇÃO DE RESIDÊNCIAS COM USO DE RECICLÁVEIS

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 08/05/2021

Fabiula Aletéia de Souza Santana

Secretaria Estadual de Educação, Professora
da Educação Básica
Aquidauana, Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/7432841378028227>

Marielen de Souza Arguelho

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul,
Campus de Aquidauana, Acadêmica do Curso
de Ciências Biológicas,
Aquidauana, Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/3996486843157818>

José Carlos Santana Júnior

Secretaria Estadual de Educação, Professor da
Educação Básica
Aquidauana, Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/5068925995109486>

Bruna Gardenal Fina Cicalise

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul,
Campus de Aquidauana, Docente do Curso de
Ciências Biológicas,
Aquidauana, Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/4623271545154470>

RESUMO: As caixas do tipo “longa vida” são utilizadas por sua propriedade em manter a qualidade e a durabilidade dos alimentos. Porém, seu crescente uso fez com que ocupassem espaço considerável nos aterros sanitários. Sua reciclagem, apesar de viável, não é simples. Uma

alternativa é a reutilização das caixinhas como forro de subcobertura; sendo estas eficientes em refletir os raios infravermelhos, podem ser utilizadas como isolante térmico em residências e galpões. Aquidauana-MS apresenta altas temperaturas (acima de 35° C) na maior parte do ano e a ideia de possibilitar conforto térmico às pessoas carentes impulsionou o projeto. O objetivo foi a climatização de residências usando caixas longa vida como forro de subcobertura, sendo desenvolvido em parceria entre a Escola Estadual Cândido Mariano e a UFMS, Campus de Aquidauana. Inicialmente foi realizada campanha para arrecadação de caixas “longa vida”. As mesmas foram higienizadas e placas de 1m² foram confeccionadas em encontros semanais, usando-se grampeadores. Foram selecionadas 20 residências para a instalação do forro, abaixo das telhas (cerca de 3cm) e com a porção laminada voltada para baixo (por questão estética). Os cômodos foram previamente medidos com auxílio de trena comum e com termômetros digitais fez-se a aferição da temperatura em horários fixos, a fim de se comparar dados de temperatura antes e após a instalação do forro. Para instalação das placas houve apoio dos moradores, que usando escada e grampeador de tapeceiro, deram continuidade na instalação das placas nos demais cômodos. Foi possível observar uma diminuição de temperatura entre 6° e 8°C, a depender principalmente da posição (sol da manhã ou da tarde) e tamanho do cômodo, sendo este resultado considerado satisfatório pelos participantes do Projeto.

PALAVRAS - CHAVE: redução de temperatura; caixas longa vida, reutilização; Aquidauana-MS.

CLIMATIZATION OF RESIDENCES WITH USE OF RECYCLABLES

ABSTRACT: The boxes tetrapak are used because their property to maintain the quality and durability of foods. However their increasing use has made them occupy considerable space in landfills. Their recycle, despite viable, isn't simple. An alternative is the reuse of tetrapak as subcover lining; being efficient in reflecting the infrared rays, could be used as thermal insulation in houses and sheds. Aquidauana presents high temperatures (above 35° C) most of the year and the idea of provide thermal confort to needy people boosted this project. The aim was the climatization of houses using tetrapak as subcover lining and it was developed in partnership between Candido Mariano State School and the Federal University of Mato Grosso do Sul, Campi of Aquidauana. At first was realized campaign to arrecadation of tetrapak. After, there were cleaning and plates manufacture of 1m² were confectionated in weekly meetings, using the staplers. To installing the lining were select 20 houses and the lining was placed below the roof tiles (aproximadly 3 cm) with laminated portion faced down (aesthetic reason). The rooms were previously measured and using the digital thermometer were take the temperature at fixed schedule to compare the temperature before and after instalation of lining. To install the plates the residents helped and using ladder and pressure staplers, they continued this instalation at another rooms in the house. Was observed a reduction temperature between 6° and 8° C, depending mainly on the position (morning or afternoon sun) and the size the rooms. This results was considered satisfactory by the participants of the Project.

KEYWORDS: temperature reduction; tetrapak, reuse; Aquidauana-MS.

1 | INTRODUÇÃO

As caixas do tipo “tetra pak” ou “longa vida” são muito utilizadas por sua propriedade de manter a qualidade e a durabilidade dos alimentos nela acondicionados (PAGANI, 2001).

Porém, o crescente uso dessas embalagens fez com que elas passassem a ocupar espaço considerável nos aterros sanitários. Compostas por seis camadas de materiais – quatro de polietileno, uma de alumínio e uma de papelão – as caixinhas vazias acabam se constituindo em sério problema ecológico, podendo levar até 100 anos para sua completa degradação (VIVARECICLANDO).

O processo de reciclagem de embalagens Longa Vida, apesar de viável, não é tão simples uma vez que são constituídas por camadas de papel cartão (papelão), filmes de polietileno (plástico) e alumínio, que após compactados são difíceis de separar (ECYCLE). Em 2015 apenas 21% dessas embalagens foram recicladas (CEMPRE).

Uma alternativa eficiente para esse problema é a reutilização das caixas longa vida. Uma proposta recente é o seu uso como forros de subcoberturas, transformando-as em isolante térmico para residências e galpões, onde podem reduzir a temperatura no interior dos imóveis em cerca de 8°C (RICCHINI, 2001).

Essa ideia foi estudada e proposta pelo engenheiro Luís Otto Faber Schmutzler, que iniciou suas pesquisas sobre as propriedades das embalagens do tipo tetra pak (também

conhecida como embalagem longa vida) junto ao laboratório da Faculdade de Engenharia Mecânica da Unicamp no ano de 2000.

Schmutzler (2001) avaliou a eficiência das caixinhas em refletir os raios infravermelhos e criou o Projeto “Forro Vida longa”. Além disso, comprovou que mesmo sendo composta por várias camadas de polietileno e papelão, essas embalagens não são autocombustíveis e, portanto, não aumentam o risco de incêndios.

Coberturas de cimento-amianto são comuns em residências de pessoas com baixo poder aquisitivo e também em escolas, provocando o superaquecimento dos ambientes, onde a temperatura interior, no alto verão, pode chegar a 45° C (sobre a cobertura, ela fica próxima dos 70° C), submetendo todos, população carente, crianças e professores a um calor insuportável, que trazem como consequência alterações de humor e problemas no rendimento escolar e na saúde (SCHUMTZLER, 2001).

Schmutzler (2001) diz ainda que a manta de Tetra Pak, quando bem aplicada, tem o mesmo desempenho das placas de alumínio vendidas comercialmente, ajudando inclusive na proteção contra goteiras provocadas por falhas no telhado. Essa explicação está na composição das caixinhas, formadas por 5% de alumínio, 20% de plástico e 75% de papelão, sendo que o alumínio é o responsável por refletir mais de 95% do calor, ajudando a diminuir a temperatura interna dos ambientes. Afora isso, a embalagem tetra pak traz a vantagem de ser bem mais barata, sendo estimado um custo de R\$ 0,50 por metro quadrado de forro.

Assim, a disseminação de sua ideia ocorreu de forma natural, pois trata-se de uma atividade simples, já que a instalação tem custo muito baixo e não exige mão-de-obra qualificada. Atualmente vários Estados já estão testando a utilização dos forros de subcobertura com tetra pak para melhoria do conforto térmico de suas populações, entre os quais podemos citar o Rio Grande do Sul, Bahia, Minas Gerais, São Paulo, entre outros. No Mato Grosso do Sul, não foi encontrada referência sobre tal uso das embalagens tetra pak. Assim, pretendeu-se lançar a ideia através de um Projeto de Extensão, para que a mesma fosse disseminada e pudesse atender as comunidades mais carentes, inicialmente do município de Aquidauana, mas podendo alcançar outras regiões do Estado futuramente.

O município de Aquidauana é conhecido por apresentar temperaturas elevadas na maior parte do ano, chegando muitas vezes a valores acima de 40°C. Aliado a esta temperatura elevada, temos também um período prolongado de seca, o que faz aumentar ainda mais a sensação térmica do ambiente.

Segundo o IBGE (2016), a população do município empregada em 2016 correspondia a 12,1% e possuíam renda média de 1,8 salários mínimos, sendo esta uma das mais baixas para o Estado (ocupa 69ª posição entre os 79 municípios). Tal fato se faz evidente nas moradias, onde muitas pessoas vivem em condições precárias, com habitações sem forros e/ou assoalhos adequados.

A escola Cândido Mariano localiza-se no centro da cidade de Aquidauana, em

uma região próxima ao rio Aquidauana, estando também muito perto das comunidades ribeirinhas e por isso, atende boa parte dela. Assim, não são raras as crianças de baixa renda que frequentam a escola.

Sabendo da necessidade de alguns moradores e conhecendo a propriedade das caixas longa vida em atuar como isolante térmico, surgiu a ideia do Projeto na escola e a solicitação de parceria com o CPAQ, junto ao curso de Ciências Biológicas.

Por se tratar de projeto que envolvia questões sociais, ambientais e econômicas, aliado à simplicidade e à facilidade para sua realização através da ação conjunta e colaborativa da comunidade, de pronto essa solicitação foi acolhida e realizada conjuntamente com os professores da escola.

O objetivo principal desse projeto foi realizar a climatização de residências através do uso de caixas de leite longa vida como isolantes térmicos. O público-alvo foram estudantes e funcionários da escola Cândido Mariano além de acadêmicos e funcionários da UFMS/CPAQ.

O projeto foi desenvolvido através das seguintes atividades:

- **Reuniões iniciais com os participantes interessados**

A ideia foi trabalhar de forma concomitante em ambos os locais (escola e Universidade) e, para isso, a distribuição dos participantes foi realizada de maneira que sempre houvesse alunos da escola na Universidade e acadêmicos/professores da Universidade na escola, possibilitando a integração de ambas as Instituições de forma efetiva (Figura 1).



Figura 1. Reunião com voluntários na Escola Cândido Mariano

- **Campanha de conscientização e arrecadação de caixas longa vida na comunidade local.**

A campanha foi realizada principalmente pelas redes sociais e também com cartazes/informativos nas próprias Instituições, além de solicitação pessoal em padarias e creches locais (Figura 2).



Figura 2. Arrecadação de caixas longa vida

- **Reuniões semanais**

As reuniões foram realizadas 2 vezes por semana, no período vespertino (contra turno), na Escola e na Universidade, para higienização das caixas longa vida e confecção das placas de 1m² usando grampeador.

Para higienização, as caixas foram abertas com tesouras, mergulhadas em balde contendo água, detergente e água sanitária por alguns minutos; esfregadas com bucha; enxaguadas em água corrente e posteriormente colocadas para secar (Figura 3a, 3b).

Para confecção das placas, as mesmas foram unidas pela lateral utilizando grampeador simples e de pressão (Figura 3c, 3d).



Figura 3. Processo de higienização (a, b) e confecção das placas, utilizando grampeador de pressão.

- **Divulgação do projeto para comunidade**

Foi realizada uma Oficina na Universidade com duração de 3 horas, tendo como objetivo a divulgação do Projeto e capacitação da comunidade para confecção e instalação das placas de isolamento térmico (Figura 4a). O Projeto também foi apresentado em Evento científico local (Figura 4b)



Figura 4. Divulgação do Projeto em Oficina (a) e Evento científico (b).

- **Seleção das residências para instalação das placas térmicas**

Foram selecionadas 20 residências para instalação das placas térmicas, tanto na comunidade ribeirinha como também entre os participantes da Oficina. A metragem dos cômodos foi realizada previamente à instalação, utilizando-se trena comum.

Em cada residência o forro (placas térmicas) foi colocado com auxílio de escada e grampeador de pressão junto aos caibros, a uma distância mínima de 3 cm abaixo das telhas, não podendo ficar encostada nas mesmas. A porção laminada ficou voltada para baixo, contribuindo tanto para dissipação do calor como também para uma melhor estética do ambiente. Para instalação das placas a participação dos moradores foi essencial, pois os alunos/professores do Projeto fizeram a instalação em apenas um cômodo, deixando material suficiente para que os moradores/responsáveis dessem continuidade à instalação nos demais cômodos (Figura 5).



Figura 5. Instalação das placas nas residências contando com o auxílio do morador (a) e cômodo com forro já finalizado (b)

- **Comparação da temperatura nas residências, antes e após a instalação do forro**

Termômetros digitais foram deixados nas residências 7 dias antes da instalação do forro, sendo solicitado ao morador que o deixasse no cômodo onde seria instalada a placa e que todos os dias, num mesmo horário, anotasse a temperatura do ambiente. Posteriormente à instalação do forro, as temperaturas continuaram sendo monitoradas no mesmo horário e assim foi possível estabelecer um comparativo da temperatura antes e após a instalação das placas térmicas.

Afora essas atividades, ao longo de todo Projeto diversos temas relacionados à educação ambiental, consumo consciente e uso sustentável dos materiais foram discutidos com os participantes para além dos conteúdos apresentados em disciplinas específicas como matemática, ciências, física e português; todos correlacionados ao desenvolvimento

das atividades previstas. Isso contribuiu para um melhor entendimento e participação dos alunos nas atividades, uma vez que puderam integrar conteúdo específicos à sua realidade.

Como resultados, podemos destacar o benefício imediato para os moradores atendidos no Projeto, com baixo custo e proporcionando melhoria na qualidade de vida dessas pessoas através do conforto térmico em suas residências (diminuindo a temperatura no calor e mantendo a temperatura no frio), além da diminuição da quantidade de lixo depositado no ambiente, por meio da reutilização das caixas de leite longa vida.

Foi possível observar uma redução média entre 6° e 8° C na temperatura das residências com a colocação do forro de caixas longa vida, o que para uma cidade quente como Aquidauana faz muita diferença.

Foram arrecadadas mais de 6.000 caixas longa vida e confeccionadas aproximadamente 400 m² de placas, sendo instaladas nas casas selecionadas cerca de 150m². As placas restantes foram distribuídas entre os interessados para finalizarem a instalação nos demais cômodos de suas residências.

As tampinhas das caixas longa vida também foram recicladas. Todas foram lavadas e armazenadas para entrega nos postos de coleta da cidade de Aquidauana, de onde são encaminhadas para o Hospital do Câncer, a fim de serem trocadas por cadeiras de rodas ou medicamentos aos seus pacientes.

O projeto contou com a participação efetiva de 8 acadêmicos voluntários, 1 bolsista e 2 funcionários da Universidade; 15 alunos e 4 professores da Escola Cândido Mariano, além de colaboradores eventuais da comunidade, que participaram nas diferentes atividades realizadas.

A capacitação dos moradores permitiu que a ideia do Projeto fosse replicada, o que ampliou seu alcance para além das 20 residências inicialmente contempladas.

A Universidade tem em suas diretrizes internas o contínuo aprimoramento de seus estudantes e de suas atividades, sendo a Extensão uma das bases para a concretização desses saberes, uma vez que permite a troca de informação entre a comunidade local e a Universidade. Assim, esperamos através dessa e de outras futuras atividades, conseguir contribuir com soluções possíveis para as demandas da comunidade local.

AGRADECIMENTOS

O Projeto foi desenvolvido com apoio da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Pró-Reitoria de Extensão e Cultura (PROECE), através de concessão de Bolsa de Extensão para a acadêmica Marielen de Souza Arguelho;

Agradecemos a Diretora da Escola Estadual Cândido Mariano, professora Nilda Fátima Moraes de Oliveira e Silva pela parceria e apoio na realização das atividades

REFERÊNCIAS

CEMPRE. **Compromisso empresarial para reciclagem**. Disponível em: <<http://cempre.org.br/artigo-publicacao/ficha-tecnica/id/9/embalagens-longa-vida>>. Acesso em 15/04/2019.

ECYCLE. **Caixa de leite é reciclável?** Disponível em: <http://www.ecycle.com.br/component/content/article/58-tetrapak/218-caixa-de-leite-e-reciclavel.html>. Acesso em: 10/04/2019.

IBGE (2016). Instituto brasileiro de geografia e estatística. **IBGE cidades**. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/>. Acesso em 10/04/2019.

PAGANI, M. do C. 2001. **Na caixinha de leite, o frescor da população**. Disponível em: <http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/ju/jan2001/pagina3-Ju158.html>. Acesso em 11/04/2019.

RICCHINI, R. 2001. **Embalagem longa vida é isolante térmico**. Disponível em: <<http://www.setorreciclagem.com.br/reciclagem-de-embalagens-longa-vida/embalagem-longa-vida-e-isolante-termico/>>. Acesso em 10/04/2019.

SCHMUTZLER, L. O. F. **Projeto forro vida longa**. FEM-Faculdade de Engenharia Mecânica, UNICAMP. Disponível em: <http://www.fem.unicamp.br/~impact>. Acesso em 08/04/2019.

VIVARECICLANDO. **Quanto tempo leva para o lixo se decompor**. Disponível em: <https://vivareciclando.wordpress.com/2012/07/02/quanto-tempo-leva-para-o-lixo-se-decompor/>. Acesso em: 10/04/2019.

CAPÍTULO 7

ASPECTOS BOTANICOS, FITOQUIMICOS E ATIVIDADE BIOLÓGICA PRELIMINAR DE EXTRATOS DE *TRADESCANTIA ZEBRINA*

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 06/05/2021

Vagner Cardoso da Silva

Universidade do Estado da Bahia (UNEB),
Departamento de Ciências da Vida (DCV),
Programa de Pós-graduação Stricto sensu em
Ciências Farmacêuticas (PPGFARMA)
Salvador-Bahia
<http://lattes.cnpq.br/0131310791061500>

Alessandra da Silva Guedes

Universidade do Estado da Bahia (UNEB),
Departamento de Ciências da Vida (DCV)
Salvador-Bahia
<http://lattes.cnpq.br/9784380626638022>

Aníbal de Freitas Santos Junior

Universidade do Estado da Bahia (UNEB),
Departamento de Ciências da Vida (DCV),
Programa de Pós-graduação Stricto sensu em
Ciências Farmacêuticas (PPGFARMA)
Salvador-Bahia
<http://lattes.cnpq.br/4848541531516979>

RESUMO: A *Tradescantia zebrina*, espécie muito utilizada no paisagismo, da família *Commelinaceae* e classe *Liliopsida*, é uma herbácea monocotiledônea, perene, ereta, liana, rastejante, de consistência suculenta, originária do México, mas bem adaptada ao Brasil, graças a sua facilidade de cultivo. Popularmente, é utilizada para tratar cistite na América Latina. Existem relatos de seu uso tradicional no tratamento do câncer - como a bebida “água

de Matali”. Contudo, estudos fitoquímicos e farmacológicos ainda são limitados para esta espécie, demonstrando a importância de testes cada vez mais específicos, buscando indícios suficientes tanto de sua segurança, quanto de sua eficácia. A triagem fitoquímica é útil para examinar extratos de plantas. Para isso foi utilizada a metodologia proposta por Matos (1997). Foi possível a identificação das principais classes de metabólitos secundários a partir dos extratos metanólicos, obtidos do material vegetal: *in natura* (IN), seco a sombra (SC) e liofilizado (LF). Também foram realizados cortes histológicos em IN, onde se observa estruturas como estômatos tetracíticos na porção abaxial e de ráfides em idioblastos, além da presença de pelos tectores e glandulares. Sem variações significativas nos extratos se seguiu os estudos com o SC, comparando desta vez o método de extração: maceração com metanol, Soxhlet com etanol, usando água como solvente protetor e infusão com água destilada. Após comparação por *fingerprint* em CLAE-UV-DAD novamente se observou semelhança entres os extratos, mas devido melhor estabilidade e menor risco de contaminação o extrato metanólico deve ser priorizado nas extrações subseqüentes. Desta forma a espécie demonstra ser fonte de substância bioativa, sendo necessários mais testes confirmatórios a serem realizados.

PALAVRAS - CHAVE: *T. zebrina*, água de Matali, Caracterização botânica, Triagem Fitoquímica, Bioatividade.

BOTANICAL, PHYTOCHEMICAL ASPECTS AND BIOLOGICAL PRACTIVITY OF EXTRACTS OF *TRADESCANTIA ZEBRINA*

ABSTRACT: *Tradescantia zebrina* is a species widely used in landscaping and belongs to the family Commelinaceae and class Liliopsida. It is a monocotyledonous herbaceous, perennial, erect, liana, crawling, of succulent consistency, originally from Mexico, very well adapted to Brazil due to its ease of cultivation. It is popularly used to treat cystitis in Latin America. There are reports of its traditional use in the treatment of cancer - like the “água de Matalí” drink. However, phytochemical and pharmacological studies are still limited for this species, demonstrating the importance of increasingly specific tests, looking for sufficient indications of both their safety and their effectiveness. Phytochemical screening is useful for examining plant extracts. For this, the methodology proposed by Matos (1997) was used. It was possible to identify the main classes of secondary metabolites from methanolic extracts, obtained from plant material: *in natura* (IN), dry in the shade (SC) and lyophilized (LF). Histological cuts were also performed in IN, where structures such as tetracytic stomata in the abaxial portion and raffids in idioblasts are observed, in addition to the presence of tector and glandular hairs. Without significant variations in the extracts, studies with SC were followed, this time comparing the extraction method: maceration with methanol, Soxhlet with ethanol, using water as a protective solvent and infusion with distilled water. After comparing by fingerprint on HPLC--UV-DAD again, a similarity was observed between the extracts, but due to better stability and less risk of contamination, the methanolic extract should be prioritized in subsequent extractions. In this way, the species proves to be a source of bioactive substance, requiring more confirmatory tests to be carried out.

KEYWORDS: *T. zebrina*, Água de *Matali*, Botanical characterization, Phytochemical Screening, Bioactivity.

1 | INTRODUÇÃO

A utilização de plantas como tratamento de doenças ou em rituais é tão antigo e universal quanto à própria medicina, na verdade desde o surgimento humano, comprovado a partir de pinturas rupestres, pergaminhos, tumbas faraônicas e até dos conhecimentos passados entre gerações. Estudos comprovam que em escavações foram encontrados fósseis datados de mais de 30 mil anos atrás, comprovando que pessoas do período pré-histórico colhiam plantas com finalidades medicinais. Os conhecimentos foram alcançados através de tentativas e as doenças eram sempre infligidas a fenômenos sobrenaturais (Silva *et al.*, 2003).

O seu uso terapêutico certamente se estabiliza pelas civilizações suméria e acadiana, por volta de 460-377 a.C., com Hipócrates que descreveu produtos naturais medicinais oriundos de plantas e animais. E estes fazem parte de muito antigos sistemas tradicionais de Medicina, como: chinesa, ayurvédica, egípcia. A tradição religiosa ‘afro-indígena-brasileira’ acrescenta formidáveis subsídios para a sociedade brasileira, especialmente no que se refere ao uso e preservação das matas, antagonicamente à filosofia de dominação tão difundida pela sociedade ocidental, onde o papel do homem é dominar toda a natureza,

apenas servindo-se dela (SARKER; NAHAR, 2009).

É inquestionável a importância que as plantas têm em todas as culturas e em todas as épocas. Quer seja para a alimentação, para a cura de doenças ou para rituais religiosos. Segundo Botelho (2010), a cultura africana no Brasil enriqueceu o conhecimento sobre ervas na sociedade, o seu contato com outras culturas, como os povos indígenas e europeus, criou um complexo e diversificado sobre o saber das folhas.

Mesmo hoje, a falta de acesso a serviços de assistência primária à saúde, muitas pessoas ainda tem o uso de ervas como fundamental alternativa de tratamento para diversas enfermidades (CASTRO *et al.*, 2009). Ademais a Organização Mundial de Saúde (OMS) informa que cerca de 3,4 bi da população mundial, por volta de 88%, já fez ou faz uso de medicamentos a base plantas na atenção primária. Só na Medicina Tradicional Chinesa (MTC), 7.295 espécies são utilizadas como agentes medicinais (SARKER; NAHAR, 2009).

Uma linha de estudos dentro da farmacognosia que tem sido empregada com o intuito de melhorar o método de identificação de novas compostos é a Etnofarmacologia, um ramo da Etnobiologia / Etnobotânica que integra dados oriundos de comunidades que utilizam da flora medicinal, com estudos químicos/farmacológicos concretizados em laboratórios específicos. O principal interesse não é identificar e isolar todos os metabólitos secundários, mas o de maior potencialidade terapêutica, ou os responsáveis pelo efeito farmacológico (ELISABETSHY, 2001).

Por conta disso a população, por muitas vezes, possui apenas a sua disposição como única solução terapêutica as plantas medicinais. No entanto, não são exclusivamente as pessoas com menor poder aquisitivo que utilizam esse tipo de tratamento, as classes socioeconômicas mais favorecidas também estão procurando o uso das terapias complementares que conglomeram a fitoterapia, homeopatia, acupuntura, termalismo, entre outras práticas, por terem foco na integralidade do ser humano, diferente do modelo biomédico (BRASIL, 2006).

A Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde (SUS) – o PNPIC/SUS – aprovada pelo Governo Federal em 2006, inicia o movimento contra essa segmentação das partes ao incrementar ao SUS a utilização dessas práticas entre outras ações, incentivando, também, a pesquisa de plantas medicinais, com a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), voltada a garantia, segurança e uso racional de fitoterápicos e plantas medicinais, implicando numa obrigação dos profissionais de saúde, principalmente prescritores, a se aperfeiçoarem nesse tema orientando pacientes de forma correta e segura (BRASIL, 2006). É criada uma Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS, e se percebe uma ausência de investigações sobre uma planta de uso religioso tanto pela Umbanda, quanto pelo Candomblé, a *Tradescantia zebrina*, conhecida como egenda, lambari, trapoeba-roxa ou como onda-do-mar, da família *Commelinaceae* e classe *Liliopsida*, tem como sinônimas: *Tradescantia Pendula*, *Tradescantia Tricolor*, *Commelina Zebrina*, *Zebrina Purpusi*,

Cyanotis Zebrina, *Cyanottis Vittata* e *Zebrina Pendula*. É uma herbácea monocotiledônea, perene, ereta, liana, reptante rastejante, de consistência suculenta de origem mexicana, mas muito bem adaptada ao Brasil, haja vista sua facilidade de cultivo.

Buscou-se a partir dos extratos da espécie selecionada, a avaliação através de triagem fitoquímica preliminar, e em testes de atividades biológicas, onde serão desenvolvidos ensaios que examinem seu perfil bioativo, tendo em vista a comprovação de seu uso popular para diversas enfermidades no México (como o chá chamado “té Matalí” ou “água de Matalí”), além de analisar atividade antioxidante e citotóxica, pois há também relatos de sua utilização para o câncer em preparo caseiro (ALONSO-CASTRO *et al*, 2011), mas igualmente sendo encontrado de forma semi-industrializada.

Segundo Biavatti e Leite (2005), a Farmacognosia tem por objetivo o desenvolvimento de faculdades para avaliar princípios ativos vegetais, e a análise microscópica permite verificar a diferenciação morfológica das espécies vegetais, devido a arranjo tecidual ser bastante simples e característico, facilitando conhecimentos mais profundos acerca de seu metabolismo secundário.

Com relação às atividades antimicrobianas se destaca o que as plantas desenvolveram, no decorrer de sua evolução, mecanismos de se defender e de se relacionar com o meio ambiente, na tentativa de se proteger. Destarte, compostos produzidos em seu metabolismo secundário, são conseguidos em decorrência do acionamento de rotas específicas. Essas substâncias que representam a maior parte dos princípios ativos, como por exemplo, óleos essenciais, alcaloides, taninos e flavonoides, são os objetos de estudos de diversos pesquisadores da química dos produtos naturais (KRIVENKO *et al.*, 1996).

Segundo Tan *et al* (2014), em uma pesquisa malaia, a *T. zebrina* dentre as cinco espécies testadas, apresentaram a maior dosagem de taninos totais, fenóis totais, flavonoides totais, além de uma maior capacidade antioxidante, apresentando também uma melhor concentração inibitória mínima em bactérias gram positivas e gram negativas.

Segundo Amaral (2006), a *T. zebrina* é tradicionalmente usada para tratar distúrbios gastrointestinais ao comprovar atividade giardicida. Outros estudos, também, informaram que *T. zebrina* exibe atividades inseticidas (Gonzalez-Coloma, 2012) e inibitórias a enzima 15-lipoxigenase, uma das responsáveis pelos ataques de asma (Alaba, 2014). Frei *et al* (1998) *apud* Alonso-Castro *et al* (2010) afirmaram que a *T. zebrina* apresenta, também apresenta atividade carcinogênica.

Vale ressaltar ainda que as espécies de *Tradescantia* e de outros gêneros da família *Commelinaceae* com suas diversas espécies estão firmemente presentes no paisagismo como plantas ornamentais, tanto nos jardins, como nos vasos de interiores, pelo fato de tolerarem sol pleno ou meia-sombra, na condição de folhagens ou floríferas. São plantas apropriadas para formação de maciços, forrações e bordaduras, também compondo vasos ou jardineiras suspensas, o que lhes confere considerável importância econômica (MAIA, 2006).

2 | METODOLOGIA

2.1 Seleção e plantio

A espécie foi selecionada a partir de seu uso tradicional e pela ausência de estudos conclusivos. O plantio foi feito na cidade de Salvador dentro de um mesmo terreno (12°56'33.8"S 38°20'27.3"W), com o mesmo tipo de solo (terra vegetal + húmus de minhoca) e regados diariamente. A plantação foi mantida e feita replantio para manutenção da fonte de coleta da espécie em estudo até 2021.

2.2 Coleta, identificação e preparação de material botânico

2.2.1 Primeira coleta

As primeiras amostras foram coletadas em Janeiro de 2016, em lua crescente. Todas as amostras foram coletadas e limpas de sujidades e restos de terra e foram separadas em três partes onde uma foi mantida *in natura* (IN), outra foi seca a sombra (SC) e a última amostra foi congelada em ultrafreezer e posteriormente liofilizada (LF).

Todas foram trituradas em liquidificador marca Philco, modelo PH900, Processo foi realizado em conjunto com solvente extrator metanol para posterior maceração.

2.2.2 Segunda coleta

As amostras foram coletadas em Janeiro de 2020, em lua crescente, sendo limpas de sujidades e restos de terra, secas a sombra e trituradas em moinho/triturador de facas de marca Oster, modelo OMDR100, com potência de 150W. Processo foi realizado em 3 ciclos até cominuição até pó, em seguida foram armazenadas em embalagem *zip lock* até preparo do extrato.

2.3 Exame macroscópico e microscópico

Foi utilizada toda a espécie para identificação dos aspectos macromorfológicos. Para o estudo microscópico foram utilizadas folhas da espécie, onde foram feitos cortes à mão livre com auxílio de uma lâmina de barbear, cortes paradérmicos das faces adaxial e abaxial, além de cortes transdérmicos (região do mesófilo foliar). Logo, os cortes foram imersos em placas de Petri contendo hipoclorito de sódio (NaClO) para diafanização dos tecidos, sendo depois submetidos à lavagem com água destilada. Após a lavagem, as amostras imersas em gotas de água contidas em lâminas, foram sobrepostas em laminulas e posicionadas em microscópio eletrônico binocular, modelo Primo Star, de marca Zeiss, para observação anatômica da espécie (KRAUS; ARDUIN, 1997).

2.4 Preparação dos extratos

2.4.1 Extrato metanólico para triagem fitoquímica - 2016

Foi realizada extração através da técnica de remaceração em 3 ciclos em metanol. Cada amostra, IN, SC e LF foram mantidas em contato com solvente por 24 horas em cada ciclo de remaceração. A cada troca de solvente os extratos foram filtrados com funil de Buchner e papel de filtro qualitativo. Os extratos obtidos foram homogeneizados e em seguida concentrados em rota evaporador.

2.4.2 Extratos para comparação de métodos – 2020

Foram realizados três extratos sempre com proporção 1:10 da droga vegetal e de solvente. O primeiro extrato (TZ1) foi realizado com metanol em maceração e uma remaceração com troca de solvente em 24h; o segundo extrato (TZ2) em *Sohxlet* usando etanol/água (1:1), sendo a água um solvente protetor para evitar o superaquecimento do solvente e conseqüentemente do extrato; e o terceiro (TZ3) em infusão com água destilada.

Todos foram filtrados com funil de Buchner e papel filtro qualitativo.

2.4.3 Concentração dos extratos

Os extratos foram concentrados em rotaevaporador (Quimis®) em vácuo (40mbar) e temperatura inferior a 35°, após completa evaporação material aderido foi reconstituído com aproximadamente 3,0mL de metanol para lavagem do balão coletor.

No extrato TZ2 foi adicionado 05mL de metanol ao fim do ciclo de concentração para auxiliar no arraste da água sem a necessidade de aquecimento maior.

2.5 Realização dos Screening biológicos nos extratos

A avaliação da atividade biológica aconteceu através de ensaios qualitativos. Verificando a presença de Flavonoides por reação de Shinoda, Taninos por precipitação do Acetato de Chumbo a 10% e da precipitação da solução de gelatina a 2%, Terpenos ou Esteroides através da reação de *Liebermann-Burchard*, Alcaloides por reagente de *Dragendorff* e Saponinas por teste de agitação (MATOS, 1997).

2.6 *Fingerprint* - impressão digital cromatográfica

As análises foram realizadas utilizando um cromatógrafo líquido, Shimadzu® (LC20 AD, detector de arranjo de diodos – DAD (SPD-20A), foi equipada com uma coluna “Lichrospher @” RP 18 (Agilent), 5µm, 4,6 × 250mm, controlado por software LC- System® 1.0. As soluções do extrato foram preparadas na concentração de 1 mg/mL. Todas as soluções foram degaseificadas por vácuo e injetadas por válvula manual de alta pressão (ciclo de injeção de 20µL), antes de serem analisadas no cromatógrafo. A detecção foi realizada em DAD no comprimento de onda de 260, 272, 280, 310, 330 e 360nm.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi percebido o crescimento rápido por estaquias e seu potencial invasor frente ao fácil desenvolvimento, mesmo com substrato pobre. Observou-se que o seu cultivo a Sol pleno limita o seu desenvolvimento, já que seu crescimento se torna mais lento, provavelmente pela rápida evaporação de umidade do solo, as folhas se dobram dando ao conjunto a coloração roxa, ficando mais exuberante quando cultivada em locais sombreados. A planta cresce plagiotropicamente sobre o solo formando estolões, ou seja, não há parte subterrânea é o tipo de caule que cresce paralelamente ao chão, produzindo gemas de espaço em espaço. Sua floração não segue um período específico e sua flor é bem delicada.

É sabido que o local e a época de plantio são essenciais para a obtenção de um elevado rendimento das espécies e de substâncias do metabolismo secundário. Contudo, segundo Carvalho (2005), a *Tradescantia* é uma espécie que oferece fácil adaptação em qualquer espaço, além de se desenvolver durante todo o ano, tanto ao ar livre, quanto em estufas. As influências ambientais que mais interferem no crescimento e no desenvolvimento das plantas são o fotoperíodo, a radiação e a temperatura (MARCHESE; FIGUEIRA, 2005). Também, foi percebido a sua fácil disseminação, o que gera a limitação de uma espécie invasora, já citado no trabalho de Mantoani et al. (2013), que aborda as implicações da invasão de *T. zebrina* sobre as regenerantes de plântulas arbóreas no estado do Paraná. Assim como foi registrada a invasão por *T. zebrina* no Cerrado e na Mata Atlântica (ZENNI; ZILLER, 2011).

Na análise macroscópica confirma se tratar de uma espécie liana, percebem-se folhas são lanceolado-lineares ou ovaladas alternas, paralelinérveas, com bainha fechada e suas inflorescências são terminais, possuem 3 sépalas e 3 pétalas (trimera), livres entre si, estão protegidas por brácteas, são hermafroditas e zigomorfas, conforme observado na Figura 1.



Figura 1 Característica macroscópica

Microscopicamente foi possível identificar a partir do corte transversal do limbo da folha a epiderme unisseriada, formada por células altas não espessas e isodiamétricas, a hipoderme com apenas uma camada de células altas que tomam boa espessura da lâmina foliar, o que garante grande suculência para as folhas (figs. 2 e 3). Identificou-se a presença de estômatos na porção abaxial (fig. 2), onde seu mesófilo é homogêneo (isomorfo) e ocupa área bem reduzida, com alguns idioblastos contendo ráfides.

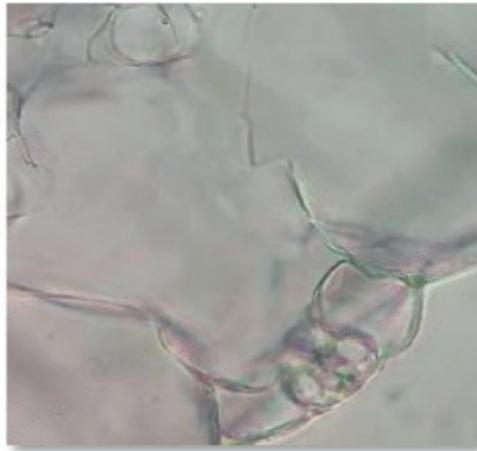


Figura 2. Corte transdérmicocom célula estomática

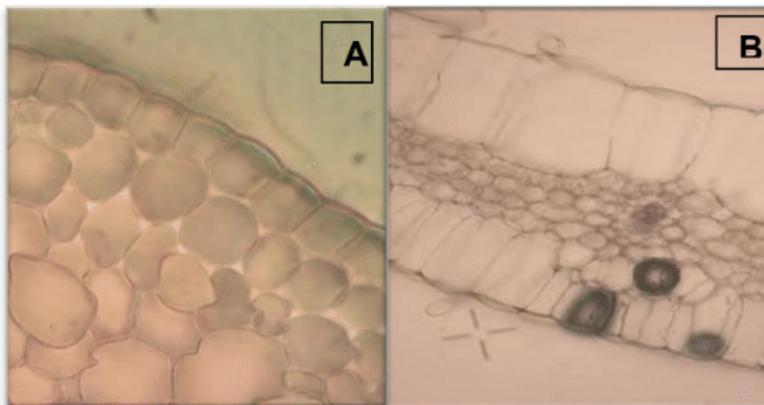


Figura 3. Corte transdérmicocaulinar(A) e foliar (B)

Verificou-se a presença de ráfides de oxalato de cálcio em células do pecíolo (fig. 6), além de tricomas tectores (fig. 5) e glandulares (fig. 4), ambos multicelulares, em toda espécie.

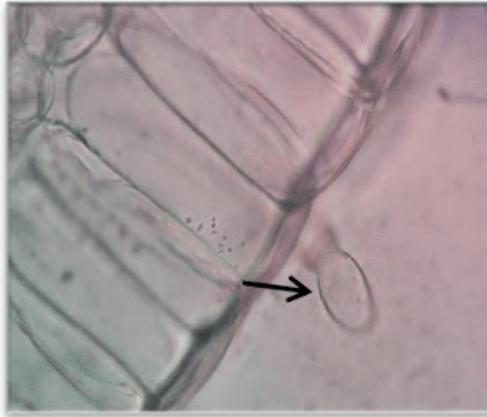


Figura 4. Corte transdérnico foliar, tricoma glandular

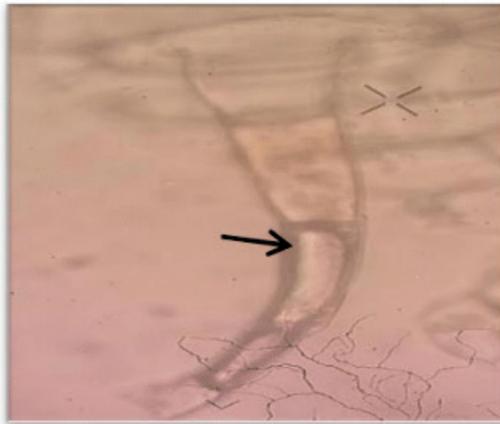


Figura 5. corte transversal pecíolo, tricoma tector

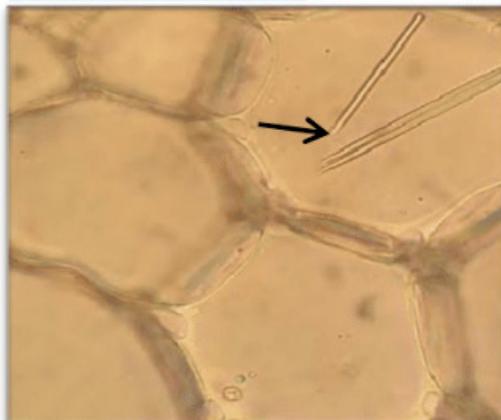


Figura 6. Corte transversal caulinar apresentando ráfides

Com o corte paradérmico foliar (fig. 7) facilmente se comprova que a epiderme é unisseriada e isodiamétrica, e também se percebe que as células estomáticas se encontram somente na porção abaxial (fig. 8), e é classificado como estômato tetracítico, composto por quatro células subsidiárias, sendo duas paralelas às células guardas e as outras perpendiculares.



Figura 7. Corteparadérmico adaxial

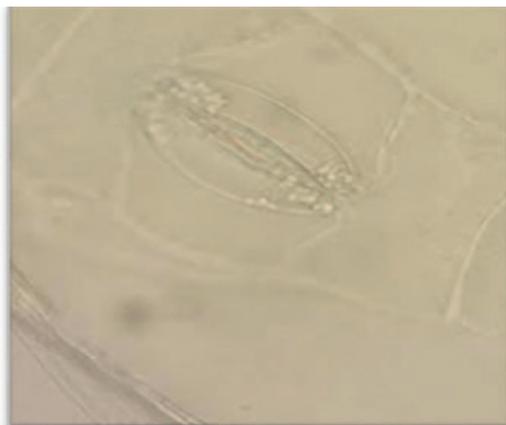


Figura 8. Corte paradérmico abaxial, estômato tetracítico

Microscopicamente foi percebido todas as características já abordadas pelo estudo de Elbl (2008), que afirma notar que o limbo da lamina foliar é formado, sobretudo pela epiderme e hipoderme e pouco pelo paliçádico e lacunoso, trazendo características que fazem as folhas da *T. zebrina* suculentas. Confirma-se, também, Menezes et al. (2005) *apud* Elbl (2008) que mostram que os tecidos primários presentes no caule, estão também na folha e também, trazendo a ideia de continuação entre todos os tecidos da espécie.

Durante o estudo fitoquímico qualitativo fica constatado de Tan *et al* (2014) para

a presença de todas as classes testadas, com exceção a esteroides, pois segundo metodologia de Liebermann-Burchard o teste de presença de triterpenos ou esteroides, o que pode ocasionar um falso-negativo, haja visto que a confirmação de um exclui a presença do outro. Contudo comparativamente foi observada uma intensidade na cor de alguns testes colorimétricos, que sugere uma maior presença de determinados compostos como: no caso do material seco que apresentou reações menos intensas, mas não se pode confirmar essa redução do composto fitoquímico sem a feitura de testes quantitativos. Flavonoides e Taninos foram mais intensos na coloração e precipitação, respectivamente, no extrato preparado a partir de amostra *in natura*. Terpenos, Alcalóides e Saponinas mostraram testes mais intensos no extrato preparado com amostra liofilizada. Contudo, o extrato preparado com amostra seca em estufa de recirculação de ar também apresentou testes positivos, porem com menos intensidade, sendo provável a oxidação de seus compostos durante o processo de secagem. Sendo necessários testes de quantificação para confirmar essa observação.

Segundo Nijveldt *et al.* (2001), os flavonoides exercem diferentes funções nas plantas, entre elas se destacam a ação antioxidante, proteção da radiação Ultravioleta (UV), a proteção contra microrganismos, inibição enzimática e a polinização. E constitui um grupo de polifenóis, cuja síntese não ocorre em seres humanos. Entretanto, exibem uma série de características que lhes permitem atuar em seres vivos e assim beneficiar o desenvolvimento de fármacos (PETERSON *et al.*, 2003). Sendo assim um dos constituintes de maior interesse nessa pesquisa, justamente por a espécie ter um potencial elevado de concentração de flavonoides.

Os flavonoides são bastante estudados, pelas suas inúmeras atividades biológicas, especialmente atividades antioxidante, vascular, citotóxica e antitumoral (NIJVELDT *et al.*, 2001). Sendo a atividade antioxidante a propriedade mais evidenciada neste grupo (HARBORNE; WILLIAMS, 2000).

O mecanismo de inibição para a ciclooxigenase (COX) e lipoxigenase desempenhado por alguns flavonoides em enzimas tem se revelado com muita importância. Segundo Havensteen (2002), a quercetina e apigenina apresentam atividade anti-inflamatória por inibir as enzimas COX-2 e óxido nítrico sintetase. A quercetina e a luteolina também comprovam atividade no acionamento do sistema complemento, reduzindo dessa forma a resposta inflamatória (SANDHAR *et al.*, 2011). Diversas pesquisas estrutura-atividade realizadas com os flavonoides, revelaram a habilidade de inibir enzimas importantes como a NADH oxidase na respiração mitocondrial (NIJVELDT *et al.*, 2001). Já indicando uma importância da espécie indicada por Alaba (2014), quando afirma que há inibição da lipoxigenase, um dos principais responsáveis pelas crises de asma.

Os flavonoides comprovaram ter atividade inibidora de várias espécies oxidantes como o superóxido (O_2^-), radicais hidroxila e peroxi (SANDHAR *et al.*, 2011). Em geral, o caráter antioxidante está conexo com o arcabouço estrutural do flavonoide, dependendo da

quantidade de substituintes hidroxila que exibe na sua molécula. Sendo assim, quanto mais substituintes hidroxila, mais forte será essa atividade desse flavonoide (HAVENSTEEN, 2002). Os flavonoides que se demonstram mais intensos contra os efeitos dos radicais livres, metabólito natural do oxigênio, são as flavonas e as catequinas (TAPAS *et al.*, 2008). Estes radicais livres vêm sendo considerados como colaboradores de várias doenças crônicas como doenças cardiovasculares, cancerígenas, inflamatórias e hepáticas, motivo pelo qual a sua pesquisa se tornou importante (HARBORNE; WILLIAMS, 2000). Isso também é comprovado pela pesquisa de Tan *et al* (2014), a atividade antioxidante na *T. zebrina* é superior às outras espécies da mesma família, e pelo presente estudo fica bem evidenciado a presença dos flavonoides e das antocianinas, comprovado por teste qualitativo e por mudança de cor ao alteração de pH.

Assim os flavonoides são uns grupos de produtos naturais antineoplásicos com mais potenciais que estão sendo testados, demonstrando serem muito ativos contra moléculas oxidantes como os radicais livres que provavelmente estão relacionados aos danos que acontecem no DNA e que causam o desenvolvimento das neoplasias. De outro modo, comprovaram a capacidade de intervir na iniciação, desenvolvimento e progresso das células neoplásicas pela modulação da proliferação celular, diferenciação, apoptose, angiogênese e metástase (SANDHAR *et al.*, 2011).

O estudo de flavonoides é dificultado justamente pela heterogeneidade que as diversas estruturas moleculares exibem, bem como a insuficiente informação da sua disponibilidade, o que infere a necessidade de estudos mais aprofundados, como a identificação da química vegetal com o *fingerprint* em CLAE-DAD. Em estudos prévios se realizou uma comparação dos extratos TZ1 (extrato metanólico), TZ2 (extrato hidroetanólico) e TZ3 (extrato aquoso) a 280nm, escolhido esse comprimento de onda por apresentar uma maior quantidade de detalhes, especialmente na percepção da similaridade/diferenças entre os extratos, comprovando que a modificação do método extrativo pode garantir variação de compostos para mesma espécie, principalmente no que se refere a quantificação dessas substâncias. A partir desse dado é provável seguir o estudo somente com o TZ1, uma vez que se reduz a possibilidade de perda por contaminação microbiológica devido a ausência de água no extrato e por esse apresentar uma maior concentração dos compostos de interesse.

4 | CONCLUSÃO

A avaliação das atividades biológicas provê resultados preliminares que funcionam de base para o desenvolvimento de novos medicamentos, novos protótipos de fármacos, possibilitando novas aplicações dos recursos vegetais e a avaliação dos compostos químicos presentes para o desenvolvimento dos dados da espécie em questão. Também fornece contribuição necessária para o uso racional dessa planta medicinal, pois com a obtenção dos extratos, a partir de fonte natural vegetal, e ciência dos metabólitos

secundários presentes em sua composição trarão a contribuição para o conhecimento e melhor aproveitamento da espécie, com isso tornará mais claro os aspectos toxicológicos de sua utilização tradicional.

Analisou-se, também, desde o *fingerprint* inicial já se confirma a presença de compostos fenólicos, já indiciando o caminho seguido pelo desenho do estudo sobre sua bioatividade. A posteriori não de ser quantificadas essas substâncias, assim desmembrando as possíveis classes de metabolitos secundários oriundos da *Tradescantia zebrina*. De tal modo, pela observação dos aspectos e dos resultados conseguidos em diversos estudos revisados, fica possível admitir que a espécie *T. zebrina* é uma espécie de interesse à fonte de substâncias bioativas. Lacunas estão presentes nesse conhecimento e são identificadas para justificar a continuidade destes estudos a fim de se elaborar afirmações mais conclusivas.

REFERÊNCIAS

ALABA, CSM; CHICHICO-HERNANDEZ, CL. **15-Lipoxygenase inhibition of *Commelina benghalensis*, *Tradescantia fluminensis*, *Tradescantia zebrina***. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2015;4:184–188. doi: 10.1016/S2221-1691(14)60229-X.

ALONSO-CASTRO, AJ; VILLARREAL, ML; SALAZAR-OLIVO LA; GOMEZ-SANCHEZ, M; DOMINGUEZ, F; GARCIA-CARRANCA, A. **Mexican medicinal plants used for cancer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies**. *J Ethnopharmacol.* 2011 Feb 16;133(3):945-72. doi: 10.1016/j.jep.2010.11.055. Epub 2010 Dec 10. PMID: 21146599

AMARAL, FMM; RIBEIRO, MNS; BARBOSA-FILHO, JM; REIS, AS; NASCIMENTO, FRF; MACEDO, RO. **Plantas e constituintes químicos com atividade giardicida**. *Braz. J. Pharmacog.* 16 (Supl.): 696-720. 2006.

BIAVATTI, M. W.; LEITE, S. N. **Práticas de Farmacognosia**, Itajaú: Univali, 2005.

BOTELHO, FP. **O Segredo das Folhas e os Rituais de Cura na Tradição Afro-Brasileira**. VI ENEULT. 25 a 27 de maio. Facom- UFBA. Salvador-BA. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Decreto nº 5.813. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br/dab/docs/legislacao/decreto5813_22_06_06.pdf>. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. Acesso em 08/12/2020.

CARVALHO, H. A. **A *Tradescantia* como bioindicador vegetal na monitoração dos efeitos clastogênicos das radiações ionizantes**. *Radiol Bras*, São Paulo, v. 38, n. 6, p. 459-462, Dez. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-39842005000600015&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 17 /04/ 2021.

CAPRA F. **O Ponto de Mutação**. São Paulo: Cultrix; 1988.

COWAN, M.M. (). **Plant Products as Antimicrobial Agents**. *Clinical Microbiology Reviews*, 1999, pp. 562 – 584.

CUSHNIE, T., LAMB, A.J.. **Antimicrobial activity of flavonoids**. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 2005, pp. 343 – 356.

ELBL, PM. **Estudos em Commelinaceae (Monocotiledôneas): o papel da endoderme e do periciclo na formação do corpo primário**. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica. 2008

ELISABETSHY, E. **Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas**. In: SIMÕES, C.M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre:Ed. UFRGS/Ed. UFSC, 2001. cap.6, p.87-99.

ESQUENAZI D, WIGG MD, MIRANDA MM, RODRIGUES HM, TOSTES JB, ROZENTAL S, DA SILVA AJ, ALVIANO CS. **Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolics from *Cocos nucifera* Linn. (Palmae) husk fiber extract**. *Res Microbiol*. 2002 Dec;153(10):647-52

HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. **Advances in flavonoid research since 1992**. *Phytochemistry*, v.55, p.481-504, 2000

HAVENSTEEN, B.H. **The biochemistry and medical significance of the flavonoids**. *Pharmacology and Therapeutics*, 96, pp. 67 – 202. 2002

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997. 198 p.

KRIVENKO, V. V.; POTEBNIA, G. P.; LOIKO, V. V. **Experience in treating digestive organ disease with medicinal plants**. *Urach Delo*, v. 3, p 76-78, 1996.

MAIA, D. C. **Estudo taxonômico dos gêneros commelina l. e dichorisandra j.c. Mikan (commelinaceae), no estado do Paraná, Brasil**. 118p. Mestrado em Botânica. UFPR, Curitiba, 2006.

MANTOANI, M.C ; DIAS, J.; ORSI, M.L.; TOREZAN, M.D.T. **Efeitos da invasão por *Tradescantia zebrina* Heynh. sobre regenerantes de plantas arbóreas em um fragmento de floresta estacional semidecidual secundária em Londrina (PR)** Biotemas. 26 (3): 63-70, 2013.

MARCHESE, J.A., FIGUEIRA, G.M. **O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas**. *REV.BRAS.PL.MED.*, Botucatu, v.7, n.3, p.86-96, 2005.

MATOS, F.J. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2.ed. Fortaleza: Edições UFC; 1997.

NIJVELDT RJ; VAN NOOD E; VAN HOORN ECD; BOELENS PG; NORREN KK; LEEUWEN PAML. **Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications**. *Am J Clin Nutr*. 2001; 74(4): 418-25.

PETERSON, J., LAGIOU, P., SAMOLI, E., KATSOUYANNI, K., VECCHIA, C.L., DWYER, J., TRICHOPOULOS, D. **Flavonoid intake and breast cancer risk: a case – control study in Greece**. *British Journal of Cancer*, 89(7), , pp 1255 – 1259. 2003

SANDHAR, H.K., KUMAR, B., PRASHER, S., TIWARI, P., SALHAN, M., SHARMA, P. **A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids.** *Internationale Pharmaceutica Scientia*, pp. 25 – 41. 2011.

SARKER, S. D.; NAHAR, L. **Química Para Estudantes De Farmácia: Química Geral, Orgânica e de Produtos Naturais**, [revisão técnica: Mario Hiroyuki Hirata, Rosario Dominguez Crespo Hirata; Tradução de Claudia Lucia Caetano Araujo] Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2009

SILVA, I; MACHADO, N; CORTES, G.; PATRYC, L; SANTOS, L; COUTO JÚNIOR, L; MAGALHÃES, M. **História da farmácia sob a ótica anatômica.** *Ciências Farmacêuticas*, Brasília, DF, v. 1, n. 1, 2003. Disponível em: <<http://www.saudeemmovimento.com.br/revista/artigos/cienciasfarmaceuticas/v1n1a8.pdf>>. Acesso em: 01/05/2021

SIMÕES, CMO, SCHENKEL, EP, GOSMANN, G, MELLO, JCP, MENTZ, LA, PETROVICK, PR. **Farmacognosia, da planta ao medicamento.** 5 ed Florianópolis: Ed. UFRGS: 2004

TAN, JBL; YAP, WJ; TAN, S; LIM, YY; LEE, SM. **Antioxidant Content, Antioxidant Activity, and Antibacterial Activity of Five Plants from the Commelinaceae Family.** *Journal Antioxidants*. Malaysia 2014.

TAPAS, A.R., SAKARKAR, D.M., KAKDE, R.B. **Flavonoids as Nutraceuticals: A Review.** *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (3), pp. 1089 – 1099. 2008

ZENNI, R. D.; ZILLER, S. R. **An overview of invasive plants in Brazil.** *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 431-446, 2011.

AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO E INFLUÊNCIA DO PH NA FERMENTAÇÃO DE GLICEROL RESIDUAL POR *KLEBSIELLA OXYTOCA*

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 06/05/2021

Fabio Moura Cavalcante

Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de Lorena, Departamento de Biotecnologia
Lorena – SP
<http://lattes.cnpq.br/8046037329172369>

Arnaldo Márcio Ramalho Prata

Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de Lorena, Departamento de Biotecnologia
Lorena – SP
<http://lattes.cnpq.br/7366010626563508>

RESUMO: Processos fermentativos são cada vez mais usados como alternativa para utilização de reagentes com baixo valor agregado, como o glicerol residual da indústria do biodiesel, que pode ser metabolizado pela bactéria *Klebsiella oxytoca* para conversão de 2,3-butanodiol. Sua viabilidade depende de parâmetros que influenciam no crescimento das células, no consumo de substrato e na formação de produto, como o pH do meio fermentativo. Neste contexto, o objetivo desta pesquisa foi de avaliar o comportamento do pH durante este processo fermentativo e o impacto deste no crescimento celular. Foram realizados ensaios fermentativos em frascos agitados por seis horas com pH inicial de 6,7. A variável avaliada foi a presença de duas soluções tampões diferentes no meio: citrato de sódio/ácido cítrico e K_2HPO_4 /

KH_2PO_4 . Na ausência de solução tampão foi estudado também o comportamento do processo fermentativo com ajuste de pH em faixa favorável para o crescimento celular. Os valores de pH e os de concentração celular foram medidos em alguns pontos definidos do processo. Os resultados mostraram que nas primeiras horas de processo houve uma queda brusca de pH para uma faixa entre 4,5 a 4,8 e assim mantido até o final, tanto na presença quanto ausência de tampão. Em termos de crescimento celular, as três condições apresentaram um crescimento lento e uma curva pouco acentuada com concentrações finais: 1,0 g/L (ácido cítrico/citrato de sódio); 1,2 g/L (K_2HPO_4/KH_2PO_4) e 1,1 g/L (sem solução tampão). Para a condição sem tampão e com ajuste de pH, o crescimento foi favorecido, com concentração final de células de 1,8 g/L. Então, mesmo se utilizando tampão, o pH do meio apresentou queda nas primeiras horas, o que desfavorece o andamento da fermentação. Neste caso, a condição de ajuste de pH constante se mostrou indispensável, apresentando crescimento favorecido.

PALAVRAS - CHAVE: glicerol residual; *Klebsiella oxytoca*; processos fermentativos; solução tampão

EVALUATION OF PH BEHAVIOR AND INFLUENCE ON RESIDUAL GLYCEROL FERMENTATION BY *KLEBSIELLA OXYTOCA*

ABSTRACT: Fermentative processes are increasingly used as an alternative for the use of reagents with low added value, such as residual glycerol from the biodiesel industry, which can

be metabolized by the bacterium *Klebsiella oxytoca* to convert 2,3-butanediol. Its viability depends on parameters that influence cell growth, substrate consumption and product formation, such as the pH of the fermentation medium. In this context, the objective of this research was to evaluate the pH behavior during this fermentation process and its impact on cell growth. Fermentation tests were carried out in flasks shaken for six hours with an initial pH of 6.7. The variable evaluated was the presence of two different buffer solutions in the medium: sodium citrate/citric acid and K_2HPO_4 / KH_2PO_4 . In the absence of a buffer solution, the behavior of the fermentation process with pH adjustment in a favorable range for cell growth was also studied. The pH and cell concentration values were measured during some defined points at the process. The results showed that in the first hours of the process there was a sharp drop in pH to a range between 4.5 to 4.8 and thus maintained until the end, both in the presence and absence of buffer. In terms of cell growth, the three conditions showed a slow growth and a low curve with final concentrations: 1.0 g/L (citric acid/sodium citrate); 1.25 g/L (K_2HPO_4/KH_2PO_4) and 1.1 g/L (without buffer solution). For the condition without buffer and with pH adjustment, growth was favored, with a final cell concentration of 1.8 g/L. So, even if using buffer, the pH of the medium dropped in the first hours, which disfavors the fermentation progress. In this case, the condition of pH adjustment proved to be indispensable, presenting favored growth.

KEYWORDS: residual glycerol; *Klebsiella oxytoca*; fermentative process; buffer solution

1 | INTRODUÇÃO

A produção de biodiesel a partir de óleos vegetais ou gordura animal vem sendo amplamente difundida nos últimos tempos, sendo que desde o ano de 2008 este vem sendo incorporado ao diesel tradicional, originado do petróleo, para utilização como combustível, especialmente de caminhões e ônibus. A presença deste tipo de combustível renovável, a princípio, era pequena, mas com a recente busca do uso de combustíveis renováveis em substituição de combustíveis fósseis, ela vem crescendo cada vez mais, sendo que em 2010 estava na faixa dos 5% (VASCONCELOS, 2012). Recentemente, em 2020 o percentual de biodiesel a ser misturado no diesel comum passou a ser de 12% (ESTADÃO, 2020).

Entretanto, um dos subprodutos resultantes da produção deste combustível é o glicerol. Ainda segundo Vasconcelos (2012), o aumento da produção do biodiesel é causador um problema: qual deve ser destino que o glicerol formado que se torna excedente, ou seja, que fica acumulado, uma vez que sua produção, de proporção de cem quilos para cada mil quilos de biodiesel – aproximadamente 10% do volume total –, também é aumentada.

O glicerol ou 1,2,3-propanotriol ou glicerina, quando este está na sua forma com 95% de pureza, é um poli álcool com três hidroxilas em sua estrutura, e é uma substância incolor, viscosa, higroscópica, isto é, que absorve umidade, solúvel em água e álcool, pouco solúvel em éter, acetato de etila e dioxano e insolúvel em hidrocarbonetos (BARROS, 2006). Ele é produzido na reação de transesterificação de triglicerídeos e álcool (Figura 1), que é a reação utilizada na produção do biodiesel. Conforme Barros (2006), o glicerol residual

contém diversos tipos de impurezas, como por exemplo, água, alguns sais, ésteres, álcool e óleo residual. Isso faz com que a concentração efetiva do glicerol seja de aproximadamente 80% m/V com relação ao glicerol bruto obtido (VIEIRA et al., 2008). Esse tipo de impurezas presentes no glicerol residual causa a diminuição do seu valor agregado. Por essa razão, o acúmulo em grandes quantidades não é viável para as usinas de biodiesel.

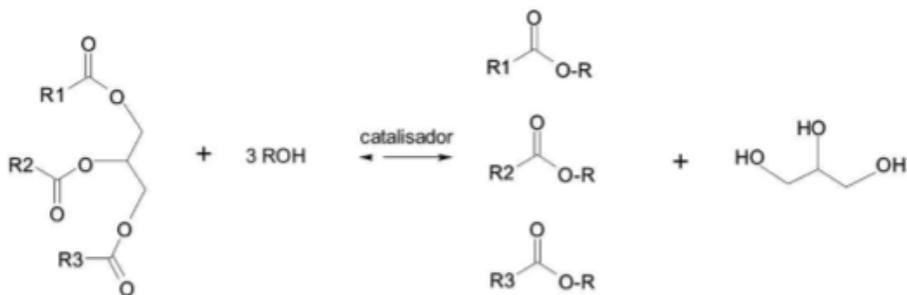


Figura 1. Reação de transesterificação de triglicerídeos com álcool.

Fonte: SANTOS (2012).

Sendo assim, uma das saídas encontrada para a utilização deste excedente é a conversão do glicerol em um produto com maior valor agregado, como mostram diversas pesquisas desenvolvidas no Brasil em bioprocessos (VASCONCELOS, 2012). Segundo Pain et al. (2009) é possível identificar diversas aplicações para o beneficiamento do glicerol no país, tendo em vista que existe quantidade grande de usinas de biodiesel e maior parte delas está localizada em regiões próximas.

Uma das maneiras de se atingir essa necessidade de conversão de glicerol em um produto com valor agregado é a utilização de um processo fermentativo. Isso porque o glicerol pode ser usado como fonte de carbono para a fermentação bacteriana e conversão de 1,3-propanodiol, um composto intermediário que pode ser aplicado na produção de polímeros sintéticos, como poliéster e poliuretano ou de resinas (VIEIRA et al., 2008), e de 2,3-butanodiol, por meio da bactéria *Klebsiella oxytoca*. As rotas bioquímicas para a produção destes compostos são mostradas na Figura 2.

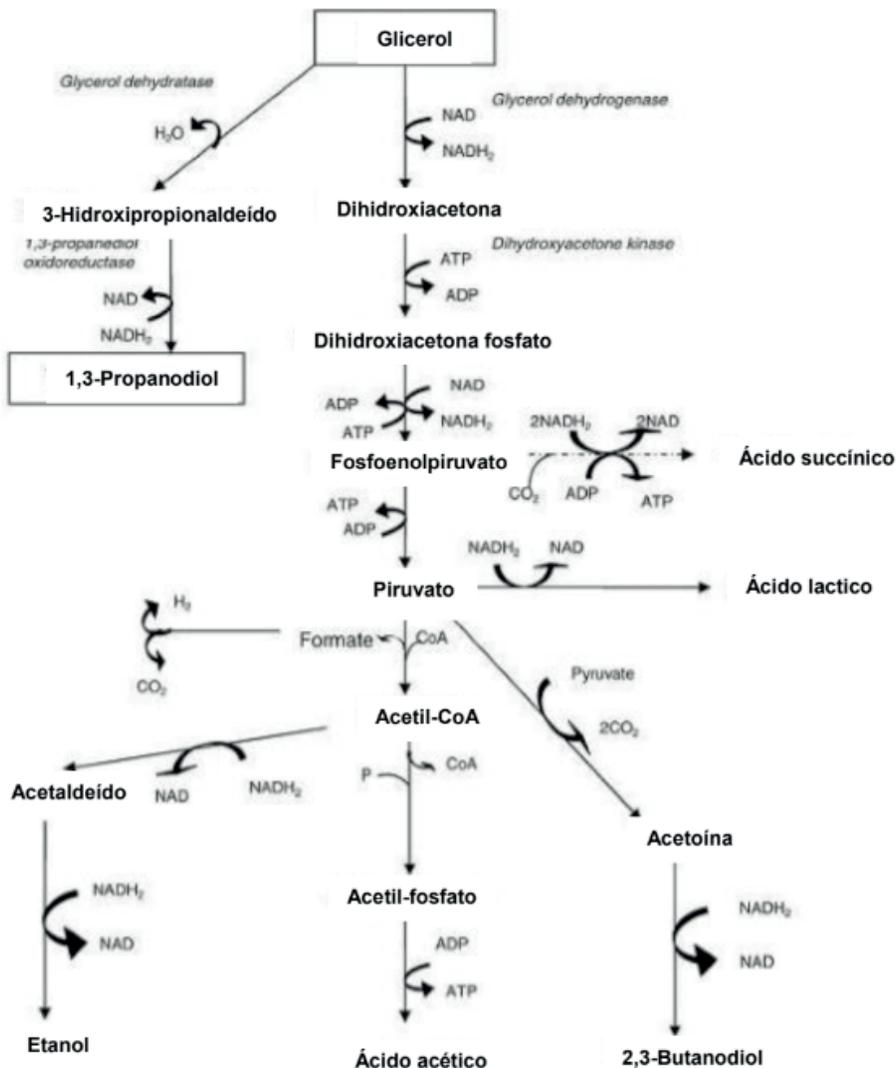


Figura 2. Rotas bioquímicas da fermentação do glicerol.

Fonte: BIEBL et al. (2009), adaptado pelo autor.

Na ausência de oxigênio, condição denominada anaerobiose, estes microrganismos tais como a bactéria *Klebsiella oxytoca*, utilizam dos processos metabólicos presentes nas vias metabólicas, como por exemplo as apresentadas na Figura 2, para se obter energia (PELCZAR et al., 1997). No caso dos microrganismos facultativos, isto é, aqueles que se desenvolvem em presença e ausência de oxigênio, a quantidade de oxigênio dissolvido presente no meio e que está disponível para as células é que induz ou aos processos aeróbios ou aos processos anaeróbios.

Sendo assim, nos processos fermentativos que envolvem o cultivo de células

facultativas buscando a formação de produtos oriundos de uma via anaeróbia, existe uma exigência adequada no dimensionamento do sistema de transferência de oxigênio, ou seja, na operação de dissolução de oxigênio na fase gasosa presente no ar a ser transferido para a fase líquida (SCHMIDELL et al., 2001). Para a produção de 2,3-butanodiol, o suprimento de oxigênio é uma das variáveis mais importantes no processo. Por se tratar de uma fermentação, este produto é formado sob a limitação do gás oxigênio. No entanto, já foi mostrado por Ledingham et al. (1954) que a aeração aumentou a produção de 2,3-butanodiol por *Klebsiella oxytoca* (BINOTTO, 2016).

Outro fator decisivo no desenvolvimento de microrganismos como bactérias é o pH. Este se refere ao nível de acidez ou alcalinidade de uma solução determinado em uma escala: quanto menor seu valor, mais ácido é o meio em questão e quanto maior for o pH, mais alcalino. A maior parte das bactérias consegue crescer bem numa faixa estreita de pH próxima da neutralidade, o que compreende valores entre 6,5 e 7,5. Quando elas são cultivadas em laboratório, como é o caso deste trabalho, elas costumam produzir ácidos que interferem no seu próprio metabolismo (TORTORA, et al., 2016). Como é possível observar na Figura 2, isto acontece também com a bactéria *Klebsiella oxytoca* através da produção de ácido acético.

Uma das formas de se neutralizar o efeito de tal produção é com a utilização de soluções tampão, que são incluídas no meio fermentativo e são capazes de segurar o pH constante mesmo sendo metabolizado ácido no processo. Alguns exemplos de tampões em meios de cultura são peptonas, alguns aminoácidos e sais de fosfato (TORTORA et al., 2016). Ainda segundo Tortora et al. (2016), existem vantagens de se utilizar os sais de fosfato no crescimento celular, que são de manter o pH na faixa de crescimento das bactérias, não ser tóxico e ainda ser fonte de fósforo, que é um nutriente essencial para as células.

Diante do exposto, o presente trabalho visa avaliar o comportamento do pH durante o processo, com a presença e ausência de solução tampão, e o impacto deste no crescimento celular.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima, microrganismo e meio de cultivo

A matéria-prima utilizada como fonte de carbono para a fermentação foi o glicerol residual obtido da Bianchini, usina de biodiesel localizada em Canoas no Rio Grande de Sul, cujos parâmetros de concentração de glicerol e cloreto de sódio, e propriedades como a densidade já eram conhecidos. O microrganismo utilizado foi a bactéria *Klebsiella oxytoca*, NRRL B-199, mantida em ágar nutriente, sob refrigeração. Ela foi inoculada em meio contendo a seguinte composição (g/L): glicerol (10), sulfato de amônio (4,0), fosfato monobásico de potássio (1,0), cloreto de sódio (1,0), fosfato dibásico de sódio (1,0),

sulfato de magnésio (0,2), extrato de levedura (1,5). O pH do meio foi ajustado para ser inicialmente 7,0, pela adição de solução de hidróxido de potássio. O meio de cultivo para o processo fermentativo teve composição similar ao do inóculo, com diferença apenas da concentração de glicerol, que foi de 40 g/L e o pH inicial sendo ajustado para 6,7.

As variáveis estudadas foram a presença de solução tampão citrato de sódio/ácido cítrico (0,295/0,21 g/L) e K_2HPO_4/KH_2PO_4 (0,69/1,3 g/L) bem como a ausência de solução tampão. Neste último caso, foi analisado o efeito do ajuste de pH no meio, realizado com solução 2,5 mol/L de KOH.

2.2 Ensaio de fermentação

A inoculação da bactéria *Klebsiella oxytoca* foi realizada em meio agitado em incubadora de movimento recíproco de modelo SHAKER SL 222, da marca SOLAB, por aproximadamente 10 horas, a 37 °C e pH inicial 7,0 sob agitação de 95 rpm. O meio obtido rico em células foi centrifugado e adicionado ao meio de fermentação com volume de inóculo referente a 10% v/v do volume de meio. Os ensaios fermentativos foram feitos com 200 mL de meio em frasco Erlenmeyer de 1L mantidos a 37°C com duração de 5,5 horas, pH inicial igual a 6,7, utilizando a incubadora de movimento circular modelo INNOVA 4000, da marca New Brunswick Scientific. Amostras foram coletadas em alguns pontos do processo para analisar o comportamento do crescimento celular e pH na fermentação.

2.3 Métodos analíticos

A concentração de células obtida no processo fermentativo foi determinada pela técnica de turbidimetria em espectrofotômetro modelo GT7220, da marca Global Trade Technology, em comprimento de onda de 600 nm. Uma curva de calibração que correlaciona a absorbância de uma amostra com a massa seca de células foi previamente obtida e, para as leituras das amostras, fez-se a centrifugação a 4000 rpm por 20 minutos (Centrífuga Clínica Centribio), separou-se as células do sobrenadante e fez-se a ressuspensão destas em solução salina 0,9% considerando as diluições necessárias para que as leituras de absorbância estivessem dentro dos limites da curva de calibração.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Comportamento do pH

O processo fermentativo de glicerol por *Klebsiella oxytoca* apresenta diminuição do pH devido à produção de ácido cítrico em alternativa a 2,3-butanodiol a partir de piruvato no metabolismo da bactéria descrito por Biebl et al. (2009), na Figura 2.

Acompanhando os valores de pH durante o processo conduzido, tal comportamento foi contemplado, sendo observada uma pequena diminuição nas primeiras horas do processo até o valor de 6,5 aproximadamente, seguida de uma brusca queda de pH para um valor abaixo de 5,0, onde, em seguida, houve estabilização até o processo ser encerrado

(Figura 4). Tal comportamento foi observado tanto na presença quanto na ausência de solução tampão.

Para a condição utilizando o tampão citrato de sódio/ácido cítrico, o período que antecedeu a queda brusca de pH foi de 2h de processo, sendo o mais longo entre as condições estudadas. Sua queda foi a com menor inclinação também, tendo atingido o valor de 5,5 após três horas de processo aproximadamente, e finalizando no pH 4,5. O tampão K_2HPO_4/KH_2PO_4 apresentou performance semelhante, porém a queda de pH teve início em 1,5h de processo, trinta minutos antes do tampão citrato de sódio/ácido cítrico. O valor de pH 5,5 foi obtido também antes, com aproximadamente duas horas e meia de processo, e finalizando o processo no pH estabilizado em 4,8. Dessa forma, o tampão citrato de sódio/ácido cítrico apresentou uma atividade ligeiramente superior ao K_2HPO_4/KH_2PO_4 , mas ainda insuficiente para manter o pH do processo numa faixa apropriada.

Na condição sem solução tampão, o comportamento do pH foi bastante similar ao encontrado nas condições utilizando tampão, evidenciando, assim, a baixa eficiência desses no processo em questão. A queda se deu inicialmente com 1,5h de processo, atingindo o valor de 5,5 com duas horas de processo, apresentando, assim, a queda mais acentuada e rápida entre as estudadas. O pH final do processo se estabilizou entre os encontrados nas condições utilizando tampão.

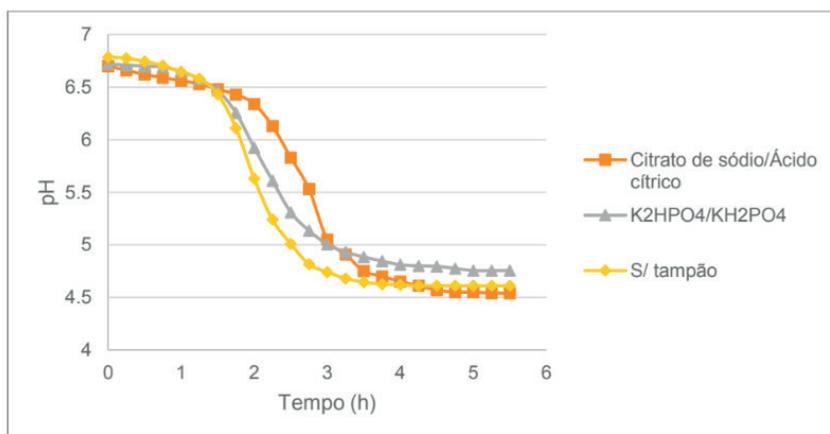


Figura 4. Comportamento do pH ao longo do processo em diferentes condições.

Fonte: do autor.

Como nenhuma das condições estudadas foi capaz de manter o pH numa faixa adequada para o andamento do processo fermentativo, foi estudada uma condição em que o pH foi ajustado com solução de hidróxido de potássio para mantê-lo numa faixa de 6,0.

3.2 Comportamento do crescimento celular

O crescimento celular para as condições estudadas sem ajuste de pH apresentou crescimento lento e curva pouco acentuada, indicando que o desenvolvimento das células não estava favorecido (Figura 5). Para a condição utilizando o tampão citrato de sódio/ácido cítrico, esta curva foi a menos favorecida entre elas, apresentando valor de concentração final de células próximo de 1,0 g/L. As curvas de crescimento para a condição de tampão K_2HPO_4/KH_2PO_4 e sem solução tampão foram muito semelhantes, tendo os valores finais de concentração celular de aproximadamente 1,2 e 1,1 g/L, respectivamente.

Tal comportamento não contempla os modelos de crescimento microbiano conhecidos, com uma fase inicial com baixo crescimento seguida de uma fase exponencial de crescimento após as primeiras horas de processo, tendo todas elas apresentado um crescimento menos acentuado.

Em contrapartida, na condição de ajuste de pH mantido numa faixa de 6,0, o crescimento foi visualmente favorecido. A curva de crescimento mostrada na Figura 5 se mostrou mais acentuada que as demais estudadas, apresentando uma fase de baixo crescimento nas duas primeiras horas seguida de uma inclinação maior até o final do processo, finalizando em uma concentração de células de 1,8 g/L aproximadamente. Esta condição era esperada, tendo em vista que o pH do meio fermentativo estava em queda, tendo ficado em valores inapropriados para o desenvolvimento das bactérias com apenas algumas horas de processo quando não houve ajuste. Na condição de ajuste, o pH ficou na faixa de 6,0, o que permite melhor desenvolvimento das células do que um meio mais ácido, em pH menores do que 5,0.

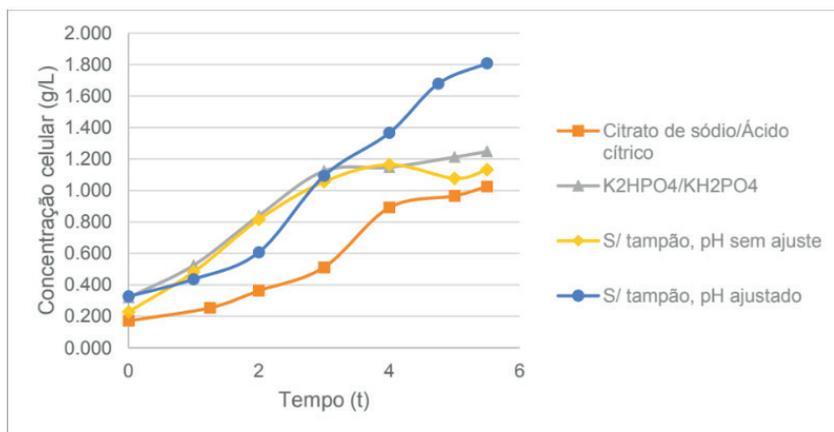


Figura 5. Comportamento do crescimento celular em diferentes condições.

Fonte: do autor.

Então, para este processo fermentativo tendo em vista que sua via metabólica apresenta a produção de ácido, o ajuste de pH se mostrou imprescindível para melhor condução da fermentação ao permitir que as células se desenvolvam melhor e apresente assim, maiores valores de produção de biomassa.

4 | CONCLUSÃO

Após a análise dos resultados, conclui-se que mesmo se utilizando uma solução tampão no meio fermentativo, o pH apresentou um comportamento de queda significativa nas primeiras horas devido a produção de ácido cítrico da via metabólica da bactéria, que desfavorece o andamento da fermentação – tendo este comportamento de queda um sutil retardo quando comparado à condição sem tampão, mas não o suficiente para manter o pH numa faixa favorável. Para esta fermentação, a condição de ajuste de pH numa faixa de 6,0 se mostrou favorável e indispensável, apresentando valores de concentração celular superiores.

REFERÊNCIAS

- BARROS, T. D. Glicerol. **Agência Embrapa de Informação Tecnológica**, 2006. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fj1mqgo602wyiv802hvm3j818huet.html>. Acesso em: ago. 2020.
- BIEBL, H. Fermentation of glycerol by *Clostridium pasteurianum* – batch and continuous culture studies, **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.27, p.18-26, 2001.
- BINOTTO, N. Seleção de potenciais microrganismos produtores de 2,3-butanodiol utilizando diferentes meios sintéticos. Monografia (Graduação em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, 2016.
- ESTADÃO. Percentual de 12% de biodiesel no diesel passa a valer a partir de 1º de março, 2020. Disponível em: <https://estradao.estadao.com.br/caminhoes/12-de-biodiesel-passa-a-valer/>. Acesso em: dez. 2020
- LEDINGHAM G.A.; NEISH A.C. Fermentative production of 2,3-butanediol. In: **Industrial fermentations**. New York: Chemical Publishing Co, p. 27–93, 1954.
- PAIN, M.; WADOWINSKI, A. C.; MENEZES, W.; MARCELO, J.; DULLIUS, J.; LIGABUE, R.; EINLOFT, S. SEFERIN, M.; Mapa da Produção Nacional de Glicerina Através da Reação de Transesterificação para Obtenção do Biodiesel. **X Salão de Iniciação Científica PUCRS**, 2009.
- PELCZAR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. Cultivo e Crescimento de Microrganismos. In: **Microbiologia – conceitos e aplicações**. V. 1, 2ª edição, p. 169-170, Pearson, São Paulo, 1997.
- SANTOS, R. S. Produção de 1,3-propanodiol e 2,3-butanodiol por *Klebsiella pneumoniae* a partir de glicerina residual proveniente da fabricação de biodiesel. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial), Universidade de São Paulo – USP, Lorena, 2012.

SCHMIDELL, W. Agitação e Aeração em Biorreatores. In: **Biotecnologia Industrial – Engenharia Bioquímica**. V. 2, p. 277-279. Blücher, São Paulo, 2001.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Fundamentos de microbiologia – Crescimento microbiano. In: **Microbiologia**. 12ª edição, p. 152, Artmed, 2016.

VASCONCELOS, Y. Resíduos bem-vindos – Subproduto do biodiesel pode ser usado para suprir poeira de vagões de minério. **Revista Pesquisa FAPESP**, 2012. Disponível em: <http://revistapesquisa.fapesp.br/2012/06/14/residuos-bem-vindos/>. Acesso em: ago. 2020.

VIEIRA, T. M. F. S.; D'ARCE, M. A. B. R. Novos usos agregam valor à glicerina residual do biodiesel. **Fundação Agricultura Sustentável**, 2008. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA08-qualidade03.pdf>. Acesso em: ago. 2020.

CAPÍTULO 9

A POLUIÇÃO MICROPLÁSTICA EM SISTEMAS AQUÁTICOS DO BRASIL

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 06/05/2021

Maurício Zimmer Ferreira Arlindo

Universidade Federal do Rio Grande – FURG,
Escola de Química e Alimentos - EQA
Rio Grande, RS
<http://lattes.cnpq.br/3210228039036005>

Andressa Rossatto

Universidade Federal do Rio Grande – FURG,
Escola de Química e Alimentos - EQA
Rio Grande, RS
<http://lattes.cnpq.br/8768981689402459>

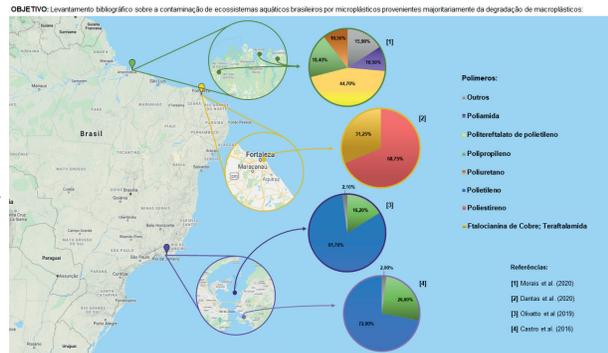
Taiana Denardi de Souza

Universidade Federal do Rio Grande – FURG,
Escola de Química e Alimentos – EQA
Rio Grande, RS
<http://lattes.cnpq.br/9091707282465897>

Christiane Saraiva Ogradowski

Universidade Federal do Rio Grande – FURG,
Escola de Química e Alimentos - EQA
Rio Grande, RS
<http://lattes.cnpq.br/8116025719555708>

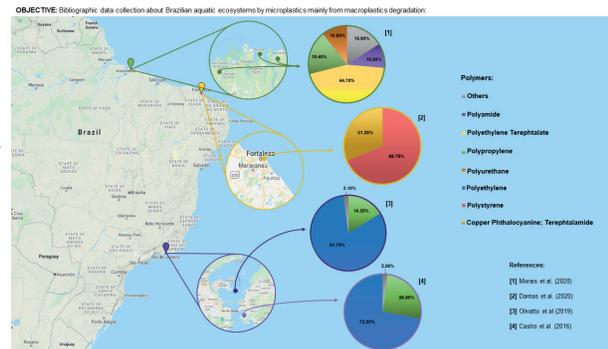
VISUAL RESUMO:



PALAVRAS - CHAVE: Contaminação; Degradação; Microplásticos; Polímeros.

MICROPLASTIC POLLUTION IN BRAZILIAN AQUATIC SYSTEMS

VISUAL ABSTRACT:



KEYWORDS: Contamination; Degradation; Microplastics; Polymers.

1 | INTRODUÇÃO

A contaminação de sistemas aquáticos por lixo plástico tem aumentado a cada ano. De

acordo com o estudo de Lebreton *et al.* (2018), a Grande Porção de Lixo do Pacífico está aumentando e já conta com contaminantes de diversas partes do mundo, e cerca de 94% dessa ilha é composta por microplásticos (MPs). Esses poluentes tem a capacidade de absorverem compostos orgânicos e podem ser ingeridos por diversas espécies marinhas, provocando alterações em seus sistemas internos (DELLA TORRE *et al.*, 2014; TOURINHO *et al.*, 2010) e até mesmo provocando um desequilíbrio na cadeia alimentar (PRATA *et al.*, 2019). O presente estudo tem como objetivo agregar dados sobre a contaminação dos sistemas aquáticos brasileiros, a fim de elucidar a importância do desenvolvimento de técnicas de monitoramento e de mitigação de tais poluentes.

2 | METODOLOGIA

A pesquisa bibliográfica foi realizada na base de dados *Science Direct* e no Portal de periódicos da CAPES, utilizando como palavras-chave “*Microplastics in Brazil*” e “*Microplastics in Brazilian Waters*”. Os artigos científicos foram comparados e foram sintetizadas informações sobre as características físicas e químicas das partículas, como também os possíveis causadores da presença de tais elementos nos ambientes.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A compilação de dados levou a seleção de cinco artigos referentes a contaminação de sistemas aquáticos, seja essa contaminação observada nas águas (CASTRO *et al.*, 2016; OLIVATTO *et al.*, 2019), sedimentos (GEROLIN *et al.*, 2020) e em espécies marinhas (DANTAS *et al.*, 2020; MORAIS *et al.*, 2020). Dentre os artigos pesquisados, é notável que a contaminação microplástica ocorre principalmente pela degradação de macropásticos em partículas menores e a degradação de materiais pesqueiros e tecidos em fibras e filamentos. Das caracterizações mais comuns, temos uma grande quantidade de fibras, sendo esta a forma mais citada em todos trabalhos, além da identificação de esferas, flocos, pellets e fragmentos. O formato afiado e pontiagudo de certos fragmentos indica que existe a degradação de partículas maiores devido a ação do ambiente sobre o material. Essa degradação tem potencial de alterar a alimentação de algumas espécies, levando as mesmas a ingerir acidentalmente, ou propositalmente, partículas indesejadas.

Dentre as amostras de espécies marinhas, destaca-se a análise de anêmonas da espécie *Bunodosoma cangicum*, a qual teve capacidade de ingerir diversos tipos de plásticos, e devido a sua abundância, pode ser utilizada como um bioindicador para monitorar essa poluição em seu habitat. A presença de MPs em amostras de peixes (DANTAS *et al.*, 2020), também mostra que organismos mais complexos podem ingerir estes contaminantes.

Tipos de amostra	Local	Composição	Referência
Águas da Superfície	Baía de Guanabara Rio de Janeiro	PE (81,7%), PP (16,2%), N/I (2,1%)	(OLIVATTO et al., 2019)
Bunodosoma cangicum	São Caetano de Odivelas, Salinópolis; Algodual Pará	PET (44.7%), PP (18,4%), PA (10.5%), PU (10.5%), outros (15,9%)	(MORAIS et al., 2020)
Espécies de Peixes	Praia urbana de Meireles Ceará	PS (68,75%), Ft-Cu e TFTA (31,25%)	(DANTAS et al., 2020)
Águas e plâncton	Enseada de Jurujuba Rio de Janeiro	PE (72%), PP (26%)	(CASTRO et al., 2016)

Legenda: polietileno(PE), polipropileno(PP), politereftalato de polietileno(PET), poliamida(PA), poliuretano(PU), poliestireno(PS), ftalocianina de cobre (Ft-Cu), teraftalamida (TFTA/Kevlar), não identificado(N/I)

Tabela 1 – Tipos de MPs encontrados em sistemas aquáticos do Brasil

Análises feitas com microscópios, *softwares* de imagem e aparelhos de espectroscopia infravermelha demonstraram que dentre os microplásticos mais comuns, estão polietileno e poliuretano, que tem grande capacidade de absorver outros contaminantes (CASTRO *et al.*, 2016). Como visto na Tabela 1, podemos encontrar, além destes dois tipos, alguns outros, dos quais ainda não se tem a clareza dos efeitos no ecossistema, mas se tem a certeza de que a sua presença é indesejada e potencialmente prejudicial aos organismos vivos. Devido ao tipo e formatos dos MPs encontrados, supõe-se que a contaminação ocorra devido ao desgaste de redes e linhas de pescas, roupas e tecidos em geral, além da deterioração do lixo plástico mal descartado.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora ainda poucos, os estudos presentes no Brasil sobre a contaminação microplástica mostram que esse tipo de contaminante já pode ser identificado em vários tipos de espécies e nos diferentes níveis tróficos dos sistemas aquáticos em nossos territórios. Um estudo que tenha um enfoque na padronização de métodos torna-se necessário à medida que a presença destes poluentes aumenta e ameaça causar um desequilíbrio ambiental.

REFERÊNCIAS

CASTRO, Rebeca Oliveira; SILVA, Melanie L.; MARQUES, Mônica Regina C.; DE ARAÚJO, Fábio V. **Evaluation of microplastics in Jurujuba Cove, Niterói, RJ, Brazil, an area of mussels farming**. *Marine Pollution Bulletin*, Reino Unido, v. 110, n. 1, p. 555–558, 2016. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2016.05.037.

DANTAS, Natália C. F. M. F. M.; DUARTE, Oscar S.; FERREIRA, Wellington C.; AYALA, Alejandro P.; REZENDE, Carla F.; FEITOSA, Caroline V. **Plastic intake does not depend on fish eating habits: Identification of microplastics in the stomach contents of fish on an urban beach in Brazil**. *Marine Pollution Bulletin*, Reino Unido, v. 153, n. February, p. 110959, 2020. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2020.110959.

DELLA TORRE, C.; BERGAMI, E.; SALVATI, A.; FALERI, C.; CIRINO, P.; DAWSON, K. A.; CORSI, I. **Accumulation and Embryotoxicity of Polystyrene Nanoparticles at Early Stage of Development of Sea Urchin Embryos *Paracentrotus lividus***. *Environmental Science & Technology*, Washington, DC, EUA, v. 48, n. 20, p. 12302–12311, 2014. DOI: 10.1021/es502569w.

GEROLIN, C. R.; PUPIM, F. N.; SAWAKUCHI, A. O.; GROHMANN, C. H.; LABUTO, G.; SEMENSATTO, D.; RAMAKRISHNA, K.; RATHOD, Aditi; MURTHY, B. S. **Microplastics in sediments from Amazon rivers, Brazil**. *Science of the Total Environment*, Holanda, p. 136126, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.141604.

LEBRETON, L. et al. **Evidence that the Great Pacific Garbage Patch is rapidly accumulating plastic**. *Scientific Reports*, Londres, Reino Unido, v. 8, n. 1, p. 4666, 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-22939-w.

MORAIS, L. M. S. S.; SARTI, F.; CHELAZZI, D.; CINCINELLI, A.; GIARRIZZO, T.; MARTINELLI FILHO, J. E. **The sea anemone *Bunodosoma cangicum* as a potential biomonitor for microplastics contamination on the Brazilian Amazon coast**. *Environmental Pollution*, Reino Unido, v. 265, p. 114817, 2020. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.114817.

OLIVATTO, Glauca P.; MARTINS, Maria Clara T.; MONTAGNER, Cassiana C.; HENRY, Theodore B.; CARREIRA, Renato S. **Microplastic contamination in surface waters in Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil**. *Marine Pollution Bulletin*, Reino Unido, v. 139, n. December 2018, p. 157–162, 2019. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2018.12.042.

PRATA, Joana Correia; DA COSTA, João P.; LOPES, Isabel; DUARTE, Armando C.; ROCHA-SANTOS, Teresa. **Effects of microplastics on microalgae populations: A critical review**. *Science of the Total Environment*, Holanda, v. 665, p. 400–405, 2019. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.02.132.

TOURINHO, Paula S.; IVAR DO SUL, Juliana A.; FILLMANN, Gilberto. **Is marine debris ingestion still a problem for the coastal marine biota of southern Brazil?** *Marine Pollution Bulletin*, Reino Unido, v. 60, n. 3, p. 396–401, 2010. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2009.10.013.

CAPÍTULO 10

RECICLAGEM DE ÓLEO DE COZINHA PARA FABRICAÇÃO DE SABÃO: UMA ABORDAGEM PRÁTICA NO ENSINO DE QUÍMICA

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 06/05/2021

Bárbara Ferreira de Souza

Universidade Católica Dom Bosco – UCDB
Campo Grande – MS
<http://lattes.cnpq.br/6323872202198157>

Airton Gasparini Júnior

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
– UFMS
Campo Grande – MS
<http://lattes.cnpq.br/6399691978909452>

RESUMO: O referido projeto de reutilização de óleo de cozinha, objetivou investigar o conhecimento dos estudantes, de primeiro ano do ensino médio, sobre os problemas ambientais causados pelo descarte incorreto do óleo de cozinha, promover a conscientização ambiental, incentivar a produção de sabão caseiro a partir de óleo de cozinha usado. O projeto foi dividido em etapas: 1- levantamento do conhecimento prévio dos estudantes sobre o descarte inadequado do óleo de cozinha; 2- aula expositiva, utilizando um artigo da coleção Agrinhos, explicando sobre o lixo, sua reciclagem e o problema do óleo no meio ambiente; 3- documentário “A história das coisas” e o significado dos 3R’s. 4- sala de tecnologia com pesquisas sobre saponificação e a escolha de uma receita para fabricar sabão; 5- fabricação do sabão. Tendo em vista que o óleo de cozinha quando jogado no meio ambiente apresenta alta poluição, se for para as redes

de esgoto encarece o tratamento dos resíduos, o que permanece e vai até os rios provoca a impermeabilização dos leitos e terrenos, o que possibilita a ocorrência das enchentes. A solução para este problema é a reciclagem do óleo vegetal. Tendo como ideia inicial, fazer uma experiência em sala de aula que chamasse a atenção de toda a turma, a fabricação de sabão utilizando óleo usado, alcançou patamares inesperados e surpreendentes, uma vez que todos os estudantes foram participativos, sendo em suas pesquisas realizadas na internet, em suas colaborações em sala de aula e até mesmo na prática.

PALAVRAS - CHAVE: Reciclagem, Óleo de cozinha, Educação ambiental.

KITCHEN OIL RECYCLING FOR SOAP MANUFACTURING: A PRACTICAL APPROACH IN CHEMISTRY TEACHING

ABSTRACT: The aforementioned cooking oil reuse project aimed to investigate the knowledge of students, in the first year of high school, about the problems caused by the incorrect disposal of cooking oil, to promote environmental awareness, to encourage the production of homemade soap from used cooking oil. The project was divided into stages: 1- survey of students’ prior knowledge about the disposal of cooking oil; 2- lecture, using an article from the Agrinhos collection, explaining about garbage, its recycling and the problem of oil in the environment; 3- documentary “The history of things” and the meaning of the 3R’s. 4- technology room with research on saponification and the choice of a recipe for making soap; 5-

soap making. Bearing in mind that when cooking oil is discharged into the environment, the sewage treatment costs are more expensive for sewage networks, what remains and goes to rivers causes the waterproofing of beds and land, which allows for the occurrence of flooding. The solution to this problem is the recycling of vegetable oil. Having as an initial idea, making an experience in the classroom that caught the attention of the whole class, a soap making using used oil, reached unexpected and surprising levels, since all students were participative, being in their research carried out in in the classroom, and even in practice.

KEYWORDS: Recycling, Cooking oil, environmental education.

1 | INTRODUÇÃO

Os resíduos sólidos urbanos, mais conhecidos na linguagem popular como lixo, constituem na visão dos ambientalistas um dos mais graves problemas ambientais urbanos da atualidade (LOUREIRO et al, 2002). Estes resíduos, quando não coletados e tratados adequadamente, podem provocar efeitos diretos e indiretos na saúde, além de aumentar a degradação do meio ambiente (RÊGO; BARRETO; KILLINGER, 2002).

Sendo assim, a reciclagem é a forma mais atrativa de gerenciamento de resíduos, pois transforma o lixo em insumos, com diversas vantagens ambientais, podendo contribuir para a economia dos recursos naturais, para o bem estar da comunidade (ALBERICI; PONTES, 2004), além de poderem ser utilizados como fonte de renda por muitas pessoas.

O Movimento dos Catadores de Materiais Recicláveis acreditam que existam de 800 mil a 1 milhão de catadores em atividade e em seu anuário mostram que entre 2017 e 2018 o setor de reciclagem arrecadou cerca de 71 milhões de reais (ANCAT, 2017/2018).

De acordo com Albereci e Pontes (2004) por mais que a tecnologia atual permita reciclar com eficiência diversos materiais consumidos no Brasil, a reciclagem não é um hábito e os números melhoram apenas quando se trata do alumínio, 65% e do papel, 71%”.

Outro problema que afeta o meio ambiente, muitas das vezes de forma irreparável, é o óleo de cozinha onde é jogado no esgoto ou diretamente sobre o solo.

Em grande parte dos municípios brasileiros há ligação da rede de esgotos cloacais à rede pluvial e a arrosios (rios, lagos, córregos). Nesses corpos hídricos, em função de imiscibilidade do óleo com a água e sua inferior densidade, há tendência à formação de películas oleosas na superfície, o que dificulta a troca de gases da água com a atmosfera, ocasionando diminuição gradual das concentrações de oxigênio, resultando em morte de peixes e outras criaturas dependentes de tal elemento; Nos rios, lagos e mares, o óleo deprecia a qualidade das águas e sua temperatura sob o sol pode chegar a 60°C, matando animais e vegetais microscópicos (PITTA JUNIOR et al., 2009, p.5).

Além disso, o resíduo do óleo de cozinha gera graves problemas como entupimento na rede de esgoto e seu mau funcionamento. Para retirar o óleo e desentupir são empregados produtos químicos altamente tóxicos, o que acaba criando uma cadeia perniciosa (ALBERICI; PONTES, 2004).

Sendo assim, o óleo de cozinha usado pode servir como matéria-prima na fabricação de diversos produtos, tais como biodiesel, tintas, óleos para engrenagens, sabão, detergentes... (PITTA JUNIOR et al., 2009).

Através da contextualização da Educação Ambiental, principalmente, nas escolas, o presente trabalho justificou-se em poder inserir no cotidiano dos estudantes a consciência necessária para contribuir com a preservação do meio ambiente.

Assim, o presente trabalho teve como objetivos:

- Investigar o conhecimento prévio dos estudantes de duas turmas de primeiro ano do ensino médio, sobre os problemas ambientais causados pelo descarte incorreto do óleo de cozinha;
- Promover a consciência ambiental dos estudantes;
- Incentivar a produção de sabão caseiro a partir de óleo de cozinha usado.

2 | DESENVOLVIMENTO

2.1 Definições de óleos e gorduras

De acordo com Nelson e Cox (2011, p.345) “As propriedades físicas dos óleos e gorduras, e de compostos que os contêm, são determinadas em grande parte pelo comprimento e pelo grau de insaturação da cadeia hidrocarbonada, sendo ela apolar o que lhe confere ser insolúvel em água”. Conforme Araujo et al. (2011), os pontos de fusão dos lipídios são influenciados pelo comprimento e o grau de insaturação da cadeia hidrocarbonada, tornando óleos líquidos à temperatura ambiente de 25° C, ao passo que nas gorduras terá consistência de cera.

2.2 Descarte incorreto de óleos usados

De acordo com Morgan-Martins et al. (2016), o óleo de cozinha jogado diretamente na rede de esgoto, se fixa internamente, endurece e gruda todo o tipo de resíduo, que vai aos poucos obstruindo os canos, acarretando no refluxo d’água, sendo necessários produtos químicos ou troca da tubulação, o qual gera aumento na manutenção desta rede. Já o lançamento dos óleos no solo provoca sua impermeabilização, deixando-o poluído e impróprio para uso (ALBERECI; PONTES, 2004).

Sabe-se que um litro de óleo de cozinha que é lançado nos corpos hídricos através das tubulações contamina um milhão de litros de água, o que pode ser equivalente ao consumo de uma pessoa em 14 anos (BARBOSA; PASQUALETTO, 2008). Além disso, sua decomposição emite metano na atmosfera, um dos principais gases que causam o efeito estufa.

Também não é recomendável separar o óleo em frascos ou garrafas PET, descartando-o na lixeira, uma vez que com esse destino final impróprio, ocorrerá a infiltração

e contaminação do lençol freático (RABELO; FERREIRA, 2008).

2.3 A utilização do sabão e sua aplicação na educação ambiental

Segundo AZEVEDO et al. (2009) o sabão é um produto aplicado amplamente em nosso cotidiano, sendo ele na forma de barra, líquido, pó ou pasta. Sua fabricação é de fácil execução, mas erra o indivíduo ao afirmar que esse produto é pobre no emprego do ensino e divulgação dos conhecimentos científicos. Para Pitano (2009) trazer a produção deste produto à escola auxilia no processo da educação ambiental crítica e tem como ponto de partida e de chegada a prática social.

Klauk (2010) diz que, o processo de Educação Ambiental deve ocorrer por meio da construção de valores sociais como: conhecimentos, habilidades, atitudes e competências, e devem ser voltadas para a conservação do meio ambiente, que é um bem de uso comum.

Para Layrargues (2020) através dos projetos de educação ambiental espera-se dos alunos uma maior criticidade e que aprendam a agir de forma coletiva e politicamente para defender o ambiente.

Portanto, quando os alunos se deparam com situações que se aproximam de sua realidade, poderão assimilar o conteúdo trabalhado pelos professores em sala de aula, ao que estão vivenciando, dessa forma estarão utilizando os conhecimentos adquiridos na sua prática diária e construindo suas próprias ideias através do processo ensino-aprendizagem (COSTA; LOPES; LOPES, 2015). Assim, a educação ambiental, pode ser considerada, dentro de uma perspectiva crítica, como uma atividade política, social e formativa do humano, capaz de evitar a barbárie (PITANO, 2009).

Deve-se então despertar a consciência ambiental dos alunos quanto à necessidade do desenvolvimento sustentável, para que gerações futuras possam desfrutar e viver em harmonia com o meio ambiente. Layrargues (2020) afirma que:

Para fazer parte da solução da crise ambiental, não basta ser um consumidor ecologicamente consciente; é também necessário ser um cidadão politicamente atuante. Não basta ser ecologicamente alfabetizado, é preciso também ser sociologicamente formado. Não basta adotar atitudes altruístas exemplares dando o bom exemplo do 'bom civilizado', que não passa de uma idealização semelhante a do bom selvagem rousseauiano. É preciso também revolta, indignação, sangue nos olhos e punhos cerrados, encarando furiosamente aquele que compromete as condições ambientais e ameaça o sistema da Vida. (LAYRARGUES, 2020, p.74).

O pensamento crítico tem como característica racionalmente questionar toda a verdade socialmente apresentada e refutar todo pensamento que se dissocia sociedade e natureza (LOUREIRO, 2020).

2.4 Reação de saponificação

Dentre os lipídeos mais abundantes na natureza encontramos os óleos e as gorduras, que são formadas a partir da associação de uma molécula de glicerol com três unidades de ácidos graxos, sendo então triglicerídeos (SOUZA; CASSIANA-SANTOS,

SARMENTO, 2016).

Deste modo, na reação de saponificação ocorre a hidrólise dos triglicerídeos na presença de uma base forte, resultando a formação do sabão como produto principal, é a via de fabricação dos sabões encontrados comercialmente (FERNANDES, 2009).

De modo simplificado, temos:

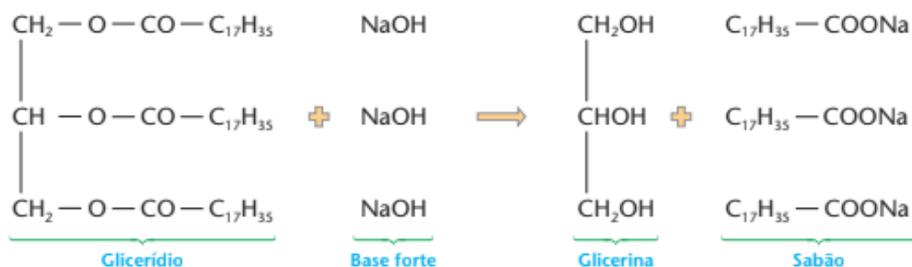


Figura 1: Esquema da reação de saponificação (Fonte: Feltre, 2004, p.341).

Os sabões são misturas de sais de ácidos graxos. Os mais comuns são os sabões de sódio; os de potássio são mais moles ou até mesmo líquidos; os de alumínio e os de cromo, obtidos diretamente dos ácidos graxos, são usados no tingimento de tecidos. (FELTRE, 2004).

3 | METODOLOGIA

Esse trabalho buscou desenvolver uma prática consciente sobre o reaproveitamento do óleo de cozinha na produção de um sabão ecológico em uma escola estadual do município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul e foi baseado em cinco etapas:

- I- Em sala, os estudantes foram divididos em 6 grupos onde deveriam responder perguntas feitas pela professora, a fim de investigar seus conhecimentos prévios sobre a problemática do descarte incorreto do óleo de cozinha.
- II- Em sala, foi entregue cópias aos estudantes um artigo da coleção Agrinho (ANDREOLI et al., 2013) que abordava a problemática dos resíduos sólidos. Em seguida, foi realizada leitura coletiva do livro e debate com os estudantes sobre o tema.
- III- Na sala de tecnologia (figura 2A), os estudantes assistiram o documentário: A história das coisas, onde foi feito uma análise em grupo sobre os bens de consumo e o uso desenfreado da matéria prima.
- IV- Na sala de tecnologia (figura 2B), os estudantes utilizaram os computadores da escola para escolher uma receita de fabricação de sabão caseiro, a partir de óleo de cozinha usado.

V- Nesta etapa foi realizado a culminância do projeto, com a fabricação do sabão caseiro.

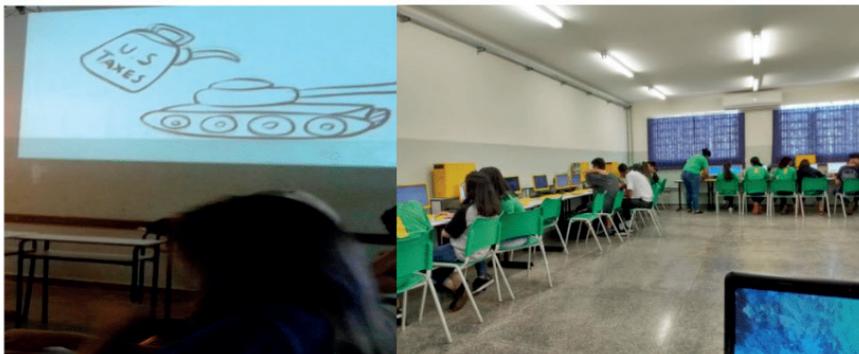


Figura 2: Estudantes assistindo ao documentário “A história das coisas” (A); na sala de tecnologia realizando pesquisas sobre receitas de sabão (B).

A receita escolhida pelos estudantes levou em consideração sua praticidade e simplicidade e chegou-se à seguinte receita:

- Material utilizado: 500g de soda cáustica (NaOH), 1L água em temperatura ambiente (para dissolver a soda), 1L de óleo usado (Figura 3), 1L de álcool etílico (100%). Para a segunda parte da fabricação do sabão utilizou-se: 4L de água em ebulição e 15L de água em temperatura ambiente.



Figura 3: óleo usado levado pelos estudantes para fabricação de sabão.

Quanto ao preparo do sabão, vale ressaltar, que foi recomendado cuidado no manuseio da soda cáustica por causa da sua toxicidade, podendo causar queimaduras graves, utilizando-se de EPI's adequados ao processo. Vale salientar que essa atividade, nas etapas que continham água em ebulição e soda cáustica, foi realizada pela professora, as demais etapas, os estudantes ajudaram.

Para o preparo do sabão foi seguida a receita e realizado os seguintes passos: foi utilizado um recipiente de plástico (balde da escola) e foi adicionada a soda e dissolvida com 1L de água em temperatura ambiente. Após a dissolução da soda, foi colocado o óleo, em seguida, o álcool. Nessa etapa foi mexido aproximadamente 20 minutos, até virar uma massa grossa e consistente (Figura 4). Depois de engrossar, colocou-se aos poucos os 4L de água em ebulição, para que a massa se desfça. Depois de dissolvida, foi adicionado os 15L de água em temperatura ambiente e distribuiu em garrafas pets o sabão líquido.



Figura 4: Mostrando o preparo do sabão.

4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir das respostas obtidas dos estudantes através do questionário, que se referia ao consumo de óleo, os dados obtidos, foram suficientes para constatar que, de fato, o consumo de óleo vegetal é bastante alto. Dos 52 alunos que fizeram parte do projeto 10 alunos (6%) disseram que usam 1L de óleo no mês; 6 alunos (11%) disseram que usam 2L de óleo; 12 estudantes (22%) disseram que usam 4 litros de óleo; 15 (28%) disseram que a família usa 5L no mês e 9 estudantes, disseram que usam em média 6L (33%) de óleo no mês, como pode ser observado na Figura 5.

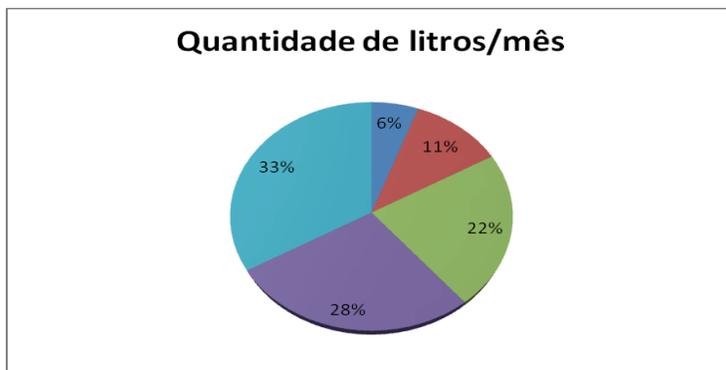


Figura 5. Porcentagem de utilização de óleo de cozinha por mês.

Sobre o número de pessoas que ainda não reutilizam o óleo vegetal, a maior parte dos estudantes (48) e apenas 4 afirmaram fazer o reuso (figura 6). Isso se deve por falta de conhecimento a respeito dos problemas que causam o descarte inadequado deste resíduo.

A maioria dos estudantes disse que seus óleos eram descartados na pia da cozinha ou eram descartados no terreno das residências. Alguns explicaram que há problemas em se descartar o óleo nas pias das residências, pois podem entupir os canos, entretanto nenhum soube responder qual o perigo em se descartar óleo diretamente no solo.



Figura 6. Número de estudantes que reutilizam óleo em suas residências.

A segunda parte do projeto que consistiu na leitura de um artigo da coleção Agrinho que falava sobre os resíduos sólidos. Foi destacado principalmente como afeta de forma negativa o descarte incorreto do lixo principalmente para o solo. Foi debatido também sobre o descarte do óleo nas pias das residências, destacando que além de entupir o encanamento, esse óleo irá cair nas fossas de suas residências, poluindo o solo e podendo chegar até um lençol freático, causando danos irreparáveis.

A terceira parte do projeto foi realizado através de um documentário passado em sala

“A História das coisas” por Leonard (2007), onde foi feito uma análise sobre os processos de fabricação e consumo exagerado de bens materiais, e o impacto que isso gera no meio ambiente.

Após assistir ao documentário foi explicado para os estudantes o que significam os 3R's e sua importância para tentar minimizar a geração de resíduos, além de promover geração de trabalho e renda. Houve a produção de relatórios sobre o que eles entenderam dessa problemática.

A quarta parte do projeto foi realizada na sala de tecnologia da escola, onde os estudantes acessaram diversos sites de pesquisa, e pesquisaram sobre processo de saponificação (como o óleo de cozinha, juntamente com uma base forte, vira sabão). Foi feito uma explicação pela professora sobre o assunto, para melhor entendimento dos estudantes, em seguida escolhemos na internet uma receita de sabão líquido, utilizando óleo de cozinha usado. No mesmo dia foi pedido para que os estudantes trouxessem de suas residências, óleos usados para fabricação de sabão na escola.

A quinta parte do projeto consistiu na fabricação do sabão, a maioria dos estudantes trouxeram de suas residências óleos usados em fritura.

5 | CONCLUSÃO

De certa forma, existem muitos desafios para questões ambientais e muitos virão pela frente, o que exigirá de todos uma maior preparação, conscientização e comprometimento. É nesse contexto que temos que fazer com que nossos jovens percebam que eles podem interferir nessas questões, com uma educação ambiental crítica de forma criativa podemos tentar impedir os impactos negativos ao meio ambiente.

Tendo como ideia inicial, fazer uma experiência em sala de aula que chamasse a atenção de toda a turma, a fabricação de sabão utilizando óleo usado, alcançou patamares inesperados e surpreendentes, uma vez que todos os estudantes foram participativos, sendo em suas pesquisas realizadas na internet, em suas colaborações em sala de aula e até mesmo na prática.

A partir destas aulas, também foi possível abordar o assunto de saponificação de uma forma prática, além de conseguir despertar os estudantes sobre a crise ambiental causada pelo descarte inadequado de óleos e ajudar a refletir mais em busca de uma melhor alternativa de melhoria de condições de vida.

REFERÊNCIAS

ALBERICI, R. M.; PONTES, F.F. F. Reciclagem de óleo comestível usado através da fabricação de sabão. **Revista Engenharia Ambiental**. Espírito Santo do Pinhal, v.1, n.1, p.73-76, 2004. Disponível em: < https://periodicos.ufsm.br/reget/user/setLocale/fr_CA?source=/index.php>. Acesso em: 30 ago. 2019.

ANCAT- Associação Nacional dos Catadores e Catadoras de Materiais recicláveis. **Anuário da Reciclagem**, 2017-2018. Disponível em: <<http://mncr.org.br/biblioteca/publicacoes/relatorios-e-pesquisas/anuario-da-reciclagem-2018-2018/>>. Acesso em: 11 nov. 2020.

ANDREOLI, C. V. et al. Resíduos sólidos: origem, classificação e soluções para destinação final adequada. **Coleção Agrinho**, 2013.

ARAÚJO, W. M. C. et al. **Alquimia dos alimentos**. 2ª ed. Brasília: SENAC, 2011.

AZEVEDO, O. A.; RABBI, M. A.; NETO, D. M. C.; HARTUIQ, M. H. **Fabricação de sabão a partir de óleo comestível residual**: conscientização e educação científica. XVIII Simpósio Nacional de Ensino de Física – SNEF 2010 – Vitória, ES.

BARBOSA, G. M.; PASQUALETTO, A. **Aproveitamento do óleo residual de fritura na produção de biodiesel**. (Departamento de Engenharia Ambiental). Universidade Católica de Goiás, 2008. Disponível em: < <http://professor.pucgoias.edu.br/SiteDocente/admin/arquivosUpload/7074/material/APROVEITAMENTO%20DE%20C3%93LEO%20RESIDUAL%20DE%20FRITURA%20NA%20PRODU%20C3%87%20C3%83O%20DE%20BIODIESEL.pdf>>. Acesso em: 30 out. 2020.

COSTA, D. A.; LOPES, G. R.; LOPES, J. R. **Reutilização do óleo de fritura como uma alternativa de amenizar a poluição do solo**. REMOA - v.14, Ed. Especial UFMT, 2015, p. 243-253. Disponível em: < <https://periodicos.ufsm.br/remoa/article/view/20461/pdf>>. Acesso em: 30 out. 2020.

FELTRE, R. **Química Orgânica**. 6.ed. v.3. São Paulo: Moderna, 2004.

FERNANDES, P. C. A. **Produção de sabão líquido a partir de óleo alimentar usado**. 2009. (Mestrado Integrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia. Universidade do Porto. 2009.

KLAUCK, C. R. **Educação Ambiental**: Um elo entre conhecimento científico e comunidade. Revista Conhecimento Online, ano 1, v. 2, março 2010.

LAYRARGUES, P. P. **Manifesto por uma Educação Ambiental indisciplinada**. Revista Ensino, Saúde e Ambiente. Número Especial, junho, 2020.

LEONARD, A. **A história das coisas**. 2007. (21m 16s). Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=9GorqroiqmM>>. Acesso em: 13 abril 2020.

LOUREIRO, C. F. B. et al. **Educação ambiental**: repensando o espaço da cidadania. São Paulo: Cortez, 2020.

_____. **Contribuições teóricas-metodológicas para a Educação Ambiental com povos tradicionais**. Ensino, Saúde e Ambiente-Número Especial, p. 133-146, 2020.

MORGAN-MARTINS, M. I. et al. **Reciclo-óleo: do óleo de cozinha ao sabão ecológico, um projeto de educação ambiental**. Cinergis, Santa Cruz do Sul, 17(4):301-306, 2016 ISSN: 2177-4005. Disponível em: < <https://online.unisc.br/seer/index.php/cinergis/article/view/8146>>. Acesso em: 28 out. 2020.

NELSON, D. L.; COX, M. Lehninger – **Princípios de Bioquímica**. 5ed. São Paulo: Sarvier, 2011.

PITTA JUNIOR, O. S. R. et al. **Reciclagem do Óleo de Cozinha Usado: uma Contribuição para Aumentar a Produtividade do Processo**. In: 2nd International Workshop Advances in Cleaner Production (Key elements for a sustainable world: energy, water and climate change). São Paulo, 2009. Disponível em: < <https://xtudoquimica.files.wordpress.com/2012/01/m-s-nogueira-resumo-exp.pdf>>. Acesso em: 28 out.2020.

PITANO, S, de, C.; NOAL, R, E. **Horizontes de diálogo em Educação Ambiental**: Contribuições de Milton Santos, Jean-Jacques Rousseau e Paulo Freire. Educação em Revista, v.25, n, 3, p. 283-298, 2009.

RABELO, A. R.; FERREIRA, M. O. **Coleta seletiva de óleo residual de fritura para aproveitamento industrial**. Departamento de Engenharia Ambiental. Goiânia, 2008. Disponível em: < <https://docplayer.com.br/505061-Coleta-seletiva-de-oleo-residual-de-fritura-para-aproveitamento-industrial.html> > Acesso em 10 abril 2020.

RÊGO, R. C. F.; BARRETO, M. L.; KILLINGER, C. L. **O que é lixo afinal? Como pensam mulheres residentes na periferia de um grande centro urbano**. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 18(6):1583-1592, 2002. Disponível em: < <https://www.scielosp.org/pdf/csp/2002.v18n6/1583-1591/pt>>. Acesso em: 12 abr. 2020.

SOUZA, A. L.; CASSIA-SANTOS, M. R.; SARMENTO, A. P. Educação ambiental e a reutilização de óleo de fritura no Colégio Estadual João Netto de Campos. **Educação e formação de professores**. UFGO, 2016. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Antover_Sarmento/publication/320319398_Educacao_ambiental_e_a_reutilizacao_de_oleo_de_fritura_no_Colegio_Estadual_Joao_Netto_de_Campos/links/5a019a8a0f7e9bfd745b9127/Educacao-ambiental-e-a-reutilizacao-de-oleo-de-fritura-no-Colegio-Estadual-Joao-Netto-de-Campos.pdf>. Acesso em: 27 out 2020.

CAPÍTULO 11

DESCOMPLICANDO A BIOQUÍMICA: PROPONDO UMA AULA EXPERIMENTAL PARA A DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES EM ALIMENTOS DO COTIDIANO

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 04/05/2021

Tiago Maretti Gonçalves

Doutor em Ciências pelo programa de Pós-Graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular da Universidade Federal de São Carlos, UFSCar - SP
Poços de Caldas - MG
<http://lattes.cnpq.br/7622375381774518>

RESUMO: A Bioquímica é uma das áreas dentro das Ciências Biológicas mais incríveis e fascinantes. No entanto, ela é encarada pela maioria dos alunos como bastante desafiadora, uma vez que detém assuntos complexos e abstratos, além de ser dotada de uma grande quantidade de conteúdos que devem ser muito bem assimilados e compreendidos. Para superar tais obstáculos, é proposto neste artigo uma aula experimental utilizando-se materiais simples e de baixo custo para a determinação de açúcares redutores em alimentos do cotidiano por meio do Reagente de Benedict, facilitando sua aprendizagem. Assim, essa aula prática fará ligação com o assunto da estrutura e da função dos carboidratos ministradas nas aulas teóricas de Biologia, além de abordar sobre aspectos inerentes a saúde (diabetes). Dessa maneira, acreditamos que a proposta de uma aula prática possa enriquecer o conhecimento dos alunos e facilitar a contextualização da temática abordada dentro da Bioquímica aos alunos de Biologia no Ensino Médio, instigando os mesmos ao

pensamento científico.

PALAVRAS - CHAVE: Aula prática, Bioquímica, Carboidratos, Ciências Biológicas, Ensino, Experimentação.

DECOMPLICATING BIOCHEMISTRY: PROPOSING AN EXPERIMENTAL CLASS FOR DETERMINING REDUCING SUGARS IN DAILY FOODS

ABSTRACT: Biochemistry is one of the most incredible and fascinating areas within Biological Sciences. However, it is seen by most students as quite challenging, since it has complex and abstract subjects, in addition to having a large amount of content that must be very well assimilated and understood. To overcome such obstacles, an experimental class is proposed in this article using simple and low-cost materials for the determination of reducing sugars in everyday foods through Benedict's Reagent, facilitating its learning. Thus, this practical class will link with the subject of the structure and function of carbohydrates given in the theoretical classes of Biology, in addition to addressing aspects inherent to health (diabetes). Thus, we believe that the proposal for a practical class can enrich students' knowledge and facilitate the contextualization of the theme addressed within Biochemistry to Biology students in High School, instigating them to scientific thinking.

KEYWORDS: Practical class, Biochemistry, Carbohydrates, Biological Sciences, Teaching, Experimentation.

1 | INTRODUÇÃO

A Bioquímica, é uma das áreas mais fantástica da Biologia. Segundo Voet, Voet e Pratt (2008, p. 3) “a palavra bioquímica, significa literalmente, o estudo da química da vida. Apesar de sobrepor-se a outras disciplinas, como a biologia celular, a genética, a imunologia, a microbiologia, a farmacologia e a fisiologia”. Segundo Nelson e Cox (2008, p. 3):

A bioquímica descreve em termos moleculares as estruturas, os mecanismos e os processos químicos compartilhados por todos os organismos e fornece princípios de organização que estão subjacentes à vida em todas as suas diversas formas, princípios aos quais nos referimos coletivamente como a lógica molecular da vida.

No entanto, no Ensino Médio, por essa área conter muitos nomes e processos, a maioria dos alunos a encaram como complexa e tediosa, sendo um grande desafio para o docente ministrá-la. Desta forma, de acordo com Gonçalves (2021a), a busca de metodologias alternativas de ensino, aliadas às aulas teóricas pode ser de grande importância com o objetivo de facilitar o processo norteador de ensino e da aprendizagem, e uma delas é o uso de aulas experimentais (aulas práticas).

Segundo Krasilchik (2004, p.88), as aulas práticas possuem funções de grande importância no ensino de Biologia pois:

[...] permitem que os alunos tenham contato direto com os fenômenos, manipulando os materiais e equipamentos e observando os organismos. Na análise do processo biológico, verificam concretamente o significado da variabilidade individual e a consequente necessidade de se trabalhar sempre com grupos de indivíduos para obter resultados válidos.

Evidenciando-se as potencialidades do uso de aulas práticas no ensino de Biologia, no presente artigo, propomos a abordagem de uma aula prática utilizando materiais simples e de baixo custo aplicada aos alunos do ensino médio para fortalecer o conteúdo teórico de composição química das células (os carboidratos). Nessa atividade os alunos terão como principal objetivo reconhecer por meio do uso do reagente Benedict a presença de açúcares redutores em alimentos do cotidiano, bem como lembrar a estrutura bioquímica dos carboidratos. Além desses objetivos, a presente atividade permite ao docente trabalhar aspectos relacionados à dieta e nutrição, e até mesmo doenças como o diabetes. Vale a pena ressaltarmos que, essa atividade será realizada para uma turma de jovens adolescentes que estão cursando o primeiro ano do ensino médio (faixa etária de 14 a 15 anos). Assim, na etapa da preparação do reagente de Benedict, bem como da condução experimental (utilização de lamparina ou banho maria), é recomendado que um adulto esteja supervisionando, uma vez que o uso de certos reagentes e do fogo podem causar acidentes. Como alternativa mais segura, o professor pode demonstrar essa prática perante toda a turma dentro de sala de aula, ou então por meio de uma aula virtual, como

atualmente vem acontecendo em detrimento do novo coronavírus.

2 | METODOLOGIA

A proposta metodológica experimental foi publicada inicialmente no formato de artigo científico na revista *Brazilian Journal of Development* (BJD) (Gonçalves, 2021b). Assim, esse trabalho se trata de um experimento qualitativo de cunho didático.

2.1 Materiais Utilizados na Atividade Prática

- 1 unidade de sal de frutas contendo 100g (encontrado em farmácias);
- CuSO₄ (Sulfato de Cobre – facilmente encontrado em lojas de produtos de piscinas);
- 1 copo americano para preparação do Reagente de Benedict;
- 10 tubos de ensaio (podem ser substituídos por xícaras de café pequenas de vidro bem resistentes, ou seja que suportam altas temperaturas);
- 1 lamparina e álcool (pode ser substituído por uma panela para realização de banho maria no fogão);
- Adoçante Líquido Sucralose;
- Adoçante em pó Eritritol (adquirido em lojas de produtos naturais);
- Amido de milho;
- Farinha de trigo;
- Mel;
- Suco de Manga;
- 1 Cobertura de sorvete (facilmente adquirida em lojas de confeitaria);
- 1 refrigerante de Cola composto por adoçante;
- Açúcar refinado;
- Açúcar Demerara (adquirido em lojas de produtos naturais);
- 1 seringa graduada com 5 ml (facilmente adquiridas em farmácias);
- 1 colher de chá;
- Faca sem ponta;
- 1 caneta de retroprojeter;
- Prendedor grande de roupas em madeira.
- E. P. I (Luvas, óculos de proteção e jaleco).

2.2 Procedimentos

2.2.1 Preparo do Reagente de Benedict

O reagente de Benedict foi preparado segundo protocolo estabelecido por Oliveira et al. (2005). Inicialmente deverá ser aquecido 150 ml de água. Para aquecer a água basta colocá-la durante 30 segundos no micro-ondas, ou então submetê-la tradicionalmente no fogão. No entanto, a água deverá ser morna, tomando-se cuidado para não aquecê-la demais pois poderá prejudicar o reagente. Após o aquecimento da água, adicionar 4 colheres de chá de sal de fruta. Após a solubilização dessa solução, deverá ser adicionado meia colher de chá de CuSO_4 preparada com 5 ml de água quente (medida em uma seringa de plástico de 5 ml). A solução final deve estar transparente, sem grumos com o aspecto mostrado na figura abaixo (Figura 1). Sua coloração irá apresentar um tom azul claro.

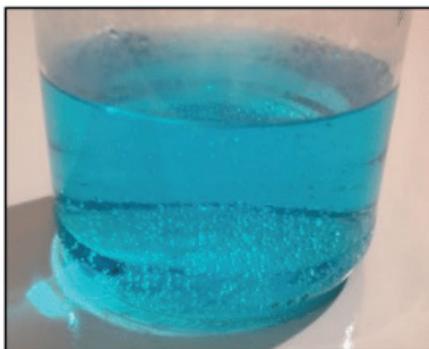


Figura 1. Frasco contendo o reagente de Benedict preparado e pronto para uso.

Fonte: Autor (2021).

2.2.2 Preparo dos Tubos de Ensaio ou dos Copinhos de Vidro Resistentes para Acondicionamento dos Alimentos a Serem Testados

Enumerar os tubos de ensaio com auxílio do marcador de retroprojetor de 1 a 10 como constam no quadro abaixo.

Nº	Alimento/Produto	Nº	Alimento/Produto
1	Sucralose	6	Suco de Manga
2	Eritritol	7	Cobertura de sorvete
3	Amido de milho	8	Refrigerante de Cola composto por adoçante
4	Farinha de trigo	9	Açúcar refinado
5	Mel	10	Açúcar demerara

Quadro 1. Numeração dos tubos de ensaio com seus respectivos alimentos. Legenda: Nº = Numeração dos tubos (tratamentos). Fonte: Autor (2021).

2.2.3 Preparo dos Alimentos nos Tubos de Ensaio

Para os alimentos em pó como (adoçante, amido de milho, farinha de trigo, açúcar refinado e açúcar demerara), colocar 1 colher de chá de cada um deles nos tubos de ensaio e enumerar conforme a tabela 2. O mel e a cobertura de sorvete devem ser previamente diluídos com um pouco de água. Para os alimentos líquidos como o suco de manga (preparado previamente com auxílio de um liquidificador), e o refrigerante de Cola com adoçante, deverão ser adicionados 2 ml das respectivas bebidas no tubo de ensaio. Após colocado todos os componentes nos tubos de ensaio, adicionar 2 ml de água com auxílio da seringa de 5 ml. Na figura 2, encontram-se dispostos os alimentos a serem testados acondicionados no tubo de ensaio. Como alternativa aos tubos, o professor pode utilizar xícaras de vidro resistentes transparentes de 150 ml para acondicionamento dos alimentos.

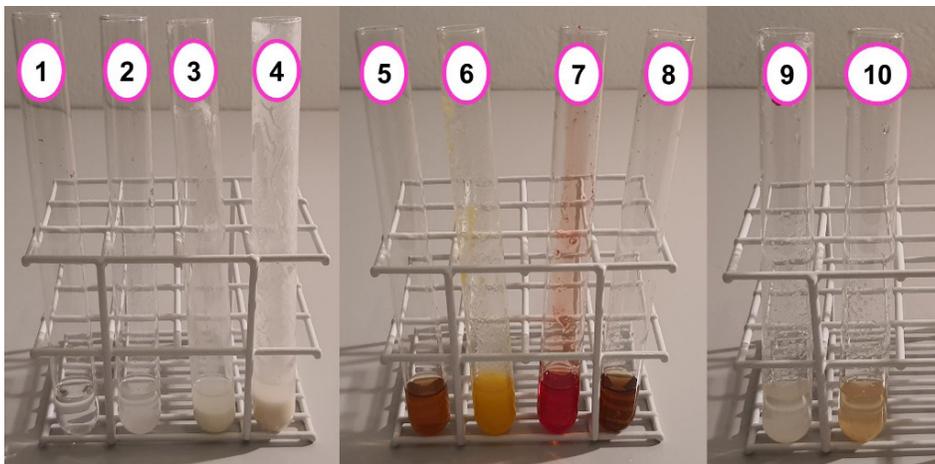


Figura 2. Alimentos acondicionados nos tubos de ensaio enumerados. 1. Sucralose; 2. Eritritol 3; Amido de milho; 4. Farinha de trigo; 5. Mel; 6. Suco de Manga; 7. Cobertura de Sorvete; 8. Refrigerante de Cola com adoçante; 9. Açúcar refinado; 10. Açúcar demerara. Fonte: Autor (2021).

2.2.4 Continuidade do Experimento

Em cada um dos tubos de ensaio deverão ser colocados 2 ml do reagente de Benedict com o auxílio de uma seringa de 5 ml. Agora, afim de tornarmos a aula prática mais versátil e descomplicada, podemos ter duas opções de condução quanto a etapa do aquecimento das reações como é destacado abaixo:

2.2.5 Primeira Maneira: Uso da Lamparina Com os Tubos de Ensaio

Preparar a lamparina, colocando um pouco de álcool no seu interior molhando todo o seu pavio. Com auxílio de um isqueiro ascender a lamparina até a obtenção de uma chama constante. A partir dessa etapa, o professor deve salientar aos alunos para pedirem auxílio

a um adulto, pois o fogo pode causar queimaduras graves. Deve ser ressaltado ainda a utilização de equipamentos de proteção individual (E. P. I) como luvas, jaleco e óculos de proteção. Após acesa a chama, o professor deverá pegar o tubo de ensaio com o auxílio do pregador de madeira e aproximar o fundo do tubo na chama do fogo na lamparina, até que o conteúdo do mesmo mude de coloração, para um tom vermelho tijolo alaranjado. Aqui deve ser tomado muito cuidado pois em detrimento do calor, o conteúdo do tubo pode ser projetado para fora. Assim para evitar acidentes, o tubo de ensaio não deve ser chacoalhado e sua abertura deve ser posicionada levemente inclinada para frente, longe dos olhos. Na figura 3, está evidenciado a maneira correta de segurar o tubo de ensaio na chama da lamparina.

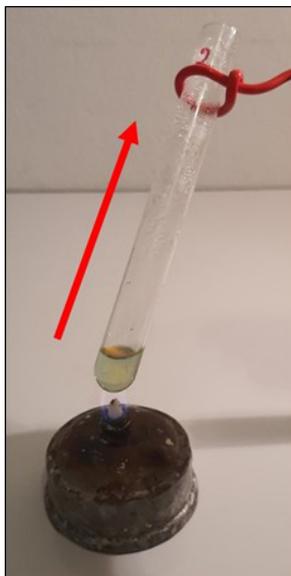


Figura 3. Posição correta para manutenção do tubo de ensaio na chama para condução do experimento. A seta vermelha indica a posição correta para manuseio do tubo, levemente inclinado e longe dos olhos. Na experiência foi improvisado um agarrador de tubo de ensaio confeccionado por meio de um fio elétrico vermelho emborrachado retorcido. Fonte: Autor (2021).

2.2.6 Segunda Maneira: Banho Maria com as Xícaras de Vidro Resistentes

Com os alimentos preparados dentro da xícara juntamente com 2 ml do reagente de Benedict, preparar um banho maria com um pouco de água bem quente. Acondicionar as xícaras dentro do banho maria e esperar cerca de 40 minutos, ou até que os alimentos mudem de coloração, obtendo-se assim uma cor vermelho tijolo alaranjado. Esperar esfriar para retirar as xícaras e pedir para que os alunos anotem os resultados.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tubos de ensaio número 5 (mel), 6 (suco de manga), 7 (cobertura de sorvete), 9 (açúcar refinado) e 10 (açúcar demerara) mudaram sua coloração para a cor vermelho tijolo (alaranjado). Já as amostras de número 1 (sucralose), 2 (eritritol), 3 (amido de milho), 4 (farinha de trigo) e 8 (refrigerante de Cola com adoçante) ficaram com coloração marrom ou não mudaram de cor (figura 4).

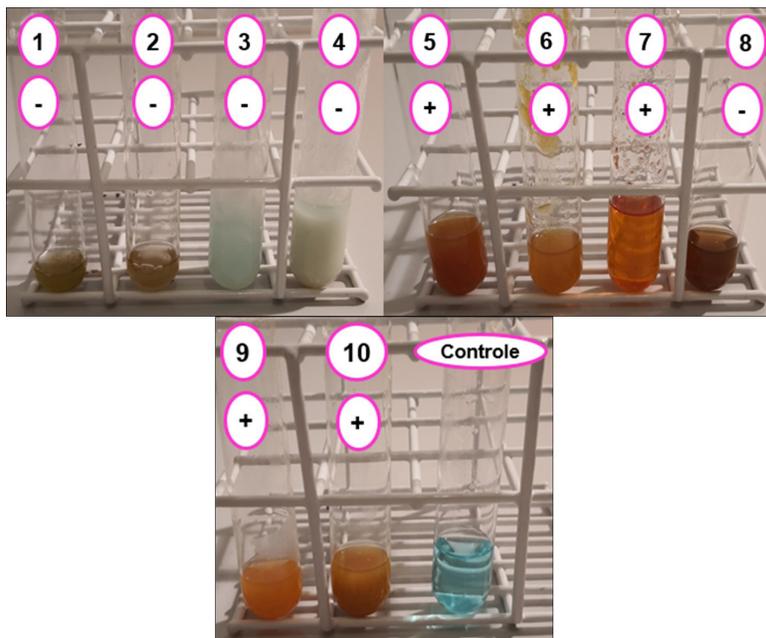


Figura 4. Resultados .1. (-) Sucralose; 2. (-) Eritritol; 3. (-) Amido de milho; 4. (-) Farinha de trigo; 5. (+) Mel; 6. (+) Suco de Manga; 7. (+) Cobertura de Sorvete; 8. (-) Refrigerante de Cola com adoçante; 9. (+) Açúcar refinado; 10. (+) Açúcar demerara. O sinal (+) indica mudança de cor para o vermelho tijolo alaranjado, já o (-) indica ausência dessa cor. Fonte: Autor (2021).

Sugerir aos alunos que anotem os fenômenos ocorridos e escrevam uma tabela comparando o antes e o depois da reação. Nessa etapa da aula, o professor deve explicar aos alunos que a mudança de coloração do azul para o vermelho tijolo (alaranjado) nos alimentos testados está diretamente relacionada com o açúcar de sua constituição. Neles, temos a ocorrência de açúcares redutores que nada mais são do que monossacarídeos que possuem grupos aldeído ou cetona livre, ou seja, eles não estão “ocupados” na ligação glicosídica (TEIXEIRA, 2019). Como exemplo de açúcares redutores temos a glicose, a ribose e a galactose. Já, a sacarose por exemplo não é um açúcar redutor, pois seus carbonos anoméricos 1 e 2 estão ocupados fazendo ligação glicosídica como é mostrado abaixo. Alguns dissacarídeos como a lactose por exemplo é redutor pois possui um carbono anomérico (carbono 1) com OH livre no resíduo de glicose.

Segundo Souza e Neves (2021, sp), “a capacidade que esses compostos apresentam de reduzir íons metálicos em soluções alcalinas é um bom método de identificação desses compostos”. O princípio de ação do reagente de Benedict, se fundamenta no processo de redução de íons Cu^{2+} a Cu^+ , advindos do uso do Sulfato de Cobre (CuSO_4) com formação de um precipitado vermelho (alaranjado). Assim, o que vemos nos tubinhos com a cor avermelhada (alaranjada) nos indica que os íons Cu^{2+} do reagente de Benedict foram reduzidos a Cu^+ , indicando a presença de um açúcar redutor (Souza e Neves, 2021).

3.1 Discutindo Os Resultados no Escopo da Bioquímica e Outras Áreas da Biologia

No tubo de ensaio 1, a sucralose, e no tubo 2, o eritritol, deram negativo para o teste de identificação de açúcares redutores, esse resultado é corroborado, uma vez que esses adoçantes não possuem esse tipo de açúcares em sua composição, sendo formados por sacarose. Explicar aos alunos que a sacarose não possui grupamento cetona ou aldeído livres, portanto não fará redução de Cu^{2+} para Cu^+ , não aparecendo a cor vermelho alaranjado. O mesmo é observado nos tubos 3 e 4 (amido de milho e farinha de trigo respectivamente). No entanto aqui, temos como composição básica o amido. Explicar aos alunos que o amido é um polissacarídeo, formado por vários monossacarídeos como a glicose, assim, todos os seus carbonos estarão ocupados fazendo ligações químicas, formando longas moléculas, não ocorrendo mudança de coloração, permanecendo azuis.

Já, no refrigerante de Cola feito com adoçante (tubo 8), não temos a presença da coloração vermelho tijolo alaranjado, uma vez que podemos ter a presença de edulcorantes. Um edulcorante é uma composição que permite tornar os alimentos adocicados, não possuindo açúcares redutores em suas estruturas. Assim, se forem submetidos ao teste da aula prática proposta, não terão a mudança de coloração para o vermelho tijolo alaranjado.

Ocorreram mudança de coloração para o vermelho tijolo alaranjado, nos tubos, 5, 6, 7, 9 e 10, o que evidencia a presença de açúcares redutores. No entanto, no caso do açúcar refinado (tubo 9) e no açúcar demerara (tubo 10), sua principal composição é a sacarose. Alertar aos alunos que esse resultado deveria ser negativo, uma vez que esses açúcares são formados por sacarose, sendo não redutor. No entanto segundo, Oliveira et al. (2006, p. 42):

Apesar da sacarose ser o principal componente do açúcar comum, o resultado positivo neste teste decorre da pequena presença (inferior a 1%) de glicose e frutose no produto comercial. Ou ainda, o dissacarídeo (sacarose) pode ter sido hidrolisado no meio alcalino, produzindo assim a glicose.

Assim como explicado acima, a coloração do tubo altera para o vermelho tijolo alaranjado. O mesmo podemos dizer sobre o tubo que contém o açúcar demerara.

Outro ponto de grande importância é explicar aos alunos o porquê da utilização do sal de frutas para composição do reagente de Benedict. Segundo, Oliveira et al. (2006, p.

41) “o sal de frutas, é composto por 2,30 g de bicarbonato de sódio, 0,50 g de carbonato de sódio e 2,20 g de ácido cítrico”. Os mesmos autores ressaltam que: “o carbonato e o bicarbonato de sódio presentes no sal de frutas são hidrolisados por ação do ácido cítrico também presente na formulação do sal de frutas, liberando dióxido de carbono e produzindo assim o hidróxido de sódio necessário para a reação de oxidação” (Oliveira et al. 2006, p. 42), que envolve o Cu^{2+} para o Cu^{+} . Além disso, podemos explicar aos alunos que a produção de NaOH torna o meio alcalino, importante para ocorrer a reação.

Após essas explicações serem ressaltadas pelo professor, o mesmo pode discutir com os alunos acerca do conteúdo ministrado nas aulas teóricas sobre a estrutura química dos carboidratos, a ligação química que pode ocorrer dentro deles (ligação glicosídica) além de relembrar aos alunos sua principal classificação bioquímica em quatro categorias como é ressaltado por Sadava et al. (2009), em monossacarídeos, como a glicose, ribose ou frutose; os dissacarídeos que consistem da união de dois monossacarídeos; os oligossacarídeos que são formados por vários monossacarídeos (3 a 20), e os polissacarídeos, tendo como exemplo, o amido, o glicogênio e a celulose. O professor pode ressaltar a importância por exemplo da celulose na constituição química da parede celular das células vegetais, garantindo a elas integridade e resistência. Além disso, pode ser comentado aos alunos sobre a pectina, um outro importante polissacarídeo ramificado que reveste grande parte da parede celular dos vegetais. Esse polissacarídeo é costumeiramente utilizado na indústria alimentícia de doces para dar liga aos alimentos por ter um aspecto gelatinoso.

Em outras áreas da Biologia, a aula prática proposta permite ao docente trabalhar assuntos relacionados a dieta, nutrição e saúde (diabetes). No âmbito da dieta e nutrição, o professor pode chamar a atenção dos alunos que grande parte da nossa alimentação é constituída por carboidratos (sendo eles redutores ou não). Chamar a atenção dos alunos que os carboidratos possuem grande importância na nossa dieta.

Já no âmbito da saúde, o professor poderá explicar sobre o diabetes, que é uma doença causada pela falta ou incapacidade da insulina realizar sua principal função que é a redução de glicose no sangue. Podendo ser classificada em diabetes tipo 1 (quando o organismo é incapaz de produzir o hormônio de insulina pelo pâncreas) e a do tipo 2 (quando o corpo produz insulina, no entanto esse hormônio não penetra nas células para realizar suas funções e se acumula no sangue). (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2016).

Por fim, vale a pena chamar a atenção dos alunos sobre a importância do reagente de Benedict utilizado nessa aula prática em relação a sua aplicação na Medicina. No diagnóstico de doenças metabólicas como o diabetes, como é relatado por Carvalho et al. (2014), a urina do paciente é colhida, a próxima etapa do diagnóstico é adicionar o reagente de Benedict, e com o auxílio do bico de Bunsen (fogo), o tubo de ensaio é submetido até possível mudança de coloração para o tom acastanhado. Se isso ocorrer temos um teste positivo para o diabetes, uma vez que a glicose (açúcar redutor) não foi metabolizada e está presente na urina do paciente.

4 | CONCLUSÕES

No Ensino Médio, na disciplina de Biologia, a abordagem de aulas práticas pode ser de grande importância pois permite facilitar o processo norteador da aprendizagem nos discentes, transpondo na prática o que foi aprendido na teoria. Além disso, permite despertar o lado criativo e científico do aluno, favorecendo a prática da experimentação em ciências.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, W. L.; ARAÚJO, H.C.; CAMPOS, V. N. S.; SALES, J. S.; PEREIRA, M. R. S.; NUNES, S. F. L. C. **DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES NA URINA UTILIZANDO O REAGENTE BENEDICT**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 54^o, 2014, Natal. (Anais).

GONÇALVES, T. M. A guerra imunológica das células contra os patógenos: a proposta de um modelo didático tridimensional de baixo custo para simulação da resposta imune celular mediada por linfócitos T CD8+ / The immunological war of cells against pathogens: the proposal of a low cost three-dimensional didactic model for simulating the immune cellular response mediated by T CD8+ lymphocytes. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n.1, p. p.4854-4860, 2021a. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/23099> Acessado em: 04 de maio de 2021.

GONÇALVES, T. M. Determinação de açúcares redutores em alimentos do cotidiano por meio de uma aula prática no ensino médio / determination of reducing sugars in everyday foods through a practical class in high school. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n.3, p. 22940-22954, 2021b. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/25913/21688> Acessado em: 04 de maio de 2021.

KRASILCHIK, M. **Prática de Ensino de Biologia**. 4^a ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2004.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios da Bioquímica de Lehninger**, 4^a ed, São Paulo: Sarvier; 2006.

OLIVEIRA, R. O.; MARIA, L. C. S.; MERÇON, F.; AGUIAR, M. R. M. P. Preparo e Emprego do Reagente de Benedict na Análise de Açúcares: Uma Proposta para o Ensino de Química Orgânica. **Química Nova na Escola**, n. 23, p. 41-42, 2006. Disponível em: <http://qnesc.s bq.org.br/online/qnesc23/a10.pdf> Acessado em: 04 de maio de 2021.

SADAVA, D. et al. **Vida A Ciência da Biologia. Volume I: Célula e Hereditariedade**. 8^a. ed. Porto Alegre, Ed. Artmed, 461 p. 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2015-2016**. São Paulo, Sociedade Brasileira de Diabetes, 2016. 348p. Disponível em: <https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/docs/DIRETRIZES-SBD-2015-2016.pdf>

Acessado em: 04 de maio de 2021.

SOUZA, K. A. F. D.; NEVES, V. A. **Pesquisa de açúcares redutores: prova de Benedict**. Disponível em: http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/praticas_ch/benedict.htm Acessado em: 04 de maio de 2021.

TEIXEIRA, P. J. P. L. **Carboidratos II** (2019). Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4926092/mod_resource/content/1/04_Carboidratos_II.pdf. Acessado em: 04 de maio de 2021.

VOET, D.; VOET, J.G.; PRATT, C. W. **Fundamentos de bioquímica: A vida em nível molecular**, 2ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2008.

SISTEMAS FOTOBIOELETROQUÍMICOS COMO UMA ALTERNATIVA PARA PRODUÇÃO DE BIOENERGIAS E BIORREMEDIAÇÃO – UMA ABORDAGEM BASEADA EM TECNOLOGIAS LIMPAS

Data de aceite: 01/07/2021

Data da submissão: 04/05/2021

Vanessa Rosana Ribeiro

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental – Universidade de Santa Cruz do Sul (PPGTA-UNISC)
Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul
<http://lattes.cnpq.br/4038484052493248>

Marcondes Mafaciolli Pacheco

PPGTA-UNISC
Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul
<http://lattes.cnpq.br/7184240896539554>

Ênio Leandro Machado

PPGTA-UNISC
Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul
<http://lattes.cnpq.br/6922571767923420>

Tiele Medianeira Rizzetti

PPGTA-UNISC
Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul
<http://lattes.cnpq.br/3374616705744809>

Rosana de Cassia de Souza Schneider

PPGTA-UNISC
Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul
<http://lattes.cnpq.br/9388200003536324>

Lisianne Brittes Benitez

PPGTA-UNISC
Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul
<http://lattes.cnpq.br/2698873972300996>

RESUMO: Na contemporaneidade há uma crescente preocupação com a crise global de energia e seu impacto sobre o meio ambiente, impulsionando as pesquisas sobre produção de energias a partir de tecnologias mais limpas. Os sistemas fotobioeletroquímicos (PBES), podem ser uma alternativa para a recuperação de energia e ainda proporcionam a biorremediação de águas residuárias e a produção de biomassa de alto valor agregado. Este estudo buscou reconhecer os aspectos que indicam as potencialidades e as limitações dos PBES como uma tecnologia limpa e promissora para a produção de biocombustíveis e bioeletricidade. A partir de uma ampla análise bibliométrica sobre sistemas fotobioeletroquímicos, observou-se uma tendência de aumento nas pesquisas envolvendo a geração de diferentes bioenergias, a síntese de bioprodutos e a biorremediação de águas residuárias, concluindo-se, portanto, que os PBES, como sistemas alternativos, são promissores e ambientalmente amigáveis.

PALAVRAS - CHAVE: Tecnologias Limpas. Sistemas Bioeletroquímicos. PMFCs. MFCs. Desenvolvimento Sustentável.

PHOTOBIOELECTROCHEMICAL SYSTEMS AS AN ALTERNATIVE FOR BIOENERGIES PRODUCTION AND BIORREMIATION – CLEAN TECHNOLOGIES APPROACH

ABSTRACT: Nowadays, there is a growing concern with the global energy crisis and environmental impacts, driving research on energy production from cleaner technologies. Photobioelectrochemical systems (PBES), can

be an alternative for energy recovery and still provide a bioremediation of wastewater and a high added value biomass production. This study sought to recognize the aspects that indicate the potential and limitations of PBES as a clean and promising technology to produce biofuels and bioelectricity. From a wide bibliometric analysis on photobioelectrochemical systems, an increasing trend was observed in research involving the generation of different bioenergies, synthesizing bioproducts and the bioremediation of wastewater, concluding, therefore, that PBES, as alternative systems, are promising and environmentally friendly.

KEYWORDS: Clean Technologies. Bioelectrochemical systems. PMFCs. MFCs. Sustainable Development.

1 | INTRODUÇÃO

Há uma crescente preocupação com a crise global de energia e seu impacto sobre o meio ambiente, o que leva a uma mudança do atual paradigma de desenvolvimento para uma busca por tecnologias limpas (CHEN *et al.*, 2019). Para atingir as metas de sustentabilidade os países precisarão disponibilizar planos e ações políticas sólidas para o uso de energia renovável, especialmente energia solar, eólica e a partir de biomassa (CHILD *et al.*, 2018).

Neste contexto, tem-se a busca por novas alternativas para a substituição de combustíveis fósseis, uma vez que estes combustíveis são recursos finitos e sua utilização provoca a emissão de poluentes atmosféricos altamente prejudiciais ao meio ambiente e à saúde pública (KABUTEY *et al.*, 2019).

Existe um crescente interesse na transição econômica para reduzir a geração de carbono, em que vários países e regiões buscam adotar tecnologias limpas por meio de uma série de políticas. Em alguns países desenvolvidos e em desenvolvimento há subsídios governamentais que isentam de impostos empresas que apresentem inovação tecnológica. Por exemplo, os EUA fornecem subsídios e garantia de empréstimos para projetos de tecnologias limpas (YANG *et al.*, 2020). Portanto, o investimento em tecnologias limpas se beneficia em termos de redução de impostos ambientais e estímulo à demanda sensível de emissões (SHI *et al.*, 2019).

Na próxima década espera-se que seja intensificada a produção de energias alternativas (SARATALE *et al.*, 2017). Entre as possibilidades, as células de combustível microbianas (MFCs, do inglês *microbial fuel cells*) envolvendo organismos fotossintéticos podem sair do campo de pesquisa e efetivamente passa a ser uma fonte de energia renovável cíclica, onde ocorre a recuperação sustentável de carbono (FISCHER, 2018).

As MFCs tem potencialidade de oferecer uma alternativa econômica aos processos convencionais de tratamento de águas residuárias, uma vez que pode ser realizada a biorremediação e a geração de bioeletricidade (KABUTEY *et al.*, 2019). Na última década houve um crescente interesse nos estudos e aplicações sobre o uso de células de combustível microbianas de plantas (PMFCs, do inglês *plant microbial fuel cells*) para tratar

ecossistemas poluídos e gerar bioenergia (SHAIKH *et al.*, 2020).

Estes sistemas são totalmente bióticos, apresentam uma relação rizosférica entre planta e microrganismo capaz de converter energia solar em bioeletricidade. Neste sistema, biofilmes bacterianos que podem estar integrados a conversões fotossintéticas são capazes de gerar eletricidade e produção simultânea de biomassa, sendo um mecanismo de recuperação sustentável na captação de carbono e sua reutilização para a produção elétrica no mesmo sistema (GAJDA *et al.*, 2015).

As MFCs com a participação de organismos fotossintéticos são sistemas fotobioeletroquímicos (PBES, do inglês *photobioelectrochemical systems*) que se destacam como uma inovação com vários benefícios que convergem para um sistema sustentável. Nas células de combustível, acontece uma integração de microalgas e cianobactérias, em que ocorre a oxidação microbiana da matéria orgânica (LUO *et al.*, 2017). Ainda os estudos com PBES foram expandidos em questão de aplicabilidade e do avanço das tecnologias de membranas desenvolvidas para a purificação de água associado à geração de energia (YANG, E. *et al.*, 2019). Esses aspectos tornam as células de combustível atrativas para o tratamento de águas residuais.

Kabutey *et al.* (2019) afirmam que reconhecer estas tecnologias como limpas é um caminho para a valorização das iniciativas de aumento de escala e instalação. O desenvolvimento de novas tecnologias energéticas limpas, eficientes e economicamente viáveis é resultado de esforços multidisciplinares.

Além disso, a transição do modelo de produção de energia convencional para energias alternativas limpas é um elemento importante para alcançar os objetivos do desenvolvimento sustentável da Organização das Nações unidas (ONU) (CHEN *et al.*, 2019). Então essa conversão tecnológica, da produção de energias convencionais para alternativas, pode ter contribuições das MFCs.

Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar um estudo bibliométrico para compreender o quanto os sistemas PBES, estão associados a tecnologias limpas e destacar a importância do aproveitamento integral do sistema e produtos derivados para a produção de energia e biorremediação.

2 | METODOLOGIA

Foram utilizadas 3 bases de dados (*Scopus*, *Science Direct* e *Web of Science*) para as buscas de publicações contendo os sistemas fotobioeletroquímicos. Os documentos encontrados nestas bases foram tratados no software *Endnote* x9 para retirada de duplicações e as palavras-chave foram organizadas no software Excel para a construção de uma planilha de convergência de similaridades denominada *Thesaurus* antes da construção dos *clusters* no Software *VOSviewer* 1.6.15.

Documentos originais em língua inglesa, referentes aos últimos 10 anos, foram

utilizados na pesquisa com os termos definidos na Tabela 1. Ainda, com base na pesquisa de documentos relacionados ao tema, foram analisados os principais autores que atuam na área e países que mais exploram o tema foram apresentados.

Além disso, com base na pesquisa de documentos relacionados ao tema foram analisados os principais autores que atuam na área e países que mais exploram o tema foram apresentados.

Sistema	Sigla	Aplicação	Referência
· <i>Microbial Fuel Cell</i>	MFC		(CAPODAGLIO <i>et al.</i> , 2013)
· <i>Algal Bioelectrochemical System</i>	Algal-BES		(SEVDA <i>et al.</i> , 2019)
· <i>Microalgae Microbial Fuel Cell</i>	MMFC		(HADIYANTO <i>et al.</i> , 2020)
· <i>Sludge Microbial Fuel Cell</i>	SMFC	Tratamento de águas residuárias e geração de bioeletricidade	(MOQSUD; KHONG, 2020)
· <i>Floating Treatment Wetland Microbial Fuel Cell</i>	FTW-MFC		(COLARES <i>et al.</i> , 2020)
· <i>Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket Reactor–Microbial Fuel Cell</i>	UASB-MFC		(ZHANG <i>et al.</i> , 2012)
· <i>Catalyst-Less and Mediator-Less Membrane Microbial Fuel Cell</i>	CAML-MMFC		(MANSOORIAN <i>et al.</i> , 2016)
· <i>Plant Microbial Fuel Cell</i>	P-MFC		(SHAIKH <i>et al.</i> , 2020)
· <i>Airlift-photosynthetic microbial fuel cell</i>	AL-PMFC		(LI <i>et al.</i> , 2019)
· <i>Microbial Electrolysis Cell</i>	MEC		(HAN <i>et al.</i> , 2021)
· <i>Microbial Electrolysis Cell-Reverse Electrolysis Hybrid System</i>	MEC-RED		(JWA <i>et al.</i> , 2020)
· <i>Continuous Stirred Microbial Electrolysis Cell</i>	CSMEC	Tratamento de águas residuárias, geração de bioeletricidade, produção de biohidrogênio e metano	(QUASHIE <i>et al.</i> , 2021)
· <i>Microbial Electrolysis Cell Integrated into a Constructed Wetland</i>	CW-MEC		(SRIVASTAVA <i>et al.</i> , 2018)
· <i>Microbial Electrolysis Cell Assisted Anaerobic Digester</i>	MEC-AD		(XU, S. <i>et al.</i> , 2019)
· <i>Microbial Electrolysis Cell-Fenton System</i>	MEC-Fenton		(LI <i>et al.</i> , 2017)
· <i>Microbial Electrolysis Cell-Anaerobic Membrane Bioreactor</i>	MEC-AnMBR		(DING <i>et al.</i> , 2018)
· <i>Microbial Desalination Cell</i>	MDC		(TAWALBEH <i>et al.</i> , 2020)
· <i>Photo-Microbial Desalination Cell</i>	PMDC		(LIANG <i>et al.</i> , 2016)
· <i>Ozone-Cathode Microbial Desalination Cell</i>	OCMDC	Tratamento de águas residuárias, dessalinização e geração de bioeletricidade	(GHOLIZADEH <i>et al.</i> , 2017)
· <i>Ultra Filtration Membrane in Photo Electrocatalytic Desalination Cell</i>	UF-PEDC		(RAHMANINEZHAD <i>et al.</i> , 2020)
· <i>Submerged Microbial Desalination–Denitrification Cell</i>	SMDDC		(ZHANG; ANGELIDAKI, 2013)
· <i>Tacked Microbial Electro-Deionization Cell</i>	SMEDIC		(SHEHAB <i>et al.</i> , 2014)

Tabela 1. Identificação e aplicação de sistemas bioeletroquímicos publicados nos últimos 10 anos.

3 I SISTEMAS FOTOBIOELETROQUÍMICOS (PBES) – ABORDAGEM GERAL

Os PBES oferecem uma alternativa para o tratamento de efluentes com recuperação de bioenergias e consequente produção de biomassa. Os PBES são transdutores bioeletroquímicos que empregam organismos fotossintéticos para gerar oxigênio, metabólitos orgânicos e também elétrons (WANG *et al.*, 2018). Os microrganismos são os principais agentes na operação destes sistemas, onde as microalgas atuam em conjunto com as bactérias anódicas, que geram CO_2 e eletricidade, e as microalgas fornecem oxigênio (aceptor de cátions) e consomem N e P do meio (LUO *et al.*, 2017) conforme Figura 1.

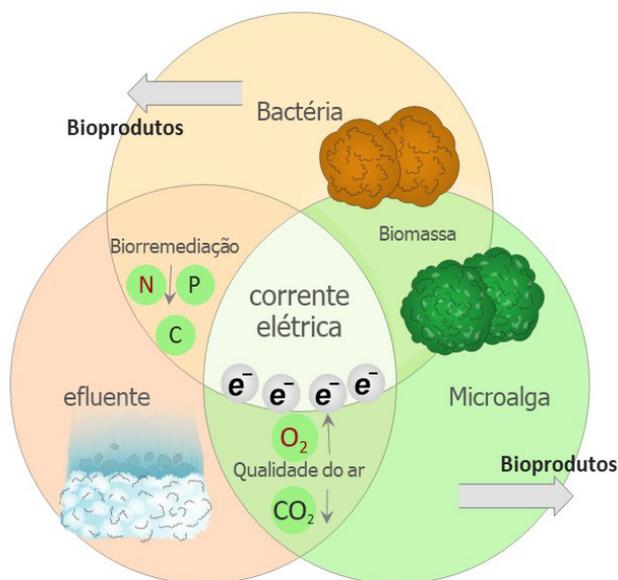


Figura 1. Representação dos benefícios do sistema fotobioeletroquímico.

Os sistemas PBES são utilizados há várias décadas para o tratamento de efluentes e geração de bioproductos. Contudo, o desenvolvimento de novas tecnologias cresceu em busca de melhorar a eficiência com diferentes configurações ambientalmente amigáveis. A base Scopus apresenta dados a partir da busca por “*bioelectrochemical systems*” em que, de 1999 a 2009 haviam sido publicados 23 artigos sobre o tema, e somente no ano de 2010 praticamente duplicou este número, com um total de 37 artigos científicos publicados. Desde então, tem sido crescente o número de estudos com base nestes sistemas, totalizando 1.602 artigos publicados sobre o tema nos últimos 10 anos.

Neste período destacam-se as MFCs associadas a organismos fotossintéticos, principalmente plantas adicionadas aos jardins filtrantes construídos para tratamento de águas residuárias. A partir das pesquisas realizadas nas bases de dados *Scopus*, *Science*

Direct e Web of Science utilizando as palavras-chave “*plant microbial fuel cell*” houve a formação de três *clusters* (Figura 2):

- (i) *cluster* rosa: sistemas de células de combustível contendo microrganismos ou microrganismos e plantas;
- (ii) *cluster* verde: geração de bioeletricidade e tratamentos de águas residuárias;
- (iii) *cluster* azul: o metabolismo microbiano e de plantas na geração de bioenergia.

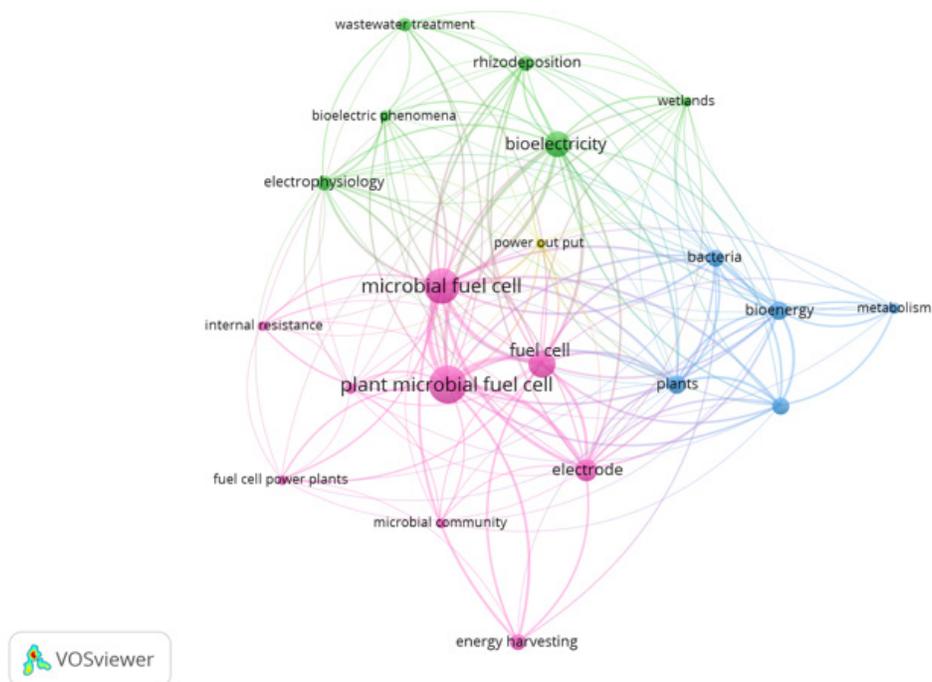


Figura 2. Figura gerada a partir das palavras-chave, *plant microbial fuel cell*. Base de dados Scopus, Science Direct e Web of Science, 2010-2020.

A presença destacada da tecnologia *fuel cell* e dos sistemas PMFC e MFC no *cluster* rosa e a grande quantidade de relações estabelecidas com os demais *clusters* deve-se possivelmente ao seu potencial de uso na geração de energias limpas e no tratamento de águas residuais.

A bioeletricidade, evidenciada no *cluster* verde, sugere que nas pesquisas publicadas nas bases de dados levantadas neste estudo a utilização de sistemas contendo células de combustível resultaram na produção de energia a partir do metabolismo microbiano isolado ou em conjunto com plantas.

Para o desenvolvimento de sistemas híbridos, um PMFC pode ser acoplado a um fotobiorreator (YANG, Z. *et al.*, 2019). Além disso, nos sistemas integrados podem ser utilizadas superfícies de sensores transparentes como partes integrantes do design dos

dispositivos de biossensor, permitindo que a luz penetre sem prejuízos nesses componentes fotossintéticos (ANTONACCI; SCOGNAMIGLIO, 2020).

Neste contexto, pesquisando “*photosynthetic microbial fuel cell*” obtêm-se documentos associados a palavras que compõem a Figura 3 (A). Observa-se a formação de *clusters* que indicam a importância de estudos científicos que compreendem a presença de bactérias e cianobactérias nos sistemas (1); o tratamento de águas residuárias e as relações com comunidades microbianas (2); microalgas e produção de biomassa (3); e, fotossíntese e eletrodos (4). As microalgas em destaque (B) estão associadas principalmente a produção de biomassa, tratamento de efluentes e à produção de bioeletricidade.

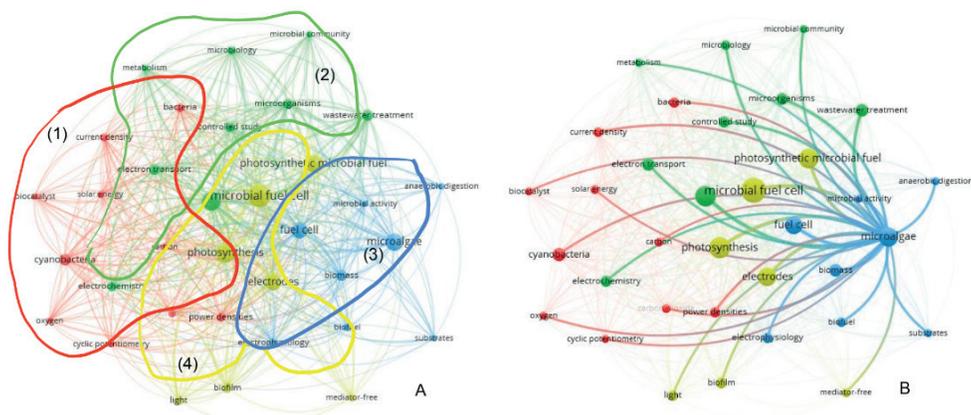


Figura 3. Clusters obtidos a partir da pesquisa com *photosynthetic microbial fuel cell*.

PBES do tipo MMFC (do inglês, *microalgae-microbial fuel cell*) provaram ser efetivos na geração de eletricidade e tratamento de águas residuais simultaneamente. Apesar da sua eficiência, estes sistemas ainda apresentam algumas barreiras para o funcionamento. Uma delas é o alto custo de alguns tipos de materiais utilizados no eletrodo. Outras barreiras são a diferença de atividade entre organismos autotróficos e heterotróficos, e a presença de compostos em suspensão, que tendem a aumentar a turbidez e reduzir a incidência de luz na cultura microalgal, diminuindo a taxa de crescimento (ELSHOBARY *et al.*, 2020). Ainda, para a aplicação comercial dos PBES em geral, a baixa produção de corrente elétrica, estabilidade baixa de fornecimento a longo prazo, escala de processamento limitada e custo de construção do reator são limites a serem vencidos para a viabilização dos sistemas (YAN *et al.*, 2020).

Por outro lado, o rápido crescimento e a eficiência fotossintética de muitas espécies de microalgas permitem que se obtenham maiores rendimentos de biomassa em comparação com culturas terrestres, assim, a utilização de microalgas na biorremediação de efluentes com consequente produção de energia, é promissora para enfrentar os desafios futuros

de energia e sustentabilidade (LAURENS *et al.*, 2017; SABA *et al.*, 2017). Na Figura 4 podem ser vistos os benefícios do sistema PBES com a formação e consumo de gases e nutrientes, produção de uma corrente elétrica e biomassa. A biomassa é matéria prima para uso industrial ou pode ser incorporada ao solo como biofertilizante.

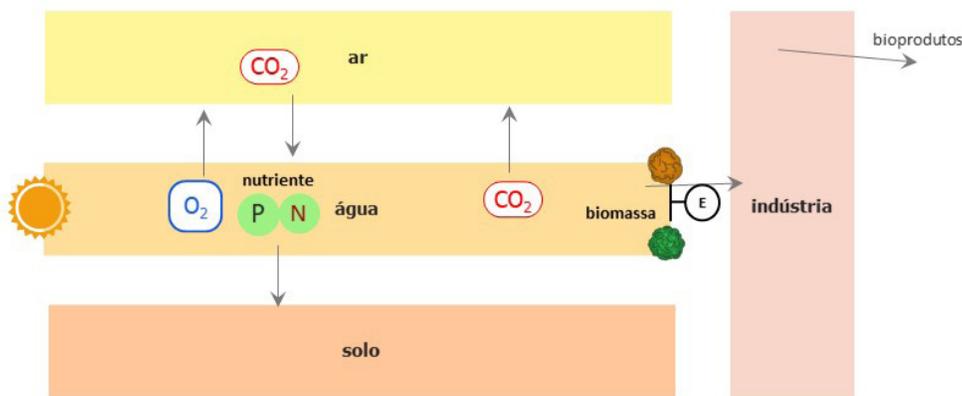


Figura 4. Principais entradas e saídas de um sistema PBES.

Os PBES do tipo PMFCs de áreas alagadas são capazes de remediar águas residuárias e gerar bioeletricidade. No entanto, os PMFCs produzem baixa potência em comparação com a produção de energia teórica estimada de $3,2 \text{ mW m}^{-2}$ de área geométrica de cultivo ($280.000 \text{ kWh ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$). Algumas limitações são causadas pela deposição de matéria orgânica pela oxidação das bactérias eletroquimicamente ativas (EABs, do inglês *electrochemically active bacteria*) e maior resistência interna no ânodo. Uma melhor eficiência no desempenho do sistema PMFC se dá com o estudo de novas configurações de biorreatores e também com a escolha de espécies de plantas com alta rizodeposição e EABs com alta capacidade metabólica (transferência extracelular de elétrons) (PAMINTUAN *et al.*, 2019).

Descobertas recentes impulsionaram para a geração de fotossíntese artificial, em PBES que apresentam novos cátodos e foto-ânodos enzimáticos. Estes dispositivos, completamente auto-alimentados por energia solar são eficientes e estáveis (MAJUMDAR *et al.*, 2017). Além disso, inovações são observadas na engenharia de PBES, como o desenvolvimento de uma nova célula do tipo transporte aéreo (AL-PMFC, do inglês *airlift-photosynthetic microbial fuel cell*) usando *Chlorella vulgaris* para fixar CO_2 e gerar bioenergia (bioeletricidade e biodiesel) (LI *et al.*, 2019).

Ainda Kabutey *et al.* (2019) relatam que a PMFC se tornará um processo alternativo de geração de bioeletricidade e poderá resolver os problemas de escassez de energia e deterioração ambiental quando for ampliada e aplicada *in-situ*. A fitorremediação em PMFC traz consigo a competência de geração de energia e também a remoção de poluentes,

como por exemplo, metais.

Devido a todos os processos envolvidos de remediação e produção de energia e bioprodutos, os PBES estão sendo desenvolvidos por diferentes áreas da ciência. O principal setor envolvido segundo dados da base de dados Scopus é a Ciência Ambiental (20%), Engenharia Química (16,4%) e Química (14,9%) uma vez que os sistemas inicialmente foram desenvolvidos para biorremediação de efluentes, com o objetivo de diminuir a carga poluidora ambiental dos sistemas testados.

4 | TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS EM PBES

A expansão de aplicações da tecnologia de células de combustível microbianas ultrapassou o potencial de geração de bioeletricidade, e recebe mais atenção para o tratamento de efluentes contendo corantes, metais pesados, lixiviados, nitrogênio, sulfato e efluentes ricos em sulfeto, entre outros, além do foco da recuperação de nutrientes (N e F), como fosfato e estruvita, juntamente com oligoelementos (KUMAR *et al.*, 2019).

A integração de tratamento ecológico empregando microrganismos fototróficos em sistemas PBES tem a vantagem de compensar a deficiência de capacidade em remover nutrientes e catalisar a produção de eletricidade a partir de águas residuárias. Em comparação a sistemas de tratamento de águas residuárias convencionais, os PBES apresentam uma série de vantagens inerentes, como o uso reduzido ou nulo de produtos químicos, a não geração de odores desagradáveis, a facilidade de operação e baixo custo, e ainda são considerados ecologicamente complexos, ambientalmente corretos e mecanicamente simples (HE *et al.*, 2017).

Em PBES s utilizando águas residuárias, microrganismos heterotróficos metabolizam a matéria orgânica, degradando-a, e produzindo gás carbônico e bicarbonatos, que por sua vez são assimilados por organismos fotossintetizantes (SIVASANKAR *et al.*, 2018). Esse sistema também é efetivo no tratamento de efluentes de diferentes fontes residuais, como por exemplo, a biodegradação de poluentes refratários, corantes, metais pesados, lixiviados, nitrogênio, sulfato e efluentes ricos em sulfeto, entre outros (FISCHER, 2018). A biorremediação em MFC é uma tecnologia promissora para o tratamento de águas residuais e produção de energia renovável, a qual poderá ser de baixo custo (KHALILI *et al.*, 2017; KUMAR *et al.*, 2019).

No entanto, uma das principais limitações associadas à operação do PBES no tratamento de águas residuárias é a remoção limitada de nutrientes pelas bactérias presentes na câmara anódica. A integração de microrganismos fotossintetizantes como microalgas a estes processos, como por exemplo, a introdução de microalgas no compartimento catódico, apresenta-se como uma alternativa tecnológica viável para superar esta e outras limitações, uma vez que as necessidades nutricionais e químicas das microalgas são em geral menores, embora tenham como característica o elevado potencial de assimilação de

nutrientes de meios aquosos, oferecendo assim oportunidade para o tratamento avançado de águas residuárias (REDDY *et al.*, 2019).

Os PBES por empregarem microrganismos fotossintetizantes, efetuam concomitantemente além da assimilação e metabolização de contaminantes orgânicos presentes em águas residuárias, o sequestro e fixação de CO_2 e outros poluentes gasosos, exercendo assim função de grande relevância no controle da poluição atmosférica (ENAMALA *et al.*, 2018).

O sistema pode ser aberto ou fechado, as águas residuais são usadas como um meio de cultivo para degradação orgânica no lado anódico, e então o efluente é descarregado em biorreatores para ser meio de cultivo para recuperação e aproveitamento da biomassa (XIAO; HE, 2014). Onde a biomassa obtida pode ser utilizada para geração de bioprodutos. E ainda podem ser aplicados diferentes microrganismos para remoção de poluentes, sejam, poluentes farmacêuticos, industriais, domésticos e até mesmo poluentes atmosféricos.

5 | BIOPRODUTOS A PARTIR DE PBES

Uma abordagem promissora para a produção de energia limpa é através do uso de microrganismos para converter compostos orgânicos em energia. Os PBES aproveitam o conteúdo energético encontrado na matéria orgânica contida em águas residuárias em formas mais facilmente aproveitáveis, como o caso dos biocombustíveis (GAJDA *et al.*, 2013).

Os processos envolvidos em PBES são baseados nos processos metabólicos microbianos onde ocorre principalmente a redução de CO_2 em CH_4 podendo produzir energia elétrica (FU *et al.*, 2020). Estes sistemas são compostos principalmente por duas câmaras: um compreende ao lado anódico onde a água se divide em O_2 , H^+ e e^- , e o outro em um lado catódico onde o CO_2 é reduzido em CH_4 pelos microrganismos que compõe a câmara. Comumente é utilizada uma membrana de troca catiônica que separa os compartimentos anódico e catódico (GEPPERT *et al.*, 2016).

A obtenção de biocombustíveis a partir de microalgas tem sido sugerida como uma forma competitiva de desenvolvimento de energia renovável e sustentável, com as principais vantagens de implicar uso de menor volume de água para seu cultivo em comparação com plantas, além de possibilitarem melhorias em termos de impactos ambientais como a eutrofização através do uso de águas residuárias como meio de cultivo e fonte de nutrientes (MA *et al.*, 2017).

A eletrólise da água pode ser realizada em BES com diferentes métodos como, fotofermentação, gaseificação e também com aplicação de microalgas. As tecnologias de células de eletrólise microbianas estão sendo desenvolvidas e estudadas focando na produção eficaz de hidrogênio verde e a estabelecer uma economia viável de hidrogênio (YANG *et al.*, 2021).

5.1 Bioeletricidade

As MFCs são uma das poucas tecnologias que são capazes de capturar a resposta metabólica microbiana, transformando-a em corrente elétrica, devido aos microrganismos serem muito sensíveis, característicos e precisos do seu próprio ambiente (SANTORO *et al.*, 2017).

A geração de bioeletricidade nas MFCs é ocasionada pelo fluxo de elétrons a partir do metabolismo bacteriano que atua na degradação dos compostos orgânicos (KUMAR *et al.*, 2017). Onde, os elétrons gerados no processo são transferidos direta ou indiretamente com a ajuda de mediadores para o eletrodo, passa do ânodo para o cátodo com a difusão de prótons através de uma membrana de troca de íons, o fluxo de elétrons dá origem à bioeletricidade e sua eficiência bioeletroquímica pode então ser testada (LIN *et al.*, 2014). A adesão bacteriana no ânodo é um dos fatores que mais influenciam na eficiência na transferência de elétrons entre as bactérias e o eletrodo, logo é recomendável a utilização de bactérias com alta taxa de produção de biofilme (HINDATU *et al.*, 2017).

LI *et al.* (2018) representa um MMFC usando uma membrana permeadora de H⁺. No ânodo ocorre a reação de biodegradação da matéria orgânica formando CO₂ e elétrons. A diferença de potencial com a câmara catódica permite uma corrente, uma vez que nesta câmara ocorrem reações com o oxigênio gerado na fotossíntese, o qual utiliza elétrons provenientes da câmara anódica.

Uma comunidade bacteriana capaz de se adaptar às flutuações do estresse ambiental e a disponibilidade de nitrogênio são importantes para melhorar o desempenho dos PBES (IFTIMIE; DUMITRU, 2019). Da mesma forma, o aumento da proporção N/C na superfície do eletrodo pode ajudar a melhorar a sua hidrofiliabilidade, a adesão bacteriana e conseqüentemente a geração de energia (MA *et al.*, 2016). Portanto, tratamentos com amônia para aumentar o teor de nitrogênio anódico são estudados, segundo o autor são um caminho para melhorar o desempenho das MFCs (SAITO *et al.*, 2011). As microalgas, organismos fotossintéticos tendem a remover fósforo e, portanto, tem uma influência positiva no tratamento de águas residuais (HOU *et al.*, 2016; XU, B. *et al.*, 2019).

Ademais, consórcios microbianos que usam microalgas e bactérias também recebem destaque na produção de bioeletricidade e biorremediação. Oferecem vantagens na síntese de produtos de alto valor agregado fixando carbono, nitrogênio e fósforo na biomassa e produzindo oxigênio (SARATALE *et al.*, 2017).

5.2 Produção de gases

O hidrogênio molecular (bio-H₂) é considerado um combustível limpo e promissor devido ao seu alto conteúdo de energia por unidade de massa (142MJ Kg⁻¹ e poder calorífico de cerca de 3042 cal m⁻³) e por sua composição livre de carbono. A fotossíntese é responsável pelo primeiro passo na conversão de luz em energia química e elétrons,

portanto, responsável pela produção de H⁺ e elétrons empregados na biossíntese e geração de bio-H₂ (MARTÍN DEL CAMPO *et al.*, 2014).

Microalgas exibem grande potencial de geração sustentável de bio-H₂ de forma direta a partir do metabolismo de compostos orgânicos em fotobiorreatores diversos, incluindo PBES, ou indiretamente através do processamento da biomassa microalgal recuperada após seu crescimento (RAHEEM *et al.*, 2018; SHUKLA; KUMAR, 2018). Microrganismos como as microalgas, bactérias e arqueas vem sendo utilizadas na produção e modernização tecnológica de biogás, sejam eles metano ou hidrogênio (WANG *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2020). Existem sistemas MFC produtores de metano, onde as bactérias metanogênicas utilizam o dióxido de carbono e elétrons produzidos, para converter em gás metano (GEPPERT *et al.*, 2016).

Modernas tecnologias de produção do biogás vêm se desenvolvendo rapidamente nos últimos anos, como tecnologias físicas, químicas e biológicas, entre as quais as tecnologias com processos físicos e biológicos são mais amplamente utilizadas tendo em vista que o processo biológico pode reciclar o CO₂ e transformar em novos produtos (FU *et al.*, 2020).

5.3 Biocombustíveis de biomassa

PBES também produz direta e indiretamente a energia na forma de biocombustíveis derivados da biomassa colhida ou recuperada destes sistemas. Biomassas de microalgas são ricas em biocompostos como carboidratos, proteínas e lipídios, que apresentam grande potencial e versatilidade na conversão em uma diversidade de biocombustíveis, quer sejam líquidos, sólidos ou mesmo gasosos, dentre os quais se destacam o biodiesel, o bioetanol, o biogás e o *biochar*, os assim denominados combustíveis de terceira geração (SRIVASTAVA, 2019).

A produção de biocombustíveis ocorre mediante a extração de componentes e conversão em biocombustíveis como por fermentação e transesterificação, para a obtenção de bioetanol e biodiesel, respectivamente (ONUMAEGBU *et al.*, 2018). Outra abordagem é a exploração deste potencial de geração de energia por meio da conversão direta da biomassa aplicando-se técnicas termoquímicas de processamento, como pirólise e gaseificação (SANCHEZ-SILVA *et al.*, 2013).

6 | LIMITAÇÕES, ESCALABILIDADE E PERSPECTIVAS FUTURAS

As tecnologias PBES são amplamente reconhecidas pela geração de eletricidade sustentável a partir do tratamento de efluentes. Entretanto, esta tecnologia apresenta uma série de limitações que desafiam a sua sustentabilidade no que diz respeito ao equilíbrio econômico entre investimento e produção. O custo de capital é considerado um dos principais inconvenientes para comercializar esta tecnologia no campo da geração de bioeletricidade e no tratamento de águas residuais (PALANISAMY *et al.*, 2019).

Os desafios para utilizar a tecnologia PBES em aplicações práticas e ampliação da escala estão diretamente associados a torná-los mais sustentáveis, o que implica na melhoria do desempenho destes sistemas. O desenvolvimento de tecnologias PBES requer a seleção de materiais adequados para a confecção de eletrodos e de membrana eficientes a fim de coletar a máxima energia possível disponibilizada pelo sistema com baixo custo, para viabilizar sua aplicação em ampla escala. No tratamento de águas residuárias, o principal desafio é aumentar a relação de energia ao volume de efluente tratado, que pode ser obtida aumentando-se a capacidade (volume) do MFC ou ampliando o arranjo dos eletrodos em série ou paralelo (DAS, 2017).

Segundo Gajda *et al.* (2018), existem várias maneiras de testar protótipos de grande escala. Uma delas é a integração do sistema MFC com uma instalação de tratamento de águas residuárias. Song *et al.* (2010) reportam viabilidade na utilização de sistemas de MFC em sistemas de tratamento de águas residuárias se a densidade de potência obtida for na ordem de 124 W m^{-3} . Para tanto testaram maiores dimensões do eletrodo de grafite e o número de células empilhadas sem acréscimo de resistência Ôhmica.

Sevda *et al.* (2019) sustentam que para atingir o estágio de comercialização, sistemas PBES devem integrar o aproveitamento da biomassa, da bioeletricidade e biorremediação. Ainda, segundo os autores, mais investigações devem ser conduzidas no campo da bioquímica e da microbiologia genômica no sentido de se identificar cepas de microalgas de maior potencial eletrogênico e menos dependentes de iluminação para a geração de bioeletricidade.

Sistemas do tipo MMFC ainda estão em um estágio inicial de desenvolvimento e, devido a sua complexidade, carecem de integração com outros sistemas, controle e otimização de processos. Para Zhang *et al.* (2019), ainda são necessários muitos estudos para aumentar a escala.

No intuito de superar algumas deficiências e limitações da combinação de técnicas envolvendo microalgas e microrganismos heterotróficos anaeróbios Xiao e He (2014) sugerem que os PBES sejam projetados para converter energia fotoelétrica em energia elétrica através da degradação da biomassa de algas e que a biomassa obtida possa ser utilizada para produção de biogás. Também destacam a importância da aplicação catódica de microrganismos fotossintéticos para suprimento de oxigênio *in situ* e melhor tratamento de efluentes.

Segundo Elmekawy (2014), houve um avanço na biologia molecular nas últimas décadas, portanto os genomas de vários microrganismos foram sequenciados. Assim, os próximos estudos devem focar mais nas análises genômicas, a fim de esclarecer as interações fisiológicas e genéticas e fornecer uma compreensão profunda dos mecanismos moleculares que motivam as interações microbianas e funções relacionadas.

71 CONCLUSÃO

Considerando o potencial de uso da tecnologia que emprega as células de combustível, a análise bibliométrica sobre os PBES confirmou uma tendência de aumento nas pesquisas sobre a geração de energia e remediação de águas residuárias por meio destes sistemas.

A partir dos PBES podem ser desenvolvidos sistemas com diferentes configurações para a geração de bioprodutos como bioeletricidade, biometano e biohidrogênio.

Os sistemas PMFC, que associam plantas e microrganismos, podem ser uma solução promissora para utilização em escalas maiores que as de bancada, com a vantagem de utilizarem organismos de elevada diversidade metabólica e excelente desempenho na geração de bioenergias.

A bioeletricidade representa uma alternativa complementar a outros sistemas de geração de energia, especialmente quando há interesse no uso de uma matriz energética limpa.

REFERÊNCIAS

ANTONACCI, A.; SCOGNAMIGLIO, V. Biotechnological Advances in the Design of Algae-Based Biosensors. **Trends in Biotechnology**, 38, n. 3, p. 334-347, 2020.

CAPODAGLIO, A. G. *et al.* Microbial fuel cells for direct electrical energy recovery from urban wastewaters. **The Scientific World Journal**, 2013, 2013.

CHEN, B. *et al.* Pathways for sustainable energy transition. **Journal of Cleaner Production**, 228, p. 1564-1571, 2019.

CHILD, M. *et al.* Sustainability guardrails for energy scenarios of the global energy transition. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 91, p. 321-334, 2018.

COLARES, G. S. *et al.* Floating treatment wetlands integrated with microbial fuel cell for the treatment of urban wastewaters and bioenergy generation. **Science of The Total Environment**, p. 142474, 2020.

DAS, D. **Microbial fuel cell: A bioelectrochemical system that converts waste to watts**. 2017. 1-506 p. (Microbial Fuel Cell: A Bioelectrochemical System that Converts Waste to Watts,

DING, A. *et al.* Impacts of applied voltage on microbial electrolysis cell-anaerobic membrane bioreactor (MEC-AnMBR) and its membrane fouling mitigation mechanism. **Chemical Engineering Journal**, 333, p. 630-635, 2018.

ELMEKAWY, A. *et al.* Techno-productive potential of photosynthetic microbial fuel cells through different configurations. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 39, p. 617-627, 2014.

ELSHOBARY, M. E. *et al.* Recent insights into microalgae-assisted microbial fuel cells for generating sustainable bioelectricity. **International Journal of Hydrogen Energy**, 2020.

- ENAMALA, M. K. *et al.* Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 94, p. 49-68, 2018.
- FISCHER, F. Photoelectrode, photovoltaic and photosynthetic microbial fuel cells. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 90, p. 16-27, 2018.
- FU, S. *et al.* In situ Biogas Upgrading by CO₂-to-CH₄ Bioconversion. **Trends in Biotechnology**, 2020.
- GAJDA, I. *et al.* Recent advancements in real-world microbial fuel cell applications. **Current Opinion in Electrochemistry**, 11, p. 78-83, 2018.
- GAJDA, I. *et al.* Photosynthetic cathodes for Microbial Fuel Cells. **International Journal of Hydrogen Energy**, 38, n. 26, p. 11559-11564, 2013.
- GAJDA, I. *et al.* Self-sustainable electricity production from algae grown in a microbial fuel cell system. **Biomass and Bioenergy**, 82, p. 87-93, 2015.
- GEPPERT, F. *et al.* Bioelectrochemical Power-to-Gas: State of the Art and Future Perspectives. **Trends in Biotechnology**, 34, n. 11, p. 879-894, 2016.
- GHOLIZADEH, A. *et al.* Ozone-cathode microbial desalination cell; An innovative option to bioelectricity generation and water desalination. **Chemosphere**, 188, p. 470-477, 2017.
- HADIYANTO, H. *et al.* Effects of Yeast Concentration and Microalgal Species on Improving the Performance of Microalgal-Microbial Fuel Cells (MMFCs). **International Energy Journal**, 20, n. 3, p. 337-344, 2020.
- HAN, X. *et al.* Combined microbial electrolysis cell–iron-air battery system for hydrogen production and swine wastewater treatment. **Process Biochemistry**, 101, p. 104-110, 2021.
- HE, L. *et al.* Advances in microbial fuel cells for wastewater treatment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 71, p. 388-403, 2017.
- HINDATU, Y. *et al.* Mini-review: Anode modification for improved performance of microbial fuel cell. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 73, p. 236-248, 2017.
- HOU, Q. *et al.* The effect of algae species on the bioelectricity and biodiesel generation through open-air cathode microbial fuel cell with kitchen waste anaerobically digested effluent as substrate. **Bioresource Technology**, 218, p. 902-908, 2016.
- IFTIMIE, S.; DUMITRU, A. Enhancing the performance of microbial fuel cells (MFCs) with nitrophenyl modified carbon nanotubes-based anodes. **Applied Surface Science**, 492, p. 661-668, 2019.
- JWA, E. *et al.* Energy-efficient seawater softening and power generation using a microbial electrolysis cell-reverse electrodialysis hybrid system. **Chemical Engineering Journal**, 391, p. 123480, 2020.
- KABUTEY, F. T. *et al.* An overview of plant microbial fuel cells (PMFCs): Configurations and applications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 110, p. 402-414, 2019.

- KHALILI, H.-B. *et al.* Microbial fuel cell (MFC) using commercially available unglazed ceramic wares: Low-cost ceramic separators suitable for scale-up. **International Journal of Hydrogen Energy**, 42, n. 12, p. 8233-8241, 2017.
- KUMAR, S. S. *et al.* Microbial fuel cells (MFCs) for bioelectrochemical treatment of different wastewater streams. **Fuel**, 254, p. 115526, 2019.
- KUMAR, S. S. *et al.* Performance of buffered ferric chloride as terminal electron acceptor in dual chamber microbial fuel cell. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 5, n. 1, p. 1238-1243, 2017.
- LAURENS, L. M. L. *et al.* A perspective on renewable bioenergy from photosynthetic algae as feedstock for biofuels and bioproducts. **Algal Research**, 24, p. 261-264, 2017.
- LI, M. *et al.* Microbial fuel cell (MFC) power performance improvement through enhanced microbial electrogenicity. **Biotechnology Advances**, 36, n. 4, p. 1316-1327, 2018.
- LI, M. *et al.* Enhancement of CO₂ biofixation and bioenergy generation using a novel airlift type photosynthetic microbial fuel cell. **Bioresource Technology**, 272, p. 501-509, 2019.
- LI, X. *et al.* Efficient treatment of aniline containing wastewater in bipolar membrane microbial electrolysis cell-Fenton system. **Water Research**, 119, p. 67-72, 2017.
- LIANG, Y. *et al.* A high-performance photo-microbial desalination cell. **Electrochimica Acta**, 202, p. 197-202, 2016.
- LIN, C.-W. *et al.* Effects of different mediators on electricity generation and microbial structure of a toluene powered microbial fuel cell. **Fuel**, 125, p. 30-35, 2014.
- LUO, S. *et al.* Algal-microbial community collaboration for energy recovery and nutrient remediation from wastewater in integrated photobioelectrochemical systems. **Algal Research**, 24, p. 527-539, 2017.
- MA, J. *et al.* Cost-effective *Chlorella* biomass production from dilute wastewater using a novel photosynthetic microbial fuel cell (PMFC). **Water Research**, 108, p. 356-364, 2017.
- MA, X. *et al.* Municipal sludge-derived carbon anode with nitrogen- and oxygen-containing functional groups for high-performance microbial fuel cells. **Journal of Power Sources**, 307, p. 105-111, 2016.
- MAJUMDAR, P. *et al.* Integrated Photobioelectrochemical Systems: A Paradigm Shift in Artificial Photosynthesis. **Trends in Biotechnology**, 35, n. 4, p. 285-287, 2017.
- MANSOORIAN, H. J. *et al.* Evaluation of dairy industry wastewater treatment and simultaneous bioelectricity generation in a catalyst-less and mediator-less membrane microbial fuel cell. **Journal of Saudi Chemical Society**, 20, n. 1, p. 88-100, 2016.
- MARTÍN DEL CAMPO, J. S. *et al.* Hydrogen production by *Chlamydomonas reinhardtii* under light-driven and sulfur-deprived conditions: Using biomass grown in outdoor photobioreactors at the Yucatan Peninsula. **International Journal of Hydrogen Energy**, 39, n. 36, p. 20950-20957, 2014.

MOQSUD, M. A.; KHONG, V. Bioelectricity generation and remediation of contaminated intertidal zone of Yamaguchi Bay, Japan. **International Journal of Hydrogen Energy**, 2020.

ONUMAEGBU, C. *et al.* Pre-treatment methods for production of biofuel from microalgae biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 93, p. 16-26, 2018.

PALANISAMY, G. *et al.* A comprehensive review on microbial fuel cell technologies: Processes, utilization, and advanced developments in electrodes and membranes. **Journal of Cleaner Production**, 221, p. 598-621, 2019.

PAMINTUAN, K. R. S. *et al.* Simultaneous phytoremediation of Cu²⁺ and bioelectricity generation in a plant-microbial fuel cell assembly growing *Azolla pinnata* and *Lemna minor*. *In: 5th International Conference on Water Resource and Environment, WRE 2019*, 2019, 344. Institute of Physics Publishing, DOI: 10.1088/1755-1315/344/1/012021.

QUASHIE, F. K. *et al.* Efficiency and key functional genera responsible for simultaneous methanation and bioelectricity generation within a continuous stirred microbial electrolysis cell (CSMEC) treating food waste. **Science of The Total Environment**, 757, p. 143746, 2021.

RAHEEM, A. *et al.* A review on sustainable microalgae based biofuel and bioenergy production: Recent developments. **Journal of Cleaner Production**, 181, p. 42-59, 2018.

RAHMANINEZHAD, S. A. *et al.* Using ultra filtration membrane in photo electrocatalytic desalination cell (UF-PEDC). **Desalination**, 486, p. 114483, 2020.

REDDY, C. N. *et al.* Chapter 3.7 - Algal Biocathodes. *In: MOHAN, S. V., et al (Ed.). Microbial Electrochemical Technology*: Elsevier, 2019. p. 525-547.

SABA, B. *et al.* Sustainable power generation from bacterio-algal microbial fuel cells (MFCs): An overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 73, p. 75-84, 2017.

SAITO, T. *et al.* Effect of nitrogen addition on the performance of microbial fuel cell anodes. **Bioresource Technology**, 102, n. 1, p. 395-398, 2011.

SANCHEZ-SILVA, L. *et al.* Pyrolysis, combustion and gasification characteristics of *Nannochloropsis gaditana* microalgae. **Bioresource Technology**, 130, p. 321-331, 2013.

SANTORO, C. *et al.* Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review. **Journal of Power Sources**, 356, p. 225-244, 2017.

SARATALE, R. G. *et al.* Bioelectrochemical systems using microalgae – A concise research update. **Chemosphere**, 177, p. 35-43, 2017.

SEVDA, S. *et al.* Microalgae at niches of bioelectrochemical systems: A new platform for sustainable energy production coupled industrial effluent treatment. **Bioresource Technology Reports**, 7, p. 100290, 2019.

SHAIKH, R. *et al.* Bioelectricity production using plant-microbial fuel cell: Present state of art. **South African Journal of Botany**, 2020.

SHEHAB, N. A. *et al.* Enhanced water desalination efficiency in an air-cathode stacked microbial electrodeionization cell (SMEDIC). **Journal of Membrane Science**, 469, p. 364-370, 2014.

SHI, X. *et al.* Who should invest in clean technologies in a supply chain with competition? **Journal of Cleaner Production**, 215, p. 689-700, 2019.

SHUKLA, M.; KUMAR, S. Algal growth in photosynthetic algal microbial fuel cell and its subsequent utilization for biofuels. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 82, p. 402-414, 2018.

SIVASANKAR, V. *et al.* **Microbial fuel cell technology for bioelectricity**. Springer, 2018.

SONG, Y.-C. *et al.* Surface floating, air cathode, microbial fuel cell with horizontal flow for continuous power production from wastewater. **Journal of Power Sources**, 195, n. 19, p. 6478-6482, 2010.

SRIVASTAVA, P. *et al.* Denitrification in a low carbon environment of a constructed wetland incorporating a microbial electrolysis cell. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 6, n. 4, p. 5602-5607, 2018.

SRIVASTAVA, R. K. Bio-energy production by contribution of effective and suitable microbial system. **Materials Science for Energy Technologies**, 2, n. 2, p. 308-318, 2019.

TAWALBEH, M. *et al.* Microbial desalination cells for water purification and power generation: A critical review. **Energy**, 209, p. 118493, 2020.

WANG, C.-T. *et al.* Novel bufferless photosynthetic microbial fuel cell (PMFCs) for enhanced electrochemical performance. **Bioresource Technology**, 255, p. 83-87, 2018.

WANG, H. *et al.* Microbial community response to ammonia levels in hydrogen assisted biogas production and upgrading process. **Bioresource Technology**, 296, p. 122276, 2020.

XIAO, L.; HE, Z. Applications and perspectives of phototrophic microorganisms for electricity generation from organic compounds in microbial fuel cells. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 37, p. 550-559, 2014.

XU, B. *et al.* Deciphering electron-shuttling characteristics of microalgal metabolites upon bioelectricity-generating community in microbial fuel cells. **Biochemical Engineering Journal**, 144, p. 148-156, 2019.

XU, S. *et al.* Startup performance of microbial electrolysis cell assisted anaerobic digester (MEC-AD) with pre-acclimated activated carbon. **Bioresource Technology Reports**, 5, p. 91-98, 2019.

YAN, X. *et al.* The micro-niche of exoelectrogens influences bioelectricity generation in bioelectrochemical systems. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 134, p. 110184, 2020.

YANG, E. *et al.* Critical review of bioelectrochemical systems integrated with membrane-based technologies for desalination, energy self-sufficiency, and high-efficiency water and wastewater treatment. **Desalination**, 452, p. 40-67, 2019.

YANG, E. *et al.* A review on self-sustainable microbial electrolysis cells for electro-biohydrogen production via coupling with carbon-neutral renewable energy technologies. **Bioresource Technology**, 320, p. 124363, 2021.

YANG, Y.-c. *et al.* The optimal strategies for clean technology to advance green transition. **Science of The Total Environment**, 716, p. 134439, 2020.

YANG, Z. *et al.* Coupling a photosynthetic microbial fuel cell (PMFC) with photobioreactors (PBRs) for pollutant removal and bioenergy recovery from anaerobically digested effluent. **Chemical Engineering Journal**, 359, p. 402-408, 2019.

ZHANG, B. *et al.* Investigation and optimization of the novel UASB–MFC integrated system for sulfate removal and bioelectricity generation using the response surface methodology (RSM). **Bioresource Technology**, 124, p. 1-7, 2012.

ZHANG, Y.; ANGELIDAKI, I. A new method for in situ nitrate removal from groundwater using submerged microbial desalination–denitrification cell (SMDDC). **Water Research**, 47, n. 5, p. 1827-1836, 2013.

ZHANG, Y. *et al.* In-situ mineral CO₂ sequestration in a methane producing microbial electrolysis cell treating sludge hydrolysate. **Journal of Hazardous Materials**, 394, p. 122519, 2020.

ZHANG, Y. *et al.* Microbial fuel cell hybrid systems for wastewater treatment and bioenergy production: Synergistic effects, mechanisms and challenges. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 103, p. 13-29, 2019.

INFLUÊNCIA DA BIOMETRIA E DO DÉFICIT HÍDRICO NA GERMINAÇÃO DE *CENOSTIGMA MACROPHYLLUM* TUL

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 03/05/2021

Maria Jaislanny Lacerda e Medeiros

Universidade Federal do Piauí, Campus
Universitário Ministro Petrônio Portella-CCE
Teresina, Piauí, Brasil
<https://orcid.org/0000-0003-3912-5073>

Mateus Henrique Freire Farias

Universidade Federal do Piauí, Campus
Universitário Ministro Petrônio Portella-CCN
Teresina, Piauí, Brasil
<https://orcid.org/0000-0001-5901-2530>

Ana Caroline Ribeiro Costa

Universidade Federal do Piauí, Campus
Universitário Ministro Petrônio Portella-CCN
Teresina, Piauí, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/6097393778322015>

Marcones Ferreira Costa

Universidade Federal do Piauí, Campus
Amílcar Ferreira Sobral-CAFS Floriano, Piauí,
Brasil
<https://orcid.org/0000-0001-8210-2673>

Francisco Igor Ribeiro dos Santos

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Programa de Pós-graduação em Etnobiologia e
Conservação da Natureza, Recife, Brasil
<https://orcid.org/0000-0001-6817-3467>

Clarissa Gomes Reis Lopes

Universidade Federal do Piauí, Campus
Universitário Ministro Petrônio Portella-CCN
Teresina, Piauí, Brasil
<https://orcid.org/0000-0001-7290-4576>

RESUMO: A avaliação da qualidade física e fisiológica em sementes é uma ferramenta simples e de baixo custo, que oferece importantes informações sobre a variabilidade, a germinação e o desenvolvimento das plântulas. Entretanto, há poucas informações para as espécies florestais. Nesse sentido, objetivou-se avaliar como aspectos biométricos e a restrição hídrica influenciam a germinação de sementes de uma população natural de caneleiro (*Cenostigma macrophyllum* Tul.) no Piauí, Brasil. As características biométricas avaliadas foram largura, espessura, comprimento e peso das sementes. Para o experimento de germinação sob déficit hídrico, os tratamentos foram: 100; 75; 50 e 25% da capacidade de campo. Calcularam-se as porcentagens de emergência (%E) e de sobrevivência (%S) das plantas e os índices de velocidade de emergência (IVE) e de sincronização (IS). Observou-se a presença de variação fenotípica entre as características, sendo que o peso da semente foi a característica de maior variação (CV: 14,40%). Verificou-se que as sementes que germinaram apresentaram maiores valores de peso e espessura. O estresse hídrico aplicado à germinação mostrou que sementes de caneleiro possuem baixa ou nenhuma eficiência em germinarem em capacidade de campo e com restrições mais severas de água. No entanto, capacidades de campo intermediárias são as ideais para a germinabilidade dessa espécie.

PALAVRAS - CHAVE: Caneleiro, espécie nativa, germinabilidade, tolerância hídrica.

INFLUENCE OF BIOMETRY AND WATER DECIFIT ON THE GERMINATION OF *CENOSTIGMA MACROPHYLLUM* TUL.

ABSTRACT: The evaluation of the physical and physiological quality seeds are simple and low cost tools that offer important information about the variability, germination and seedling development. However, there is little information for forest species. In this sense, it aimed to evaluate how biometric aspects and water restriction influence seed germination of a natural population of caneleiro (*Cenostigma macrophyllum* Tul.) in Piauí, Brazil. The biometric characteristics evaluated were width, thickness, length and weight of the seeds. For the germination experiment under water deficit, the treatments were: 100; 75; 50 and 25% of field capacity. Calculating the emergence (%E) and survival (%S) percentages of the plants, and the emergence speed (ES) and synchronization (S) rates. The presence of phenotypic variation between the characteristics was observed, with the weight of the seed being the characteristic of greater variation (CV: 14.40%). It has been found that the seeds which germinated showed greater weight and thickness values. The water stress applied to the germination showed that caneleiro seeds have low and no efficiency in germinating with the field capacity and with more severe water restrictions. However, intermediate field capabilities are ideal for the germinability of this species.

KEYWORDS: Caneleiro, native species, germinability, water tolerance.

1 | INTRODUÇÃO

O processo de germinação é desencadeado por uma sequência de eventos morfológicos e fisiológicos, influenciados por fatores externos e internos (BORGHETTI e FERREIRA, 2004), que podem atuar isolados ou de forma integrada. Dessa forma, esse processo depende da prontidão genética e fisiológica das sementes (HAO et al., 2017), da quantidade suficiente de água e oxigênio e das condições de temperatura, luz e substrato (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012; SALOMÃO et al., 2003).

A propagação por sementes garante a variabilidade genética de espécies vegetais. A germinação é um processo crucial para as plantas, principalmente nas regiões áridas e semiáridas, uma vez que a limitação na disponibilidade de água nesses ambientes pode afetar seriamente o seu desenvolvimento (TOSCANO et al., 2017). A germinação é o estágio inicial e determinante do ciclo de vida de uma planta, o sucesso desse estágio é decisivo nos passos seguintes do desenvolvimento do indivíduo. Dentre os diversos fatores que estão ligados ao processo, a oferta de água mostra-se como uma das mais importantes e limitantes condições (CHAMORRO; PARRA; MORENO, 2016).

As sementes respondem diferentemente à quantidade de água no solo ou substrato: quando em excesso pode tanto inibir como promover a germinação (CARDOSO, 2012); por outro lado, quando em deficiência pode afetar a porcentagem, a velocidade e a uniformidade (MARCOS-FILHO, 2005). O déficit hídrico contribui para a diminuição da porcentagem de germinação das sementes e para cada espécie existe um valor de potencial hídrico no solo, abaixo do qual a germinação não ocorre (ÁVILA et al., 2007).

Além dos fatores abióticos, como a disponibilidade hídrica, as plantas possuem características próprias que influenciam no processo de germinação, como o tamanho e o peso das sementes (SUSKO e CAVERS, 2008; LARIOS et al., 2014).

Pesquisas sobre a morfometria de frutos e sementes podem contribuir positivamente para assessorar trabalhos sobre a germinabilidade de espécies nativas. O tamanho da semente é uma característica intrínseca que afeta a aptidão das plantas. A relação entre as medidas biométricas de uma semente e a sua capacidade germinativa vem sendo discutida na literatura. Geralmente, sementes de maior tamanho e peso possuem vantagens na germinação e estabelecimento de plântulas, enquanto sementes de menor tamanho têm a vantagem de escaparem da predação de animais, ganhando vantagens na formação de bancos de sementes e com maior potencialidade na renovação de vegetação (SOBRAL et al., 2013; DONALDSON; RICHARDSON; WILSON, 2014).

Nessa perspectiva, a germinação da semente é uma etapa muito importante do ciclo de vida das angiospermas, pois dela depende o estabelecimento e o crescimento da espécie (MONTAÑO-ARIAS et al., 2021). Dessa forma, estudos relacionados à germinação e à avaliação biométrica das sementes são imprescindíveis. Por seu turno, a biometria de sementes fornece informações importantes para a conservação e a reintrodução de espécies florestais nativas (FELIX et al., 2020). De outro modo, o potencial germinativo das sementes está relacionado diretamente com a sua qualidade fisiológica, fator importante para garantir o desenvolvimento da planta em condições de campo e conservar seu potencial fisiológico durante o armazenamento (CORREIA et al., 2019).

Alguns estudos foram realizados para avaliar a influência do peso de sementes na germinação e na qualidade fisiológica de muitas espécies de plantas. No entanto, pesquisas ainda são escassas para espécies florestais, as quais possuem uma variabilidade fenotípica bastante alta (FELIX et al., 2018; ARAÚJO et al., 2020).

Na porção oeste do semiárido brasileiro, há uma extensa zona ecotonal de interseção com a Floresta Amazônica e o Cerrado (Savana Neotropical), representando o maior domínio fitoecológico da Bacia do Rio Parnaíba (BRP) (SOUSA et al., 2009). A complexidade climática e a heterogeneidade de habitats, aliados à expansão do processo de urbanização, fazem da BRP um ambiente adequado para estudos que envolvam a germinação e o estabelecimento de plantas, visando entender suas adaptações aos ambientes e às mudanças ambientais.

Uma espécie amplamente distribuída na BRP é a *Cenostigma macrophyllum* Tul., conhecida como caneleiro ou canela-de-velho (AGUIAR et al., 2016). É uma árvore pertencente à família Fabaceae, nativa do semiárido nordestino, utilizada na medicina popular para o tratamento de doenças gastrointestinais e seus extratos e compostos apresentam uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo antioxidantes, antinociceptivos e anti-inflamatórios (PIAULINO et al., 2013; EL-NASHAR, ELDAHSHAN; SINGAB, 2015). Apesar das características farmacológicas serem bem conhecidas, a influência da morfometria das

sementes sob o processo de germinação é desconhecida.

Desse modo, considerando a relevância biológica e ecológica do caneleiro e a falta de estudos referentes à caracterização biométrica de sementes e a germinação da espécie, o presente estudo avaliou como aspectos biométricos e a restrição hídrica influenciam a germinação de sementes de uma população natural de *C. macrophyllum* Tul. no Piauí, Brasil.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

A coleta das sementes de caneleiro foi realizada na FLONA (Floresta Nacional de Palmares) (05°03'30"S e 42°35'47"W) no município de Altos, Piauí, Brasil, que compreende a região da BRP. A FLONA possui uma área de 170 hectares com uma vegetação de floresta estacional semidecidual. Segundo a classificação de Köppen, essa área possui clima do tipo quente e úmido (Aw'), com médias anuais de precipitação de 1.393,2 mm e temperatura de 27,7°C, com duas estações bem definidas, uma seca (junho a outubro) e outra chuvosa (novembro a maio) (INMET, 2017).

O experimento foi conduzido no Laboratório de Ecofisiologia e Biologia da Conservação (LEBCon) da Universidade Federal do Piauí (UFPI) e na casa de vegetação do Departamento de Biologia/UFPI, localizada no Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina, Piauí, Brasil (05°05'S e 42°49'O).

Dados morfométricos de 400 sementes, escolhidas aleatoriamente, foram avaliados, a saber: largura (mm), espessura (mm), comprimento (mm) e peso (g). O comprimento, a largura e a espessura foram mensurados com a utilização de paquímetro digital em milímetros. Para mensurar o peso dos frutos foi usada balança analítica de precisão em gramas.

Para o experimento de germinação sob déficit hídrico, foram usadas as mesmas sementes da morfometria, sendo 100 sementes para cada tratamento. Os tratamentos foram: 100; 75; 50 e 25% da capacidade de campo, tratamentos T1, T2, T3 e T4, respectivamente. A semeadura foi realizada em bandejas contendo vermiculita e terra vegetal autoclavada por 1h em temperatura de 120 °C, sendo mantidas em casa de vegetação com hidratação diária.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Para todos os tratamentos, foram utilizadas quatro repetições contendo 25 sementes cada. Em virtude disso, foi sendo verificada, diariamente, a emergência das plântulas, adotando-se como base o surgimento da parte aérea na superfície do substrato. As observações foram realizadas até a ausência de emergência durante 10 dias consecutivos. Calculou-se as porcentagens de emergência (%E) e de sobrevivência (%S) das plantas, os índices de velocidade de emergência (IVE) (MAGUIRE, 1962) e de sincronização (IS) (RANAL e SANTANA, 2006).

Para a correlação entre as taxas de germinação e as variáveis morfométricas das sementes foi realizado o teste de correlação de Spearman. Para o experimento de déficit hídrico os dados foram submetidos à ANOVA. Diferenças significativas foram contrastadas pelo teste de Student Newman Keul's (SNK) a 5% de probabilidade.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram uma relação entre a espessura e o peso das sementes com a porcentagem de germinação (Tabela 1).

Variáveis	Sementes germinadas	Sementes não germinadas	p*
Largura (mm)	13,33	13,05	0,2580
Comprimento (mm)	18,62	18,55	0,7191
Espessura (mm)	3,73	3,18	>0,0001
Peso (g)	0,57	0,48	0,0006

Tabela 1: Dados médios de tamanho e peso das sementes germinadas e não germinadas de *C. macrophyllum* na FLONA, Piauí, Brasil. (*p: significância). Fonte: Autores, 2021

Ao observar os dados biométricos das sementes que germinaram e as que não germinaram, verificou-se maiores valores de peso e espessura para as que germinaram (Figura 1A e B) e, dentro desse grupo, notou-se que, quanto maior o peso e a espessura, maior a quantidade de sementes germinadas (Figura 1C e D), corroborando estudos anteriores que mostram que sementes maiores e mais pesadas tendem a germinar mais cedo e em maior número em algumas espécies vegetais (LONG et al., 2015; BOSCO-PINTO et al., 2016). Isso provavelmente ocorra porque sementes maiores e mais pesadas foram melhor nutridas durante o seu desenvolvimento e são, portanto, mais vigorosas por possuírem maiores reservas nutritivas (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012).

Conforme Peñaloza e Durán (2015) para algumas espécies florestais as características físicas das sementes não estão diretamente associadas à sua qualidade fisiológica. Entretanto, nesse estudo, as sementes de maior tamanho e peso apresentaram vantagens na germinação e estabelecimento de plântulas. Portanto, essa informação fornece uma base biológica para a conservação e a reintrodução da espécie no ambiente.

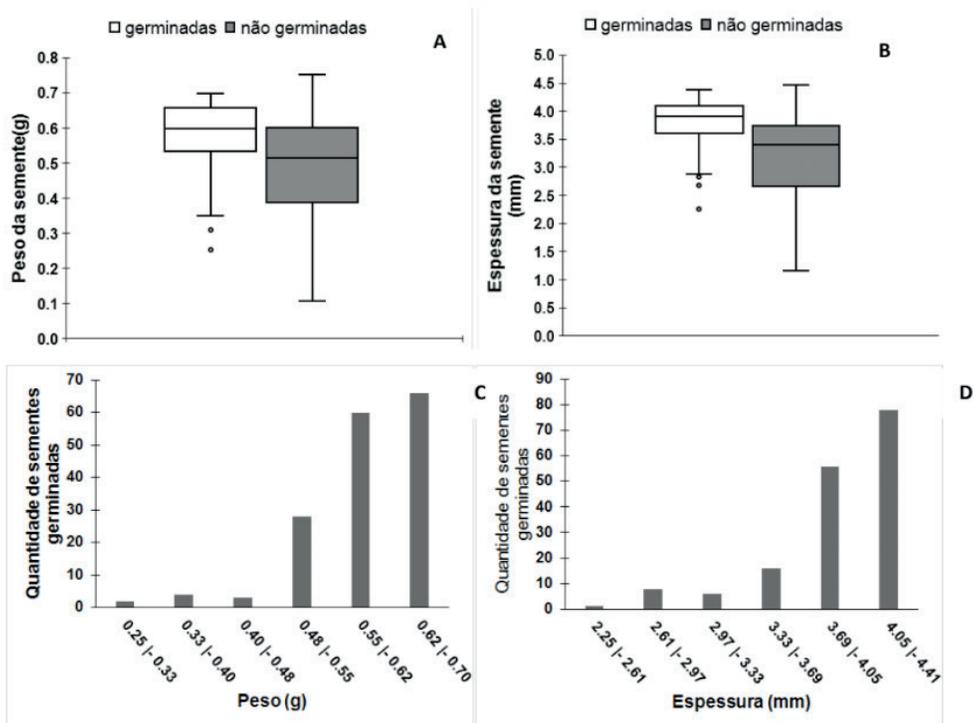


Figura 1: Diferença entre o peso (A) e a espessura (B) das sementes germinadas e não germinadas de *C. macrophyllum* na FLONA. Quantidade de sementes germinadas em classes de peso (C) e espessura (D). Fonte: Autores, 2021

Pelos resultados da avaliação biométrica das sementes, observou-se a presença de variação fenotípica entre as características analisadas (Tabela 2), indicando que há diferenças intra e interpopulacional. As características morfométricas da semente afetam a aptidão das plantas e, portanto, está sob pressão seletiva. Desse modo, influenciam tanto os estágios iniciais de desenvolvimento da prole, isto é, sobrevivência e estabelecimento de plântulas, quanto a vida adulta, afetando a fecundidade (SUSKO e CAVERS; 2008; LARIOS e VENABLE, 2018).

A largura da semente variou entre 1,06 a 1,55 mm. Os valores para o comprimento e a espessura estiveram, respectivamente, entre 1,61 a 2,03 mm e 0,24 a 0,42 mm. Os valores para peso de semente estiveram entre 0,15 a 0,75 g. Farias et al. (2018) caracterizaram sementes de populações de caneleiro em Teresina, Piauí, Brasil e obtiveram valores médios de 1,27 mm, 1,73 mm, 0,31 mm e 0,45 g para largura, comprimento, espessura e peso da semente mutuamente. Costa et al. (2020) encontraram valores semelhantes ao caracterizar morfologicamente uma população natural de caneleiro em Floriano, Piauí.

Parâmetros	Largura (mm)	Comprimento (mm)	Espessura (mm)	Peso (g)
Valor mínimo	1,06	1,61	0,24	0,30
Valor máximo	1,55	2,03	0,42	0,75
Média ± Desvio padrão	1,37 ± 0,09	1,84 ± 0,08	0,35 ± 0,03	0,59 ± 0,08
Coefficiente de Variação (CV%)	6,69	4,68	10,56	14,40

Tabela 2: Parâmetros biométricos das sementes de *C. macrophyllum* na FLONA, Piauí, Brasil. Fonte: Autores, 2021

O desvio padrão foi inferior a 0,1 para largura, comprimento e peso e 0,04 para espessura da semente. Valores de desvio padrão baixos indicam que a média representa com precisão os valores reais do conjunto de dados. O coeficiente de variação (CV%) diferiu entre as variáveis avaliadas; os valores foram considerados satisfatórios (CV ≤ 20%) confirmando boa precisão experimental para todas as características. A eficiência e a precisão das análises estão associadas ao método biométrico empregado. As variáveis peso e espessura das sementes apresentaram os maiores valores do coeficiente de variação: 14,40% e 10,56% respectivamente. Segundo Linkies et al. (2010), o peso da semente é fortemente influenciado pelas condições ambientais em que a planta-mãe cresce. Por esse motivo, essa característica foi a que mais contribuiu para a variação observada na população de caneleiro da FLONA.

Com base nos resultados da avaliação biométrica, é possível observar a presença de plasticidade fenotípica. Essa variação está relacionada a fatores endógenos da própria espécie, como a variabilidade genética, e fatores exógenos, como disponibilidade de luz, nutrientes e água (MATHEUS e LOPES, 2007).

O teste de germinação é utilizado para a comparação da qualidade das sementes em espécies florestais. Do mesmo modo que as características morfológicas são afetadas por fatores genéticos e ambientais, o processo germinativo, que é o principal parâmetro para avaliação do potencial fisiológico da planta, é dependente desses fatores (MENEGATTI et al., 2017).

O processo de germinação é o início da vida autônoma de uma planta e a disponibilidade de água é fator limitante nesse processo, afetando a porcentagem final de germinação, a velocidade e a uniformidade de emergência (CHAMORRO; PARRA; MORENO, 2016). A captação de água pela semente, durante a germinação, é um processo trifásico e a duração de cada uma dessas fases é extremamente importante para a conclusão do processo (FINCH-SAVAGE e LEUBNER-METZGER, 2006). Uma quantidade insuficiente de água no solo pode prejudicar o processo de germinação e, conseqüentemente, comprometer o estabelecimento das plântulas.

Quanto aos dados de déficit hídrico (Tabela 3), no presente trabalho, os tratamentos 2 e 3 (75% e 50% da capacidade de campo-CC, respectivamente) apresentaram os

maiores valores de emergência e sobrevivência. No tratamento controle apenas uma semente emergiu e no tratamento 4 maior restrição hídrica, não houve germinação. Os índices de velocidade de emergência e de sincronização foram maiores para o tratamento com 75%CC (Tabela 3).

Parâmetros	T1-100%CC	T2-75%CC	T3-50%CC	T4-25%CC	p*
%E	1,00	18,00	16,00	-	0,0091
%S	0,78	14,06	12,50	-	0,0091
IVE	0,02	0,27	0,08	-	0,0097
IS	-	1,58	1,45	-	0,0101

T: tratamento, CC: capacidade de campo, %E: porcentagens de emergência, %S: porcentagem de sobrevivência, IVE: índice de velocidade de Emergência, IS: índice de sincronização.

Tabela 3: Valores das médias de germinação de sementes de *C. macrophyllum* da FLONA, Piauí, Brasil nos diferentes tratamentos de déficit hídrico (*p: significância)

Em ambientes áridos, a precipitação é extremamente variável, com períodos de seca prolongados, o que faz com que os solos raramente estejam em sua capacidade de campo total (WHITFORD e DUVAL, 2019). Sendo assim, as plantas desses ambientes são bastante adaptadas e o potencial hídrico do solo costuma ser um modulador para germinação de sementes (DAWS et al., 2008). No caso do caneleiro, observou-se que no tratamento controle, ou seja, com a capacidade total de campo, a porcentagem de germinação foi muito baixa, podendo indicar uma adaptação da planta a esse tipo de ambiente.

A precipitação nos ambientes semiáridos do nordeste brasileiro é altamente variável e a umidade do solo raramente é mantida em sua capacidade de campo. Sementes adaptadas a esse tipo de ambiente podem germinar sob uma alta umidade, porém geralmente possuem melhores índices de germinação abaixo da capacidade de campo do solo devido às adaptações que possuem ao ambiente (FLORES; PÉREZ-SÁNCHEZ; JURADO, 2017).

C. macrophyllum é uma espécie comum em ambientes de clima semiárido, quente e com baixa pluviosidade. Os mecanismos fisiológicos de sobrevivência à seca têm sido bastante estudados em espécies vegetais cultivadas, no entanto pouco se sabe sobre o comportamento e os mecanismos de adaptação das espécies nativas às condições de restrição hídrica, naturais do semiárido nordestino (VIRGENS et al., 2012).

A ausência de emergência no T4 evidencia um limite do qual, dificilmente, a espécie em questão conseguirá germinar, possivelmente por ter atingido o potencial hídrico crítico, pois, quando a espécie atinge ou está abaixo desse valor, a germinação não ocorre (ÁVILA et al., 2007; CARVALHO, 2005). É provável que abaixo de 25% da capacidade de campo sementes de caneleiro não consigam mais germinar. Isso ocorre porque, sob potenciais

osmóticos muito negativos, a absorção de água se processa de forma lenta, com baixa taxa de respiração e para que ocorra o processo germinativo é necessária energia advinda da respiração: se essa é baixa, não haverá energia suficiente para desencadear o processo germinativo.

4 | CONCLUSÃO

Sementes de *C. macrophyllum* apresentam plasticidade fenotípica no que se refere às medidas biométricas e elas afetam a sua germinação, uma vez que sementes maiores obtiveram os maiores percentuais de germinação. O déficit hídrico aplicado à germinação mostrou que as sementes possuem baixa ou nenhuma eficiência em germinarem com a capacidade total de campo e com restrições mais severas de água, respectivamente, ou seja, capacidades de campo intermediárias são as ideais para a germinação dessa espécie.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, B. A. S. et al. Biologia floral e reprodutiva de *Cenostigma macrophyllum* Tul. (Fabaceae) no Parque Zoológico de Teresina, Piauí. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, p. 84-95, 2016.
- ARAÚJO, F. S. et al. Qualidade de sementes e diversidade genética de uma população cultivada de *Mimosa caesalpinifolia* BENTH. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 4, p. 1000-1006, 2020.
- ÁVILA, M. R. et al. Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 98- 106, 2007.
- BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. Interpretação de resultados de germinação. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Eds). Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, p. 209-222, 2004.
- BOSCO-PINTO, M. et al. Caracterização morfológica de frutos, sementes, plântulas e germinação de *Oreopanax fulvum* Marchal. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 11, n. 2, p. 111-116, 2016.
- CARDOSO, V. J. M. Germinação. In: KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 386-408, 2012.
- CARVALHO, C. J. R. Respostas de plantas de *Schizolobium amazonicum* [S. *parahyba* var. *amazonicum*] e *Schizolobium parahyba* [*Schizolobium parahybum*] à deficiência hídrica. **Revista Árvore**, v. 29, n. 6, p. 907-914, 2005.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. ed. 5 Jaboticabal, SP: Funep, 2012.
- CHAMORRO, D.; PARRA, A.; MORENO, J. M. Reproductive output, seed anatomy and germination under water stress in the seeder *Cistus ladanifer* subjected to experimental drought. **Environmental and Experimental Botany**, v. 123, p. 59-67, 2016.

- CORREIA, L. A. S. et al. Morphometric descriptors and physiological seed quality for selecting *Aspidosperma pyriformium* Mart. matrix trees. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 3, p. 751-759, 2019.
- COSTA, M. F. et al. Phenotypic diversity and biometry of fruit and seeds of a natural population of *Cenostigma macrophyllum* Tul. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e684997672, 2020.
- DAWS, M. I. et al. Germination responses to water potential in neotropical pioneers suggest large-seeded species take more risks. **Annals of Botany**, v. 102, n. 6, p. 945-951, 2008.
- DONALDSON, J.E.; RICHARDSON, D.M.; WILSON, J.R.U. The seed ecology of an ornamental wattle in South Africa — Why has *Acacia elata* not invaded a greater area? **South African Journal of Botany**, v. 94, p. 40-45, 2014.
- EL-NASHAR, H. A. S.; ELDAHSHAN, O.; SINGAB, A. N. The tribe Caesalpinieae (Fabaceae): An updated review on pharmacological aspects. **Medicinal & Aromatic Plants**, v. 4, n. 215, p. 2167-0412, 2015.
- FARIAS, M. H. F. et al. Morphometric studies and analyses of germinability in *Cenostigma macrophyllum* Tul. in an urban-rural gradient in Teresina-PI, Brazil. **Brazilian Journal of Environmental Sciences**, n. 49, p. 140-150, 2018.
- FELIX, F. C. et al. Biometry of *Pityrocarpa moniliformis* seeds using digital imaging: implications for studies of genetic divergence. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 15, n. 1, p. e6128, 2020.
- FELIX, F. C. et al. Estresse hídrico e térmico na germinação de sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 2, n. 13, p. e5515, 2018.
- FINCH-SAVAGE, W. E.; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and the control of germination. **New Phytologist**, v. 171, n. 3, p. 501-523, 2006.
- FLORES, J.; PÉREZ-SÁNCHEZ, R. M.; JURADO, E. The combined effect of water stress and temperature on seed germination of Chihuahuan Desert species. **Journal of Arid Environments**, v. 146, p. 95-98, 2017.
- HAO, J. et al. Germination Response of Four Alien Congeneric *Amaranthus* Species to Environmental Factors. **Plos One**, v. 12, n. 1, 20 jan. 2017.
- INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. 2017. Dados históricos. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/>>. Acesso em: 03/10/2019.
- LARIOS, E. et al. Natural selection on seed size through the life cycle of a desert annual plant. **Ecology**, v. 95, n. 11, p. 3213-3220, 2014.
- LARIOS, E.; VENABLE, D.L. Selection for seed size: The unexpected effects of water availability and density. **Functional Ecology**, v. 32, n. 9, p. 2216-2224, 2018.
- LINKIES, A. et al. The evolution of seeds. **New Phytologist**, v. 186, n. 4, p. 817-831, 2010.

LONG, R. L. et al. The ecophysiology of seed persistence: a mechanistic view of the journey to germination or demise. **Biological Reviews**, v. 90, n. 1, p. 31-59, 2015.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. 2 ed., Londrina: ABRATES, 659 p., 2015.

MATHEUS, M. T.; LOPES, J.C. Morfologia de frutos, sementes e plântulas e germinação de sementes de *Erythrina variegata* L. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 3, p. 8-17, 2007.

MENEGATTI, R. D. et al. Genetic divergence among provenances of *Mimosa scabrella* Benth. based on seed analysis. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 3, p. 366-371, 2017.

MONTAÑO-ARIAS, S. A. et al. Effect of seed age on germination, seedling survival and growth of *Mimosa luisana* (Leguminosae). **Trees**, v. 35, n. 1, p. 231-239, 2021.

PEÑALOZA, P.; DURÁN, J. M. Association between biometric characteristics of tomato seeds and seedling growth and development. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 18, n. 4, p. 267-272, 2015.

PIAULINO, C. A. et al. The stem bark extracts of *Cenostigma macrophyllum* attenuates tactile allodynia in streptozotocin-induced diabetic rats. **Pharmaceutical biology**, v. 51, n. 10, p. 1243-1248, 2013.

RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. How and why to measure the germination process? **Brazilian Journal of Botany**, v. 29, n. 1, p. 1-11, 2006.

SALOMÃO, A. N. et al. Germinação de Sementes e Produção de Mudanças de Plantas do Cerrado. (Orgs.) Brasília, Rede de Sementes do Cerrado, 96 p. 2003.

SOBRAL, M. et al. Seed predators exert selection on the subindividual variation of seed size. **Plant Biology**, v. 16, n. 4, p. 836-842, 2013.

SOUSA S. R. et al. Fitoecologia do complexo de Campo Maior, Piauí, Brasil. **Publ. avulsas conserv. Ecossistemas**, Teresina, n. 22, p. 1-25. 2009.

SUSKO, D. J.; CAVERS, P. B. Seed size effects and competitive ability in *Thlaspi arvense* L. (Brassicaceae). **Botany**, v. 86, n. 3, p. 259-267, 2008.

TOSCANO, S. et al. Effects of drought stress on seed germination of ornamental sunflowers. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 39, n. 8, p. 1-12, 2017.

VIRGENS, I. O. et al. Comportamento fisiológico de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae) submetidas a fatores abióticos. **Ciência Florestal**, v.22, n.4, p. 681-692, 2012.

WHITFORD, W. G.; DUVAL, B. D. **Ecology of desert systems**. Academic Press, 2019.

CAPÍTULO 14

CARTAS-MOLÉCULAS: JOGO DE CARTAS PARA AUXILIAR A APRENDIZAGEM DOS CONCEITOS BÁSICOS DE BIOMOLÉCULAS

Data de aceite: 01/07/2021

Luiz Henrique Pontes dos Santos

Universidade Estadual do Ceará
Fortaleza- Ceará
<http://lattes.cnpq.br/2530504748286813>

Juliana Osório Alves

Universidade Estadual do Ceará
Fortaleza- Ceará
<http://lattes.cnpq.br/2692763334017357>

Paulo Elsson Guimarães de Oliveira

Universidade Estadual do Ceará
Fortaleza- Ceará
<http://lattes.cnpq.br/3531042330318765>

Isabele da Silva Pereira

Universidade Estadual do Ceará
Fortaleza- Ceará
<http://lattes.cnpq.br/0688658447125033>

Raquel Martins de Freitas

Universidade Estadual do Ceará
Fortaleza- Ceará
<http://lattes.cnpq.br/4147004490582518>

Stela Mirla Felipe

Universidade Estadual do Ceará
Fortaleza- Ceará
<http://lattes.cnpq.br/1675525217267640>

Christina Pacheco Santos Martin

Núcleo de medicina tropical, Universidade de
Brasília
Brasília- DF
<http://lattes.cnpq.br/3843814706514031>

Paula Matias Soares

Universidade Estadual do Ceará
Fortaleza- Ceará
<http://lattes.cnpq.br/8588776582933485>

Vânia Marilande Ceccatto

Universidade Estadual do Ceará
Fortaleza- Ceará
<http://lattes.cnpq.br/7164184729889286>

RESUMO: O uso de jogos de tabuleiro e *flashcards* são muito atrativos para os estudantes de ensino médio, potencializando criatividade, cognição, afeição, socialização e motivação. O ensino de Bioquímica pode ser um grande desafio para alunos e professores especialmente na apresentação inicial das biomoléculas básicas como os ácidos nucleicos, proteínas, lipídeos e carboidratos. Para incrementar e motivar este campo de jogos em Bioquímica, este trabalho apresenta um novo jogo de cartas inserindo conceitos, estrutura, funções e aplicações das biomoléculas. Neste trabalho apresentamos a concepção, passo a passo de construção e regras de um jogo de tabuleiro estilo *flashcards*, intitulado *Cartas-Moléculas*, para dois jogadores ou dois grupos. O jogo criado constituiu-se de 41 cartas ilustradas diferentes, com 31 biomoléculas diferentes, além de um tabuleiro de dimensões 42 X 60 centímetros com 5 regiões específicas para cada jogador. As regras foram divididas em 5 tópicos. As cartas foram divididas em seis categorias (*aminoácidos*, *ácidos nucleicos*, *vitaminas*, *carboidratos*, *proteínas* e *lipídeos*) diferenciando-se por cores. Para a confecção

das cartas foi utilizado o aplicativo *Card DIY: Yu-Gi-Oh* (Nekmit Service) e papel tipo cartão duplex. Neste contexto, foi apresentado como um produto didático, com todo o passo-a-passo de confecção como opção dinâmica para aplicação em sala-de-aula ou fora dela.

PALAVRAS - CHAVE: Jogo de cartas; Ensino; Bioquímica

MOLECULE-CARDS: CARD GAME TO ASSIST THE LEARNING OF BASIC BIOMOLECULAR CONCEPTS

ABSTRACT: The use of board games and *flashcards* is desirable for high school students, enhancing creativity, cognition, affection, socialization, and motivation. Teaching Biochemistry can be a great challenge for students and teachers, especially in the initial presentation of essential biomolecules such as nucleic acids, proteins, lipids, and carbohydrates. This work aims to increase and motivate this field of games in Biochemistry, presenting a new round of main cards, structure, functions, and applications of biomolecules. In this work, we offer the design, step by step of construction, and rules of a flashcards-style board game entitled *Molecules-Card*. The gamers number was two or two groups. The game created consisted of 41 different illustrated cards (31 different biomolecules) and a 42 x 60-inch board with five specific regions for each player. The rules were divided into five items. The cards were divided into six categories (amino acids, nucleic acids, vitamins, carbohydrates, proteins, and lipids), differentiating themselves by nuclei. The card layout was designed by DIY Card application Yu-Gi-Oh (Nekmit Service), and the cards were produced in duplex card paper. The game is presented as a didactic product, step-by-step preparation as a dynamic option for application in the classroom or outside.

KEYWORDS: Card games, teaching, Biochemistry.

1 | INTRODUÇÃO

Os jogos didáticos são produzidos com objetivo de proporcionar aprendizado, por meio de aspectos lúdicos [1] e como uma alternativa para auxiliar e favorecer a construção do conhecimento [2]. No passado, os jogos não eram vistos como uma metodologia de ensino eficiente, já que eram considerados atividades ligadas ao lazer. Porém, com o passar dos anos esse tipo de metodologia se estabeleceu. Atualmente, é conhecido que os jogos, como metodologia de ensino, potencializam criatividade, cognição, afeição, socialização e motivação [2]. Além disso, podem desenvolver diversas atividades ligadas diretamente ao ensino e a cognição e podem ser uma excelente metodologia para ilustrar conteúdos complexos, extensos e abstratos. Ainda, podem sanar dificuldades dos alunos em aprender o conteúdo e dos professores em transmitir esse conhecimento [3-4].

A Bioquímica consiste no estudo das biomoléculas e suas interações e cinéticas, é uma disciplina básica para o entendimento de toda a Biologia. As biomoléculas também são contempladas na Biologia Molecular e na Biotecnologia, especialmente os ácidos nucléicos e seu produto de expressão gênica, as proteínas. A Bioquímica é considerada uma disciplina que contém tópicos no ensino básico e em diversos cursos da área da

saúde, considerada por muitos como de difícil compreensão. Falhas no ensino de conceitos básicos da bioquímica podem desencadear uma série de dificuldades na vida escolar e acadêmica do discente [5].

Em contraposição a essas metodologias alguns professores e pesquisadores buscam desenvolver outros meios para o ensino de biomoléculas, especialmente no momento mais difícil e problemático, onde o aluno toma o primeiro contato com os conceitos de biomoléculas, seus diferentes tipos, estruturas e cinéticas [6].

Jogos para o ensino e aprendizagem em Bioquímica e Biologia Molecular multiplicam as possibilidades metodológicas para os conceitos de biomoléculas. Estudos avançados já demonstraram ser eficientes em diversos conteúdos, contudo poucos jogos foram criados para a fixação de conceitos básicos, os quais, sem um aprendizado eficaz pode gerar diversas dificuldades [6-7-8]. As biomoléculas como ácidos nucleicos, lipídeos, carboidratos e proteínas são base para a compreensão dos avanços biotecnológicos e para o melhor entendimento dos processos bioquímicos fundamentais, sobre fisiologia do corpo humano e da vida em geral, os quais são parte do conteúdo básico do ensino fundamental e médio [8].

Apesar da importância das biomoléculas para as diversas áreas da saúde, o tema não apresenta ferramentas que possam ser complementares e lúdicas para os alunos do ensino básico e médio e muitas vezes, só tem como fundamento, as metodologias tradicionais de transmissão/recepção do conhecimento [6-8]. Por se tratar de um conteúdo de difícil assimilação para muitos alunos, esses desenvolvem dificuldades e até mesmo aversão, em seu primeiro contato com o conteúdo no 9º ano do ensino fundamental. A ausência de uma metodologia complementar, dinâmica e interativa que facilite a aprendizagem é dita por alguns autores como possível causa desse problema [6].

Assim, o uso de jogos didáticos como estratégia de ensino além de facilitar o aprendizado permitiria maior integração entre os estudantes, estreitando os laços entre professor e entre os alunos a partir de uma maior aceitação/empatia pela disciplina e pelo professor. Essas estratégias didáticas também ajudam a estimular a autoestima do aluno mostrando que este é capaz de garantir o aperfeiçoamento de instrumentos para o seu próprio aprendizado [9-10-11].

Assim, o presente estudo tem o objetivo de apresentar a confecção de um jogo de tabuleiro, no estilo *flashcards* (cartas com conceitos de memorização), utilizando esquema parecido com os jogos japoneses, o qual possa permitir a assimilação dos conceitos básicos de biomoléculas e suas dinâmicas, e conseqüentemente, viabilize e facilite ao professor e ao aluno, o primeiro contato com os conteúdos que envolvem as biomoléculas[8].

2 | METODOLOGIA

2.1 *Design e confecção das cartas*

A partir dos conteúdos que envolvem biomoléculas estudados pelos alunos do 9º ano do ensino fundamental, foram selecionadas 31 biomoléculas diferentes, as quais foram listadas e receberam definições, de acordo com livros didáticos. Para cada uma foi elaborada uma questão e tendo como resposta, a definição da biomolécula. Essas cartas formaram o conjunto de cartas então denominado *Cartas-Moléculas*, o qual foi dividido em seis subgrupos, *aminoácidos*, *ácidos nucleicos*, *vitaminas*, *carboidratos*, *proteínas* e *lipídeos*.

O jogo incluiu mais nove cartas, as quais foram divididas em dois grupos, seis como *cartas-coringa*, as quais tinham como função modificar o ambiente em que as *cartas-moléculas* estão, de forma a aumentar ou diminuir os pontos de cartas específicas ou concedendo vantagens ao jogador. Outro grupo de cartas foi composto por três cartas chamadas *cartas-enzima*, as quais atuaram como armadilhas para cartas-moléculas específicas e excluí-las do jogo. Os três grupos de cartas estão ilustrados na Figura 1.

Cada carta recebeu uma pontuação de maneira aleatória. As pontuações variaram entre 3 e 10 pontos, assinalados nas próprias cartas, entre os movimentos de ataque e defesa, os quais foram utilizados como parâmetro para comparação entre as cartas.

Todas as cartas receberam imagens ilustrativas adaptadas da Internet com a intenção de tornar o jogo mais atrativo visualmente. Para a confecção inicial das cartas foi utilizado o aplicativo denominado *Card DIY: Yu-Gi-Oh 2.6.0* disponível de forma APP livre e online nos sites comuns de programas de computador ou aplicativos que podem ser baixados para computador ou celular. O *layout* final foi finalizado em programa de desenho vetorial bidimensional para design gráfico (*Corel Draw X7* - Corel Corporation).

As cartas foram dimensionadas em 10x7 cm, foram impressas em papel tipo cartão duplex, cortadas e agrupadas formando baralhos com 41 cartas.

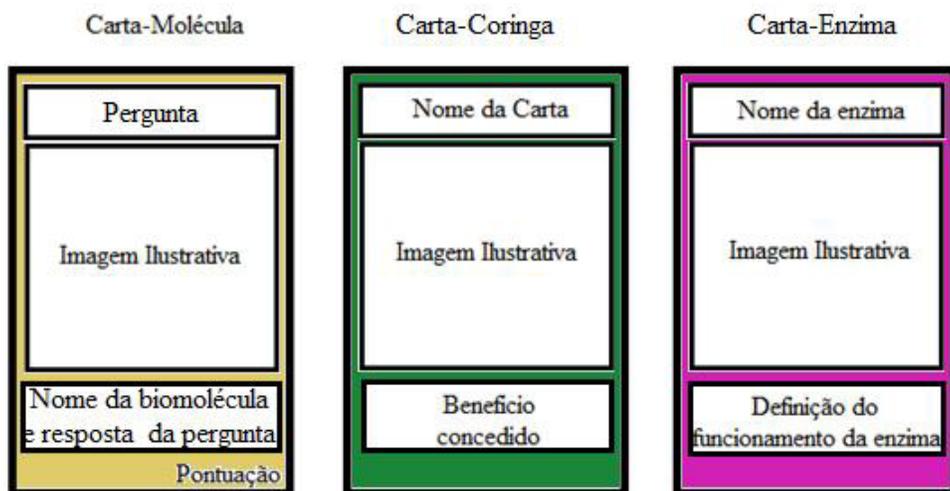


Figura 1: Forma Ilustrativa do design das cartas, contendo os componentes de cada carta.

2.2 Campo de jogo

O campo de jogo foi confeccionado utilizando o programa *Corel Draw X7* (Corel Corporation) com dimensões 42cm X 60cm e dividido em nove partes, quatro para cada jogador e uma de campo neutro. Este campo foi dividido em: *campo das moléculas*: região que possui cinco casas onde só foram colocadas as cartas-moléculas; *campo das enzimas*: região que possui cinco casas e só foram colocadas *cartas-enzima* e *cartas-coringa*; *região baralho*: local do campo onde o baralho permanecerá virado para baixo durante o jogo; *cemitério*: local do baralho destinado às cartas-moléculas derrotadas ou descartadas e onde as *cartas-enzima* e *cartas-coringa* já utilizadas deverão ficar. Todos esses campos se repetem para os dois jogadores que junto com o *campo neutro*: uma região intermediária, onde nenhum dos dois jogadores jogam cartas, formarão as nove partes ou regiões do campo de jogo - Figura 2.

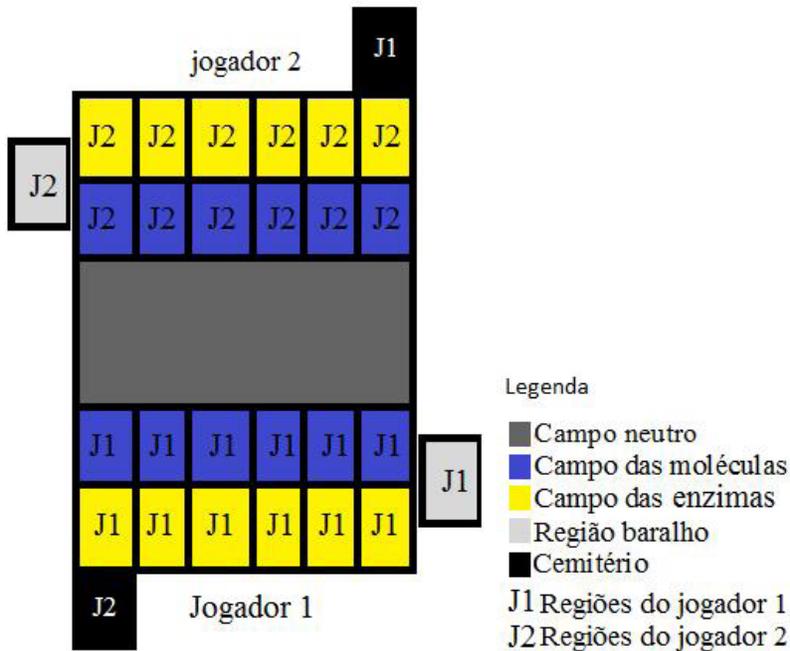


Figura 2: Forma do tabuleiro de jogo, com localização de cada Campo e Região.

O campo foi ilustrado com imagens ilustrativas adaptadas da internet com intenção de tornar o jogo mais atrativo visualmente aos alunos e foi impresso em papel tipo cartão duplex.

2.3 Elaboração e impressão das regras.

Foram elaborados cinco tópicos para as regras, cada um possuindo sub tópicos. (Figura 3). Foram elaborados os seguintes subtópicos:

Tópico 1: descreveu os tipos de cartas, subdividas em seus três sub tópicos, cartas-enzima, cartas-coringa e cartas-moléculas, as quais se subdividiram em seis sub tópicos, proteínas, lipídeos, aminoácidos, ácidos nucleicos, carboidratos e vitaminas.

Tópico 2: descreveu o campo de jogo, com suas subdivisões e regiões: campo das moléculas, campo das enzimas, região de baralho, cemitério e campo neutro.

Tópico 3: descreveu o modo de jogo, com dois sub tópicos, início e rodadas.

Tópico 4: descreveu a pontuação, com três sub tópicos, bônus e penalidades, pontuação inicial e redução dos pontos, tópico que se subdividiu em seus dois sub tópicos, ataque e fórmula.

Tópico 5 descreveu o fim e definiu o vencedor do jogo.

O *layout* das regras também recebeu imagens ilustrativas adaptadas da internet com a intenção de tornar o jogo mais atrativo visualmente para os jogadores.

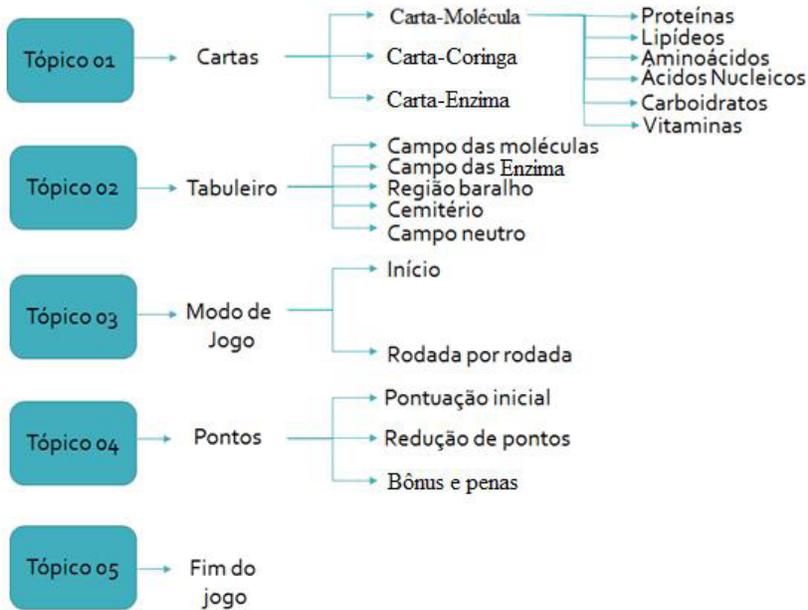


Figura 3: Esquema de tópicos e sub tópicos das regras

3 | RESULTADOS

3.1 Cartas-moléculas

As cartas-moléculas foram divididas em seis categorias e possuem perguntas relacionadas a cada biomolécula. Estas contemplaram questões como: o que são, estrutura e funções da biomolécula, quantidades e tipos de biomoléculas e quais patologias essas biomoléculas causam ou previnem. Algumas cartas moléculas apresentaram a marcação relativa a sua função de carta especiais. Estas cartas, por possuírem alguma função importante no organismo concedem vantagens ao jogador. Essas cartas possuem ainda pontuação de ataque e defesa e as respostas para a pergunta.

3.2 Cartas-vitamina

Esse grupo de cartas apresentou o maior número de cartas, com doze cartas de diferentes vitaminas. Contemplaram perguntas, principalmente, sobre as funções no organismo. Foram produzidas na cor cinza (Figura 4).



Figura 4: Modelo de carta-vitamina.

3.2.1 Cartas-lipídeo

As cartas-lipídeo constituiram o segundo maior grupo de cartas contendo oito cartas com perguntas direcionadas para estrutura, funções e estrutura dessas biomoléculas e a participação em patogenias humanas. Estas cartas foram produzidas na cor azul (Figura 5).

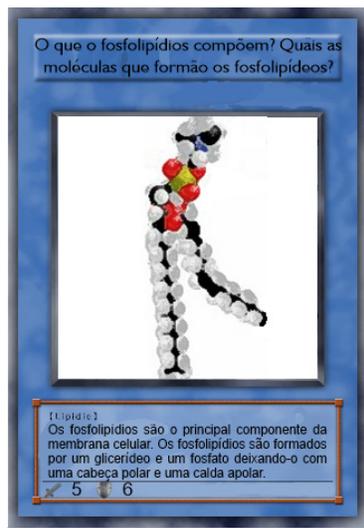


Figura 5: Modelo de carta-lipídeo.

3.2.2 Cartas-proteína

As cartas-proteína pertenceram ao terceiro maior grupo de cartas-moléculas contendo quatro cartas. Suas perguntas contemplaram estrutura e funções, produzidas na

cor roxa (Figura 6).

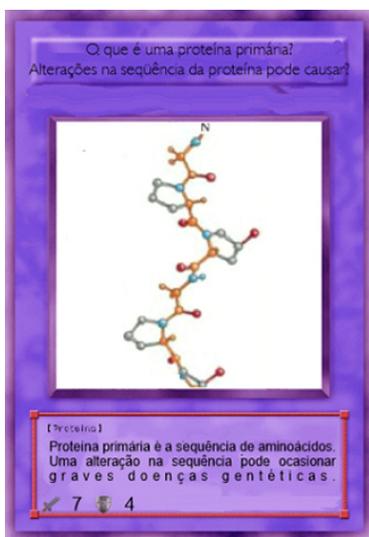


Figura 6: Modelo de carta-proteína.

3.2.3 Cartas-aminoácido

As cartas-aminoácido assim como as cartas-ácido nucleico formaram o segundo menor grupo com apenas três cartas. As perguntas contemplaram o conceito, quantidades e tipos diferentes de aminoácidos. Foram produzidas na cor marrom claro (Figura 7).



Figura 7: Modelo de carta-aminoácido.

3.2.4 Cartas-ácido nucleico

As cartas-ácido nucleico também formaram um grupo de apenas três cartas na cor branca (Figura 8).

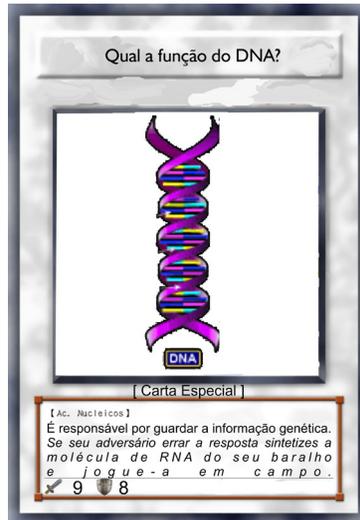


Figura 8: Modelo de carta-Ácido Nucléico

3.2.5 Cartas-carboidrato

As cartas-carboidrato formaram o menor grupo do jogo com apenas duas cartas. Suas perguntas contemplaram função e classificação dessas biomoléculas, na cor marrom claro (Figura 9).



Figura 9: Modelo de carta-Carboidrato.

3.3 Cartas-coringa

Um total de seis cartas que concederam alguma vantagem a quem utiliza, foram definidas como cartas-coringa. Algumas destas vantagens são: aumentar a pontuação de alguma carta molécula específica, aumentar os pontos de vidas, reduzir a pontuação de alguma carta do adversário. As cartas-coringa foram produzidas na cor verde e não possuíram pontuação (Figura 10).



Figura 10: Modelo de carta-vitamina, um exemplo de carta-Coringa.

3.4 Cartas-enzima

As cartas-enzima apresentaram três cartas-surpresa, em que os jogadores revelaram quando o adversário coloca em campo uma carta molécula específica. Estas cartas foram definidas como responsáveis por eliminações específicas no jogo. Não possuíram pontuação e explicaram a atuação de algumas enzimas. Foram produzidas na cor rosa (Figura 11).



Figura 11: Carta-lipase um exemplo de carta-enzima

3.5 Tabuleiro

O tabuleiro de jogo foi dividido em cinco regiões: campo das moléculas, na cor vermelha; campo das enzimas, na cor azul; região de baralho, na cor branca, com o logo do jogo; o cemitério onde ficaram as cartas descartadas durante o jogo e uma região neutra. O cemitério é trocado entre os jogadores, ou seja, o jogador 1 ficou com o descarte do jogador 2 e o jogador 2 com o descarte do jogador 1 (Figura 12).

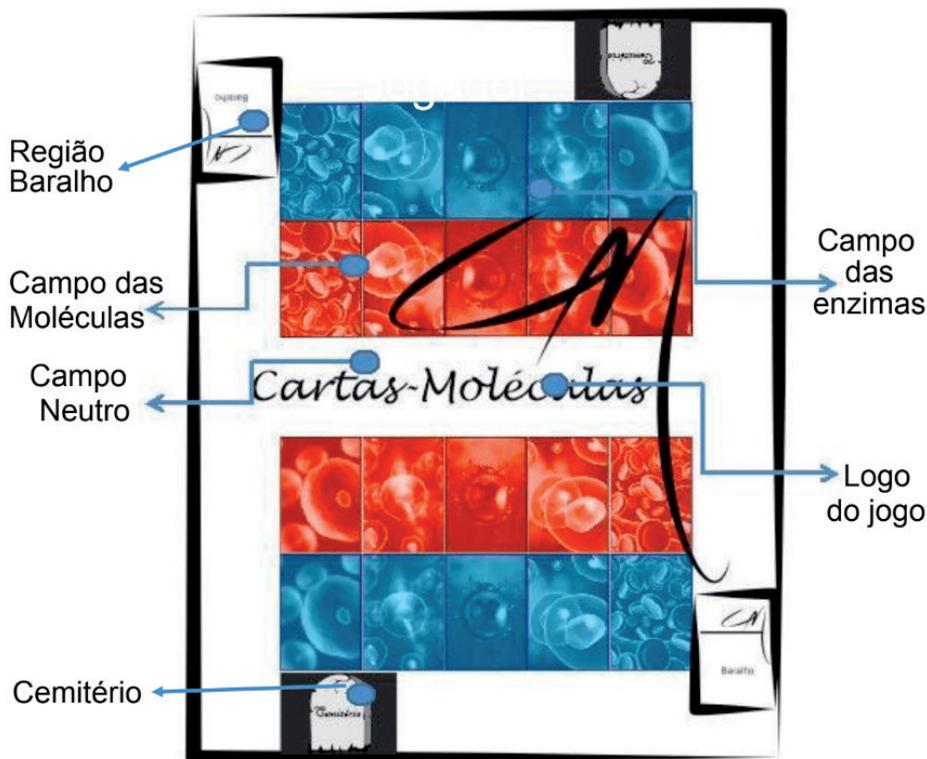


Figura 12: Tabuleiro do jogo Cartas-moléculas.

3.6 Regras

As regras apresentaram quatro páginas com as seguintes considerações:

1. Tipos de cartas
2. Tabuleiro
3. Modo de jogar
4. Pontuação
5. Fim de jogo

Nesse documento são explicitadas todas as regras do jogo, evitando textos e buscando utilizar tópicos, sucintamente, o funcionamento do jogo ocorre da seguinte maneira, o jogador retira cinco cartas do baralho. Em seguida, o jogador adversário escolhe uma carta e faz a pergunta presente na carta, caso este acerte uma das cartas do adversário aumenta sua pontuação, caso erre, a carta do jogador que realizou a pergunta tem a pontuação de sua carta aumentada. Posteriormente as cartas serão comparadas e a maior pontuação vence, a menor é descartada. Caso seja uma carta-coringa, o jogador deve ler a carta. Caso esta seja uma carta-enzima, o jogador coloca essa para baixo, de

modo que o adversário não a veja.

4 | DISCUSSÃO

Baseado nas dificuldades encontradas pelos alunos no aprendizado de bioquímica surgiu a motivação para a produção desta ferramenta, o jogo Cartas-Moléculas, buscando contemplar alguns dos conceitos básicos da Bioquímica, fundamentais para compreensão e fixação dos processos bioquímicos e melhor entendimento para a compreensão dos avanços biotecnológicos e fisiologia do corpo humano [8].

O jogo buscou ser ferramenta complementar para o entendimento de assuntos complexos e abstratos, permitindo vai-e-volta de indagações e questionamentos entre os estudantes e consequentemente, a elaboração do conhecimento num processo dialógico e divertido [6]. Por ser um jogo realizado entre dois adversários ou entre dois grupos, pode promover entre os alunos uma interação social mais rica, motivadora e, consequentemente mais eficaz [12].

Há relatos bem-sucedidos da utilização de atividades lúdicas para o ensino de Bioquímica. Nagata [13], ao utilizar histórias em quadrinhos japonesas, também conhecidos como mangás, com conteúdo de Bioquímica, relatou um aumento do interesse dos alunos pela disciplina, auxiliando no processo de ensino-aprendizagem.

No estudo de Azevedo [14] e colaboradores foi demonstrado que ocorreu aprendizado pelos alunos que estudaram Ciclo de Krebs por meio de um jogo em duas versões, uma no formato de tabuleiro convencional (versão em papel) e outra, virtual (software). Ainda, existem alguns trabalhos na literatura que demonstraram que os jogos didáticos podem ser eficientes para o ensino de diversos conteúdos de bioquímica. Por exemplo, no estudo de Barbosa e colaboradores [15] foi utilizado o jogo “Perfil – Biomoléculas” com o objetivo de inter-relacionar características estruturais, classificação e função de carboidratos, lipídios e proteínas. Os autores concluíram que o jogo incentivou o raciocínio e a articulação dos conceitos químicos e biológicos.

No estudo de Lemos [6] e colaboradores quanto às implicações de um jogo “Carboidratos: a receita das biomoléculas” quanto ao seu uso, verificou-se que o jogo didático proporcionou aos estudantes tanto mais interação quanto aprimoramento do senso crítico sobre o trabalho coletivo, o desenvolvimento da capacidade de formulação de hipóteses, curiosidade pela resposta concreta, entre outros aspectos essenciais no processo de aprendizagem.

A utilização de ferramentas em sala de aula pode diminuir ou até mesmo anular a barreira de desmotivação que separa o aluno do professor [16]. As cartas- molécula apresentadas caracterizaram-se pelo modo “pergunta e resposta”. O aluno ao jogar uma carta em campo, lê a pergunta que está na carta, o adversário responde à pergunta e para confirmar se a resposta do colega está correta, o aluno lê a resposta que está na carta.

Assim ele lê a pergunta e a resposta, o que pode ajudar na fixação do conteúdo e funcionar como nos *flashcards*. O aluno que responde, ao errar, ficará em desvantagem no jogo e vai buscar saber qual a resposta correta, assim os dois jogadores são apresentados ao conceito da carta a ser jogada.

As cartas-coringa, além de apresentarem a vantagem concedida, apresentaram o porquê dessa vantagem. Como por exemplo, a carta “*Alteração de temperatura e pH*” fez a função de eliminar as cartas-proteína, tendo em vista que este evento físico ocorre na natureza, com a desnaturação destas em alteração de temperatura e pH. As cartas-enzima eliminavam cartas específicas para essas enzimas. As proteases eliminavam as proteínas e as lipases, os lipídios. Desta forma, estas cartas funcionavam da mesma forma como cada enzima reage ao seu específico substrato, servindo de informação básica sobre o funcionamento de algumas enzimas mais comuns.

O campo de jogo apresentou a região das moléculas, região das enzimas, região neutra e região do baralho como divisões facilitadoras para os alunos saberem onde jogar cada carta em campo. O cemitério, a região onde fica as cartas descartadas do jogo, essa região é trocada entre os alunos como uma forma de estímulo de jogo e competição gerando uma recompensa real para o jogador.

Os jogos didáticos devem ter regras estabelecidas escritas e, caso possuam perguntas, deve ser anexado um gabarito contendo todas as respostas [17]. Neste trabalho, as cartas apresentaram as respostas já impresso nelas e as regras em quatro páginas, divididas em tópicos, para rapidez de aplicação. Os tópicos explicaram cada tipo de carta em forma de listas. Apresentou o formato do campo, onde deveria ser jogado cada carta; o modo de jogo dizendo o passo a passo de como é realizado cada rodada; como funcionou a pontuação do jogo e como o jogador pode ser o vencedor.

5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de *flashcards* e jogos de tabuleiro, no ensino fundamental e médio pode ser uma alternativa complementar no primeiro contato com as biomoléculas. Este trabalho apresentou a confecção de um jogo de tabuleiro direcionado para o 9º ano, no ensino médio, onde ocorre o primeiro contato com as biomoléculas. Neste contexto, foi apresentado um produto, com todo o passo-a-passo de confecção e utilização para a aprendizagem como opção dinâmica para aplicação em sala-de-aula ou fora dela.

REFERÊNCIAS

1. CUNHA, N. **Brinquedo, desafio e descoberta**. Rio de Janeiro: FAE, 1988
2. CAMPOS, L.M.L.; BORTOLOTO, T.M.; FELÍCIO, A.K.C. **A produção de jogos didáticos para o ensino de ciências e biologia: uma proposta para favorecer a aprendizagem**. Universidade Estadual Paulista. 2002. Disponível em: <<http://www.unesp.br/progr>>
3. VARGAS, L.H.M. A Bioquímica e a Aprendizagem Baseada em Problemas. **Rev Ensino Bioquímica** 2001.
4. MIRANDA, S. de. No fascínio do jogo, a alegria de aprender. In: **Revista Ciência Hoje**. V.28, n. 168. Jan/fev. 2002.
5. FARKUH1, L.; PEREIRA-LEITE C. Bioquim4x: um jogo didático para rever conceitos de bioquímica. **Revista de Ensino de Bioquímica**, 2014
6. LEMOS, A.L.S.; RODRIGUES C.E.; DIAS, S.A.M. O uso de jogos didáticos no processo de ensino/aprendizagem de biologia: uma experiência didática. **Anais de IV de iniciação à docência da UEPB, Campina Grande, 2014**.
7. OLIVEIRA F.S.; LACERDA, C.D.; OLIVEIRA, O.S.; COELHO, A.A; BIANCONI, M.L. Um jogo de construção para o aprendizado colaborativo de Glicólise e Gliconeogênese. **Revista de Ensino de Bioquímica**, 2015.
8. MORONI, F.T.; MORONI, R.B.; JUSTINIANO, S.C.B.; DOS SANTOS, J.M.M. Pescando nucleotídeos: um novo jogo educativo para o ensino do processo de síntese protéica para estudantes do ensino médio. **Revista Brasileira de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular**. 2009.
9. AMORIM, A.S. **A influência do uso de jogos e modelos didáticos no ensino de biologia para alunos de ensino médio** [Monografia]. Beberibe: Universidade Aberta do Brasil; 2013.
10. RADE, A.V; BORGES, R.M.R. Repercussões do uso de jogos como ferramenta didática nas aulas de matemática financeira. **Anais de V Mostra de Pesquisa da Pós-Graduação; Porto Alegre**, 2010.
11. RANDI, M.A.F. **Criação, aplicação e avaliação de aulas com jogos cooperativos do tipo RPG para o ensino de biologia celular**. Monografia. Universidade Estadual de Campinas, 2011.
12. GASPAR, A. **Experiências de ciências para o ensino fundamenta I**. São Paulo: Ática, 328 p. 2003.
13. NAGATA, R. Learning biochemistry through manga - Helping students learn and remember, and making lectures more exciting. **Biochem Educ** 1999.
14. AZEVEDO, A.M.P.; LAZZAROTTO, G.B.; TIMM, M.I.; ZARO, M.A. Relato de uma experiência com o uso do Diagrama Metabólico Dinâmico Virtual do Ciclo de Krebs. **Novas Tecnol Na Educ** 2004.
15. BARBOSA, P.P.S.; GADELHA, T.S.; GADELHA, C.A.A.; PERSUHN, DC. Perfil – Biomoléculas. **Revista de Ensino de Bioquímica**, 2014.

16. HEIDRICH, D.N; ANGOTTI, J.A.P. Implantação e avaliação de ensino semipresencial em disciplinas de bioquímica utilizando ambiente virtual de aprendizagem. **Rev. Ensino Bioquim.** 2010; 8(1): 45-58.
17. KISHIMOTO, T. M. **Jogos, brinquedo, brincadeira e educação.** São Paulo: Ed. Cortez, 1996.

ESTUDO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DOS FRUTOS DA *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* (ANACARDEACEAE)

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 19/04/2021

Djalma Menezes de Oliveira

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia,
Departamento de Ciências e Tecnologia - DCT
Campus Jequié-Bahia
<http://lattes.cnpq.br/4074274322996454>

Juliana Lago Leite

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia,
Departamento de Ciências e Tecnologia - DCT
Campus Jequié-Bahia
<http://lattes.cnpq.br/8057951144499042>

Rosane Moura Aguiar

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia,
Departamento de Ciências e Tecnologia - DCT
Campus Jequié-Bahia
<http://lattes.cnpq.br/9786102954711387>

Vilisaimon da Silva de Jesus

Programa de Pós-graduação em Química da
UESB – PGQUI/UESB
Campus Jequié-Bahia
<http://lattes.cnpq.br/3876468517506662>

RESUMO: *Schinus terebinthifolius* pertence à família Anacardiaceae, uma planta endêmica da América do Sul. Muito utilizada como espécie ornamental de ruas e praças, cresce espontaneamente em terrenos baldios, beiras de rios e em áreas litorâneas, é conhecida popularmente como «aroeira-vermelha», “aroeira da praia”, “pimenta rosa “ e “pimenta vermelha

do Brasil”. Seus frutos são muito procurados como temperos em alimentos e bebidas; frutos maduros doces e aromáticos produzem óleo essencial de composição química variada, predominantemente rico em compostos monoterpênicos e poucos sesquiterpenos. Os óleos essenciais de *S. terebinthifolius* obtidos neste estudo mostraram constituições que combinam α -pineno (2,8-22,0%), β -pineno (0,3-31,4%), β -ocimeno (0,0-35,0 %), β -mirceno (0,70-13,3%), δ^3 -careno (3,0-83,4%), óxido de β -cariofileno (2,6-6,8%) e limoneno (3,2-5,9%) como os principais constituintes. A partir de acessos de frutos de *S. terebinthifolius* em três períodos de frutificação anual, foram obtidas amostras de óleos essenciais distintos, as quais foram identificadas e semiquantificadas por GC-MS. O óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolius* obtido no mês de novembro, rico em α -pineno (22,0%), β -pineno (31,4%), óxido de cariofileno (6,8%) e limoneno (4,5%), apresentou expressiva atividade antifúngica contra linhagens dos fungos *Cryptococcus gatti* e *C. neoformans*, bem como revelou moderadas atividades contra cinco espécies de *Candida spp.* Este trabalho descreve a obtenção do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius*, seu estudo químico por cromatografia gasosa e a avaliação de suas ações antifúngicas contra várias espécies de fungos patógenos.

PALAVRAS - CHAVE: *Schinus terebinthifolius*, óleo essencial, monoterpênicos, ação antifúngica.

STUDY OF CHEMICAL CONSTITUENTS AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL FROM *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* FRUITS (ANACARDEACEAE)

ABSTRACT: *Schinus terebinthifolius* belongs to the Anacardiaceae family, an endemic plant in South America. An ornamental species in the streets and squares, it is popularly known as “aroeira-vermelha”, “aroeira da praia”, “pink pepper”, and “red pepper of Brazil”. Its fruits are in great demand as a spice in food and drinks; sweet ripe and aromatic fruits produce essential oil of seasonal chemical composition, predominantly rich in mono and sesquiterpenes compounds, which combine α -pinene (2.8-22.0 %), β -pinene (0.3-31.4 %), β -ocimene (0.0-35.0 %), β -myrcene (0.70- 13.3 %), δ^3 -carene (3.0-83.4 %), β -caryophyllene oxide (2.6-6.8 %) and limonene (3.2-5.9%) as the major constituents. From accessions of the fruits of *S. terebinthifolius* in three periods of annual fruiting of the plant, samples of the essential oils were obtained by hydrodistillation, identified and semi-quantified by GC-MS. The essential oil of *S. terebinthifolius* fruits from the November harvest, rich in α -pinene (22.0%), β -pinene (31.4%), caryophyllene oxide (6.8%) and limonene (4.5%), was the one that showed expressive fungicidal activity against *Cryptococcus gatti* and *C. neoformans* fungi strains and moderate activity against five strains of *Candida spp.* This work describes obtaining essential oil from the fruits of *Schinus terebinthifolius*, its chemical study by gas chromatography, and the evaluation of its antifungal actions against pathological fungi strains.

KEYWORDS: *Schinus terebinthifolius*, essential oil, terpenes, antifungal activity.

1 | INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais e seus substratos ativos, com finalidades terapêuticas, é uma rica tradição que é conservada por diversos povos. Fitoterápicos estão sendo amplamente utilizados como alternativa ou substitutos de substâncias sintéticas no tratamento de inúmeras doenças, devido ao seu baixo custo, disponibilidade e por produzir efeitos menos agressivos ao organismo. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 65-80% da população dos países em desenvolvimento utilizam plantas como única forma de acesso a recursos básicos de saúde. O uso de princípios ativos de plantas tende a um crescente com a evolução dos estudos em Fitoquímica e o interesse por alimentos, aditivos e medicamentos de origem natural pelos consumidores (DEL POETA e CASADEVALL, 2012).

O desenvolvimento de pesquisas fitoquímicas com uso de substratos vegetais vem sendo motivadas pela diversidade de substâncias ativas encontradas em plantas e a contribuição resultante que permite explorar as propriedades medicinais, tanto de componentes químicos voláteis, quanto de substâncias fixas. Os constituintes químicos dos óleos essenciais das plantas vêm despertando grande interesse dos pesquisadores e ganhando destaque devido suas diversas aplicações como produtos naturais ativos, que podem servir à formulação de cosméticos, fármacos e produtos de higiene e alimentos (aromatizantes e flavorizantes). Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias

voláteis provindas dos metabólitos secundários de plantas (fitogênicos). Possuem diversas propriedades biológicas: antioxidante, antimicrobiana, antisséptica, antifúngica, repelente para insetos, termogênica, entre outras, as quais agregam e aumentam o valor e o interesse por esse recurso natural. A maioria dos óleos essenciais derivados de plantas são quimicamente constituídos de terpenos e fenilpropanóides; a parte terpênica é constituída principalmente de monoterpenos e sesquiterpenos.

Anacardiaceae é uma família de plantas que apresenta cerca de 70 gêneros com 600 espécies. O gênero *Schinus* exibe cerca de 29 espécies (BARKLEY, 1944); é um gênero nativo da América do Sul e endêmica na Argentina, Paraguai e na costa brasileira (BARBOSA *et al.*, 2007), principalmente na região de Mata Atlântica, desde o Nordeste até o Sul do país. Dentre as espécies mais comuns do gênero *Schinus* está *S. terebinthifolius* Raddi. Os frutos da *S. terebinthifolius*, conhecido no mercado de especiarias como *pink pepper* (pimenta-rosa), vem despertando grande interesse na indústria de alimentos por seu aroma cítrico e sabor levemente picante. Além disso, vem sendo muito estudados quanto a sua composição química e atividades farmacológicas.

Estudos químicos anteriores indicaram que os óleos essenciais de folhas, flores e frutos de espécies *Schinus* de diferentes regiões são constituídos basicamente de compostos mono e sesquiterpênicos (EL-MASSRY *et al.*, 2009; BARBOSA *et al.*, 2007). As folhas são comumente utilizadas na medicina popular para tratar distúrbios gastrointestinais, problemas respiratórios, micoses e infecções invasivas. Em Jequié, Bahia, cocções de folhas, que podem incluir frutos, de *S. terebinthifolius* são utilizadas popularmente em gargarejos e banhos contra dores de garganta e infecções urinárias. Essas bioatividades variadas foram atribuídas a presença de altos níveis de compostos monoterpenóides nessas espécies (LIMA *et al.*, 2009). Estudos recentes mostram que o óleo essencial dos frutos da espécie *S. terebinthifolius* exibiu um alto potencial antibacteriano contra cepas de *Escherichia coli*; *Bacillus sp.*; *Pseudomonas sp.*; *Klebsiella oxytoca*; *Corynebacterium sp.*; *Nocardia sp.*; *Staphylococcus aureus*; *Enterobacter sp.*; *E. agglomerans* e *Streptococcus* do grupo D. (*Group D Streptococcus*), sendo que algumas espécies Gram-positivas demonstraram maior sensibilidade ao óleo quando comparadas com bactérias Gram-negativas. Cole e colaboradores (2014) associaram as propriedades hidrofóbicas dos óleos essenciais com capacidade destes em causar danos a membrana celular de microorganismos Gram-positivos. Em outra publicação sobre a atividade antimicrobiana do óleo essencial da pimenta-rosa (*S. terebinthifolius*) da região de Minas Gerais contra dezenas de bactérias patogênicas mostraram resultados bastante promissores que incentivaram aplicações tecnológicas (DANNENBERG *et al.*, 2016).

Visando conhecer as qualidades químicas e farmacológicas do óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolius* que ocorre em Jequié, assim como contribuir para ampliar os estudos fitoquímicos sobre esta espécie, este trabalho tem por objetivo identificar a constituição química de três amostras sazonais de óleos essenciais extraídos de frutos

maduros de *Schinus terebinthifolius* por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) e avaliar por meio de testes microbiológicos a ação destes óleos essenciais contra fungos patogênicos oportunistas do gênero *Cryptococcus* e *Candida ssp.*

21 METODOLOGIAS PARA A EXTRAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FÚNGICA

Três amostras de frutos da *S. terebinthifolius* Raddi foram coletadas na zona urbana do município de Jequié-Bahia em três períodos do ano, sendo duas coletas feitas em períodos de temperaturas ambientes consideradas frias ou amenas: maio (OFr-05) e agosto (OFr-08) e uma coletada em novembro (OFr-11), período mais quente para os padrões locais. Voucher de plantas estudadas foram encaminhadas para o Herbário da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e identificadas (registro HUESB 10578) com o apoio da Dra. Guadalupe Edilma Licon de Macedo. A extração dos óleos essenciais dos frutos das *S. terebinthifolius* foram realizadas usando a técnica de hidrodestilação (150-180 min) em sistema extrator tipo Clevenger modificado.

As análises dos constituintes voláteis de amostras de óleos essenciais foram realizadas em um cromatógrafo a gás acoplado a detector de massas – modelo GCMS-QP2010SE (Shimadzu, Japão), utilizando uma coluna OV-5 carregada por gás hélio com fluxo de 1,19 mL/min. As temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas a 220 °C e 280 °C, respectivamente. O forno operou com ajustes de temperaturas inicial e final em 40 °C (mantida por um minuto) e 280 °C (estável por 4 minutos) e taxa de aquecimento de 3°C/minuto. A identificação de cada componente foi realizada por comparação entre os espectros de massas obtidos no cromatograma de íons totais (TIC/CG-EM) com espectros do banco de dados de massas NIST 11 residente na unidade computacional do cromatógrafo. A identificação espectral foi complementada por consultas online aos dados disponíveis no repositório do site da NIST-EUA (LISTROM, e MALLARD, 2017). Além disso, a identificação dos constituintes foi confirmada pela comparação entre os índices de retenção experimentais e os respectivos dados disponíveis na literatura (Adams, 2007). Os índices de retenção (IR) foram calculados com base nos tempos de retenção obtidos nos cromatogramas TIC/CG-EM das amostras de OE's de *S. terebinthifolius* e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares (C_8 - C_{28}).

Os ensaios de atividades antifúngicas foram realizado pelo método de microdiluição em poços contra as leveduras *C. albicans* (SC5314), *C. tropicalis* (ATCC 750), *C. krusei* (ATCC 20298), *C. glabrata* (ATCC 2001), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *Cryptococcus gattii* (ATCC 24065) e *C. neoformans* (ATCC 24067). Os inóculos (100 µL) foram preparados a partir de colônias jovens de fungos, com crescimento em ágar Sabouraud dextrose (ASD), durante 24 horas, a 35°C em 5 mL de solução salina estéril. A suspensão resultante foi agitada por 15 s e a densidade celular foi ajustada pelo método espectrofotométrico a uma

concentração final de $1,5 \cdot 10^3$ células mL⁻¹ (CLSI, 2008). O teste de concentração mínima inibitória (CMI) foi realizado seguindo as orientações prescritas no protocolo M-27-A3 (CLSI, 2008). Amostras de óleo essencial de foram diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO) e, em seguida, foram preparadas diluições seriadas (500-0,97 µg/mL) em meio RPMI 1640 distribuídas em microplacas de 96 poços (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA). O controle de crescimento e esterilidade foi feito em meio RPMI 1640 (Sigma, St. Louis, MO, USA) e como controle de toxicidade do solvente foi utilizado o meio RPMI-DMSO. O fluconazol foi o antifúngico do controle positivo. O controle negativo foi composto por 200 µL de meio de cultura puro. Após a preparação das placas, todos os poços das diluições e controles, com exceção do controle negativo, receberam 100 µL de inóculo fúngico. Os ensaios foram realizados em triplicata e repetidos pelo menos duas vezes. As placas foram incubadas a 35°C durante 48 ou 72 horas (48 h para leveduras do gênero *Candida* e 72 h para o gênero *Cryptococcus*) e a leitura foi realizada visualmente, sendo que a CMI foi considerada como a inibição total do crescimento quando comparado ao crescimento do controle.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os óleos essenciais dos frutos da *S. terebinthifolius* apresentaram os seguintes rendimentos; OFr-11, 1,2% p/p, OFr-05, 1,4% p/p e OFr-08, 1,5% p/p com um valor médio de 1,4% p/p. Esses valores variam em virtude de fatores abióticos tais como clima, qualidade e tipos de solo, época do ano, entre outros.

As composições químicas dos OE's obtidos das três amostras de *S. terebinthifolius* se apresentaram distintas com a ocorrência de alguns constituintes terpênicos incomuns, quando se compara com os dados da literatura. As análises semiquantitativas das três amostras foram realizadas por CG-EM e permitiu a identificação global de 40 componentes (Tabela 1).

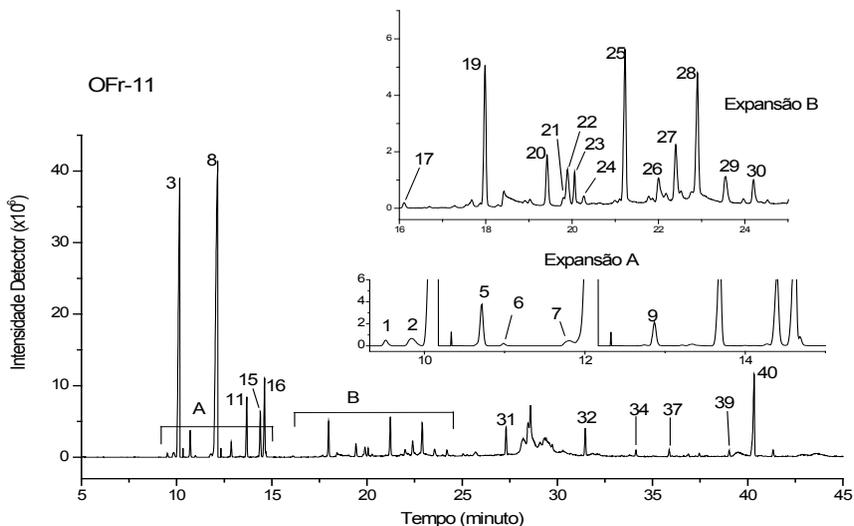


Figura 1. Cromatogramas de íons totais (TIC) obtidos por CGAR-EM de OFr-11.

No cromatograma de íons totais CG-EM (TIC, Figuras 1, 2 e 3) foram considerados como majoritários aqueles constituintes que apresentaram picos com área percentual igual ou superior a 5,0 % da área total do TIC/CG-EM. A amostra OFr-11 apresentou 26 constituintes químicos, sendo os constituintes majoritários o β -pineno (31,37%) (8), α -pineno (22,00 %) (3) e óxido de cariofileno (6,84%) (40). A amostra OFr-05 mostrou um total de 18 compostos e, destes, foram identificados quatro caracterizados como componentes principais: β -ocimeno (35,36%) (14), α -pineno (15,83%) (3), limoneno (5,98%) (16) e β -mirceno (13,32%) (9). Na amostra OFr-08 foram identificados um total de seis compostos sendo o δ^3 -careno (83,40%) (11) e β -mirceno (5,10%) (9) os constituintes majoritários. Considerando que as amostras de OE's foram coletadas em diferentes épocas do ano, atribuímos às mudanças climáticas sazonais como responsáveis pela variação de fatores abióticos, principalmente a temperatura ambiente, que influenciaram nas marcantes diferenças encontradas nas composições dos respectivos OE's (OFr-05, OFr-08 e OFr-11) dos frutos de *S. terebinthifolius* (Tabela 1). De modo geral, os óleos essenciais obtidos neste estudo se caracterizaram por terem um alto teor de monoterpenos não oxigenados como anteriormente relatado na literatura (BARBOSA *et al.*, 2007; DEL POETA e CASADEVALL, 2012).

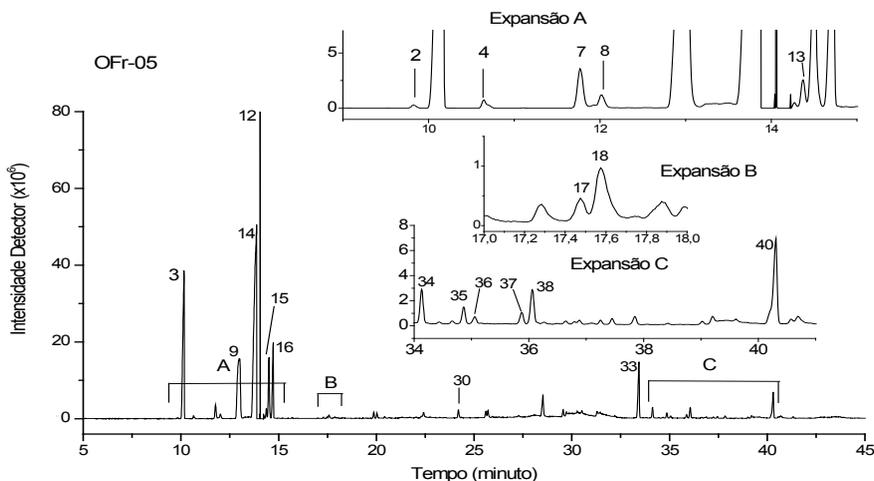


Figura 2. Cromatogramas de ions totais (TIC) obtidos por CGAR-EM de OFr-05.

Os OE's dos frutos da *Schinus* de Jequié se caracterizaram por apresentarem diferenças entre seus constituintes majoritários, ocorrendo poucas similaridades entre as três amostras estudadas (Tabela-1). O β -pineno se mostrou como o constituinte majoritário de OFr-11 (31,37%), enquanto na amostra de OFr-05 o teor de β -pineno foi registrado em quantidade muito baixa (0,33%) e não foi observado em OFr-08.

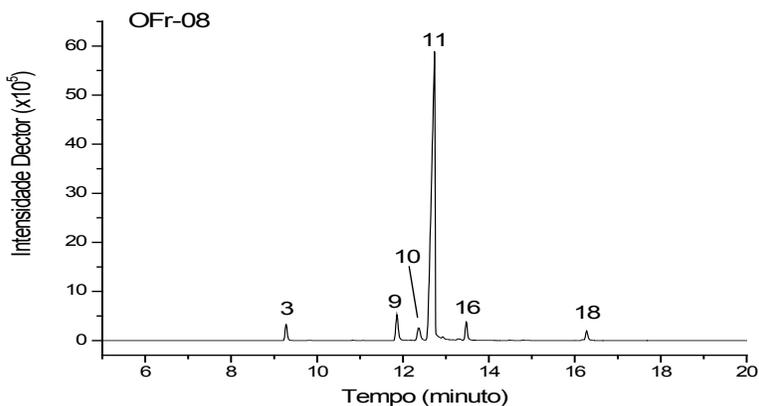


Figura 3. Cromatograma parcial de ions totais (TIC) obtidos por CGAR-EM de OFr-08.

O constituinte α -Pineno foi o único constituinte identificado em todas as três amostras de OE obtidas, apresentando um teor de 15,83% em OFr-05, 2,80% em OFr-08 e 22,00% na amostra coletada no mês de novembro (OFr-11). Esse aumento do teor de α -pineno no mês de novembro pode estar ligado à versatilidade catalítica das enzimas terpeno-sintetases (TPS1), que frequentemente produzem múltiplos produtos a partir de um único substrato.

O óleo OFr-08 foi o que apresentou uma constituição química bastante concordante com a de outros OE's de frutos de *S. terebinthifolius* descritos na literatura para espécies cultivadas na Bahia (GOIS, 2014), Minas Gerais (BARBOSA *et al.*, 2007) e Espírito Santo (COLE *et al.*, 2014). Nestes três estudos citados, o constituinte mais abundante foi o δ^3 -careno apresentando teores de 41,01%, 29,22% e 30,37%, respectivamente.

Picos	Constituintes	OFr-11	OFr-05	OFr-08	IR cal.	
		IR lit.	%A	%A		%A
1	triciclono	926	0,2		920	
2	α -tujeno	931	0,4	0,1	926	
3	α -pineno	932	22,0	15,8	2,8	932
4	α -fencheno	941		0,3		940
5	canfeno	946	1,1			941
7	1,3,5-cicloheptatrieno, 3,7,7-trimetila	970	0,2	1,3		960
8	β -pineno	974	31,4	0,3		966
9	β -mirceno	991	0,7	13,3	5,1	979
10	α -felandreno	1004			3,2	1007
11	δ^3 -careno	1011	3,0		83,4	1012
12	α -terpineno	1018		3,5		1018
13	<i>o</i> -cimeno	1020		0,7		1023
14	β -ocimeno	1023		35,4		1015
15	<i>p</i> -cimeno	1026	2,5	4,8		1022
16	limoneno	1027	4,5	5,9	3,2	1027
18	α -terpinoleno	1088		0,2	1,6	1079
19	óxido de α -pineno	1095	1,9			1081
20	α -canfolenol	1130	0,7			1123
21	óxido de limoneno	1133	0,1			1129
22	α -pinocarvenol	1139	0,3			1134
23	(1 <i>R</i>)-(+)-nopinona	1142	0,5			1131
25	pinocarvona	1164	2,1			1153
26	terpinen-4-ol	1177	0,3			1165
27	criptona	1183	0,8			1172

28	mirtenal	1193	1,8		1180
29	<i>cis</i> - verbenona	1204	0,4		1222
30	eucarvona	1222	0,3	0,7	1231
31	acetato de bornil	1285	1,6		1271
32	α -copaeno	1376	1,6		1364
33	isocariofileno	1428		2,1	1420
34	<i>trans</i> - α -bergamoteno	1433	0,4	5,4	1433
35	α -humuleno	1436		0,8	1445
36	<i>cis</i> - β -farneseno	1455		0,4	1449
37	γ -muuroloeno	1457	0,4		1463
38	germacreno-D	1465			1467
40	óxido de cariofileno	1561	6,8	2,6	1569
TOTAL			90,1	91,6	98,7

IR_{Calc.} = Índice de Retenção calculado pela equação de Kolvets (Admas, 2007). IR_{Lit.} = Índice de Retenção da literatura. %A= Porcentagens em área dos picos em relação a área total.

Tabela 1. Composição química dos óleos essenciais de *S. terebinthifolius* obtidos em três períodos do ano.

Entretanto, o alto conteúdo (83,4%) de δ^3 -careno verificado na amostra OFr-08 foi atribuído a possíveis reações de rearranjo entre compostos monoterpenos isoméricos, considerando a hipótese de que estas reações podem ser catalisadas por mudanças na temperatura ambiente, levando em conta que, no período de coleta dos frutos, ocorreram temperaturas entre 13,5-41,0 °C, sendo que as mais baixas foram registradas no mês de agosto e podem ter favorecido a produção de δ^3 -careno pela planta (ver Figura 4). Segundo o Sistema de Monitoramento Agrometeorológico-Agritempo, em agosto de 2016 no município de Jequié ocorreram as temperaturas mais baixas do ano, quando os termômetros indicaram mínimas de até 13,5°C (<https://www.agritempo.gov.br>).

Na Tunísia, Bendaoud *et al.* (2010) determinaram a composição química do OE de *S. terebinthifolius* contendo majoritariamente α -felandreno (34.38%), β -felandreno, γ -cadineno (18.04%) (10.61%), α -terpineol (5.60%), α -pineno (6.49%) e *p*-cimeno (7.34%), enquanto Piras *et al.* (2017) determinou os seguintes terpenoides como majoritários: α -felandreno (39,6 %), β -felandreno (22,9 %) e α -pineno (18,4 %).

A predominância dos monoterpenos α e β -pineno na amostra OFr-11 indicou um potencial valor comercial para este óleo essencial, devido ao alto conteúdo exclusivo de monoterpenos. Diferentemente de outros OE's de frutos de *S. terebinthifolius* apresentados na literatura, o óleo proveniente de espécimes cultivadas em Jequié, como o que foi obtido em OFr-11, apresentou alto teor de β -pineno, indicando que podemos estar diante de um geotipo ou quimiotipo da espécie *S. terebinthifolius*, em que possíveis variações naturais ocorridas na espécie resultaram em mudanças importantes na constituição química de seu OE. Corroborando essa hipótese, encontramos na literatura que o metabólito β -pineno

também se apresentou como constituinte majoritário em OE's dos frutos de *S. terebinthifolius* coletados em Dourados, MS, Brasil (CARVALHO *et al.*, 2013), provavelmente um quimiotipo similar ao que ocorre em Jequié, Bahia, relatado neste estudo.

Os resultados desse estudo indicaram que a sazonalidade climática com variações de umidade temperatura de até 27 °C afetou qualitativa e quantitativamente a composição dos constituintes químicos dos OE's de *S. terebinthifolius* coletados em Jequié, Bahia. Considerando as hipóteses (i) de que as plantas, através dos mecanismos de suas rotas biossintéticas, favorecem a produção dos seus metabólitos secundários de acordo com suas necessidades e suas relações ecológicas (GOBBO-NETO e LOPES, 2007) e (ii) que a temperatura ambiente se caracteriza como um importante fator para a atividade enzimática na biossíntese de metabólitos secundários; então, ocorreu a produção de óleo essencial com maior número de constituintes na época do ano em que se observou temperaturas mais elevadas (SCHNEE *et al.*, 2002). Deste modo, em Jequié, onde o clima é classificado como Aw de acordo com a Köppen e Geiger (<https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/bahia/jequie-4465/>), bem como em outras cidades da região da caatinga nordestina, onde, no verão, as temperaturas podem variar entre 37 a 41 °C durante longos períodos, as espécies de *S. terebinthifolius* encontram condições favoráveis a síntese de terpenos.

A variabilidade química detectada entres os constituintes voláteis encontrada nos espécimes de *S. terebinthifolius* coletadas em Jequié, nos permite inferir teoricamente que as condições climáticas locais (baixa disponibilidade hídrica e altas temperaturas) podem estar relacionadas a possíveis reações químicas de rearranjos. A Figura 4 mostra a proposta de alguns rearranjos intramoleculares possíveis entre os constituintes monoterpênicos do OE's de frutos de *S. terebinthifolius*.

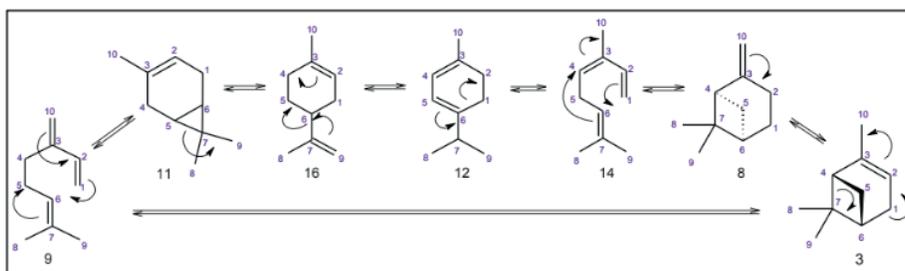


Figura 4. Proposta de rearranjos intramoleculares possíveis entre isômeros $C_{10}H_{16}$ de hidrocarbonetos monoterpênicos.

A prevalência da rota biossintética de compostos monoterpênicos em *S. terebinthifolius*, assim como os rearranjos intramoleculares possíveis entre estes metabólitos, sugerem que, em épocas de temperaturas mais baixas ocorre o favorecimento da produção do δ^3 -careno (11), como foi observado na amostra OFr-08 (Tabela 1). Na amostra OFr-11, obtida em

temperaturas mais altas, provavelmente ocorreu a rota inversa, favorecendo a formação de monoterpenos como α -pineno (**3**), β -pineno (**8**), β -ocimeno (**14**) e em menor quantidade, β -mirceno (**9**) e limoneno (**16**). Por outro lado, atribuímos a redução na produção de δ^3 -careno (**11**) em temperaturas mais altas, à baixa estabilidade do anel de três membros de sua estrutura química (Figura 4). Para a amostra coletada em maio (OFr-05) atribuímos comportamento intermediário entre as amostras de agosto e novembro (ver Tabela 1).

O efeito tóxico contra microrganismos dos compostos monoterpenos está relacionado a capacidade dos componentes dos óleos essenciais em romper ou penetrar a estrutura lipídica presente em bactérias Gram-positivas, devido a suas propriedades hidrofóbicas, (KOYAMA *et al.*, 1997, Dannenberg *et al.*, 2016). O rompimento da camada lipídica resulta na expansão da membrana celular do micro-organismo, inibindo a respiração celular e os processos de transporte iônico (BISIGNANO *et al.*, 2005). A camada de lipopolissacarídeo (LPS) presente na superfície de membranas externas de bactérias Gram-negativas tem baixa afinidade química aos componentes hidrofóbicos de óleos essenciais, assim, os micro-organismos Gram-negativos se mostram menos sensíveis aos óleos essenciais (Dannenberg *et al.*, 2016). No entanto, não é possível atribuir um mecanismo de ação específico aos óleos essenciais em geral, uma vez que os óleos voláteis são misturas complexas e variáveis de compostos químicos que podem atuar em diferentes localidades das células dos micro-organismos (CARSON, MEE e RILEY, 2002). Os efeitos fungitóxicos de óleos essenciais são bastante complexos e podem envolver vários mecanismos de ação. Suas atividades podem ser mediadas por meio da inibição de esteroides na membrana dos fungos ou por interferências na morfogênese de hifas. Os óleos essenciais também podem causar danos na fluidez da membrana celular dos fungos, causando vazamento do material citoplasmático e perda de viabilidade. Por exemplo, a permeabilidade da membrana e a atividade da cadeia respiratória em células de *C. albicans* são bloqueadas na presença de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, resultando em morte celular (RAUT *et al.*, 2014). Os monoterpenos majoritários presentes no OE dos frutos de *S. terebinthifolius* são, provavelmente, os responsáveis pela alta atividade antifúngica diante das espécies testadas, consistindo em potencial agentes antifúngico.

Com base em evidências mostradas sobre o potencial antibiológico do óleo essencial dos frutos de espécies de *Schinus* foram realizados ensaios para se avaliar atividade antifúngica dos OE's extraídos de *S. terebinthifolius*, contudo, a amostra OFr-11, provavelmente devido ao teor elevado de α e β pinenos, foi a que apresentou os mais promissores valores de concentração mínima inibitória (CMI) contra vários fungos oportunistas. Os compostos α e β pinenos, que se apresentam entre os metabólitos majoritários na amostra OFr-11, exibem atividades inseticidas, fungicidas e atividade antimicrobiana contra *C. albicans*, *C. neoformans* e *R. oryzae* já descritas (SILVA *et al.*, 2012). Os resultados da atividade antifúngica para o óleo essencial OFr-11, obtido de frutos da *S. terebinthifolius*, estão mostrados na Tabela 2.

O ensaio de atividade fungicida realizado pelo método de microdiluição em poços mostrou que o OE dos frutos da *S. terebinthifolius* foi ativo contra quatro das sete espécies de micro-organismos testados (Tabela 2). Foram registradas atividades antifúngicas efetivas de OFr-11 contra o fungo *Cryptococcus neoformans* (CMI de $7,8 \mu\text{g mL}^{-1}$) e contra cepas de *C. gattii* (CMI de $15,63 \mu\text{g mL}^{-1}$). Entretanto, OFr-11 apresentou atividades moderadas contra os espécimes de *C. krusei* ($31,25 \mu\text{g mL}^{-1}$) e *C. parapsilosis* ($62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$), sendo que o fungo *C. krusei* se mostrou igualmente sensível a OFr-11, quando comparado ao controle ($32,0 \text{ mg mL}^{-1}$).

Levedura/Substância	OFr-11 ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Controle Fluconazol ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
<i>Candida albicans</i>	125,0	0,125
<i>C. glabrata</i>	125,0	4,0
<i>C. tropicalis</i>	250,0	2,0
<i>C. parapsilosis</i>	62,5	1,0
<i>C. krusei</i>	31,3	32,0
<i>Cryptococcus gattii</i>	15,6	2,0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	7,8	2,0

Tabela 2. Concentração Mínima Inibitória (CMI) em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de Óleo Essencial da *S. terebinthifolius* contra fungos patógenos.

Nota: os dados foram expressos em média ($n=3$, $p<0,05$)

Em relação aos fungos *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, OFr-11 apresentou atividades pouco expressivas (CMI de $125\text{-}250 \mu\text{g mL}^{-1}$) quando comparado aos valores do controle, fluconazol (CMI de $0,125\text{-}4 \mu\text{g mL}^{-1}$, Tabela-2). Os resultados desta pesquisa foram coerentes com os dados encontrados por Cole *et al.* (2014), onde os testes para o OE de frutos da *S. terebinthifolius* exibiram altos potenciais inibitórios com valores de CMI inferiores ao do controle contra cepas selvagens de micro-organismos de origem hospitalar. Assim como, nos estudos conduzidos por Piras *et al.* (2017), onde se verificou que voláteis dos frutos de *S. terebinthifolius* da Tunísia também apresentaram promissoras atividades antifúngicas.

4 | CONCLUSÕES

O estudo dos constituintes voláteis de três amostras de óleos essenciais extraídos dos frutos de *S. terebinthifolius* permitiram a identificação de 40 constituintes químicos com a maioria (cerca de 86% em média) constituída de compostos pertencentes à classe dos monoterpenos. O óleo essencial de frutos de *S. terebinthifolius* coletados no mês de novembro apresentou excelente atividade antifúngica contra as cepas de *Cryptococcus neoformans*, *C. gatti* e moderadas a fracas inibições contra espécies do gênero *Candida*. Os resultados obtidos neste estudo químico e biológico corroboram o uso de *Schinus terebinthifolius* na medicina popular e mostraram que a sazonalidade climática com altas variações na temperatura ambiente, associadas a outros fatores abióticos, em tese, promovem variações na composição dos constituintes químicos voláteis do óleo essencial da planta *Schinus terebinthifolius* coletado em Jequié, Bahia. Além disso, foi observado que as variações sazonais nas composições químicas dos óleos essenciais podem modificar as suas propriedades farmacológicas, bem como as suas funcionalidades. Estudos posteriores serão necessários para confirmar a hipótese de ocorrência do quimiotipo (ou geotipo) α e β -pineno de *S. terebinthifolius* em Jequié, Bahia.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus sinceros agradecimentos à Professora Dra. Suzana Johann do Laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB-UFMG) pela realização dos ensaios antifúngicos.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy**. 4. ed. Carol Stream: Allured, 2007. 469 p.

BARBOSA, L.C.A.; DEMUNER, A.J.; CLEMENTE, A.D., PAULA, V.F DE; ISMAIL, F.M.D. **Seasonal Variation in the Composition of Volatile Oils from *Schinus terebinthifolius* RADDI**. Química Nova, v.30, n.8, p.1959-1965, 2007.

BARKLEY, F.A. ***Schinus L.*** Brittonia, v. 5, n. 2, p. 160-198, 1944.

BENDAOU, H.; ROMDHANE, M.; SOUCHARD, J. P.; CAZAUX, S.; BOUJILA, J.; J. **Chemical Composition and Anticancer and Antioxidant Activities of *Schinus Molle L.* and *Schinus terebinthifolius Raddi* barriers essential oils**. Journal of Food Science, v. 75, n. 6, p.466-472, 2010.

BISIGNANO, G.; TROMBETTA, D.; CASTELLI, F.; SARPIETRO, M. G.; VENUTI, V.; CRISTANI, M.; DANIELE, C.; SAIJA, A.; MAZZANTI, G. **Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes**. Antimicrob Agents Chemother, v.49. p. 2474-2478, 2005.

- CARVALHO, M.G.; MELO, A.G.N.; ARAGÃO, C.F.S.; RAFFIN, F.N.; MOURA, T.F.A.L. ***Schinus terebinthifolius* Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity**. Brazilian Journal of Medical Plants, v.15, n. 1, p. 158-169, 2013.
- CARSON, C.F.; MEE, B.J.; RILEY, T.V. **Mechanisms of Action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy**. Antimicrob Agents Chemother, v.46, p.1914-1920, 2002.
- COLE, E.R; dos SANTOS, R.B.; LACERDA JÚNIOR, V.; MARTINS, J.D.L.; GRECO, S.J., CUNHA NETO, A. **Chemical composition of essential oil from ripe fruit of *Schinus terebinthifolius* Raddi and evaluation of its activity against wild strains of hospital origin**. Brazilian Journal of Microbiology, v.45, n.3, p.821-828, 2014.
- DANNENBERG, G. da S.; FUNCK, G.D.; MATTEI, F.J.; SILVA, W.P.; FIORENTINI, A.M. **Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil from pink pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) in vitro and in cheese experimentally contaminated with *Listeria monocytogenes***. Innovative Food Science and Emerging Technologies, v.36, p.120-127, 2016.
- DEL POETA, M. & CASADEVALL, A. **Ten challenges on Cryptococcus and Cryptococcosis**. Mycopathologia, v.173, n. 1, p. 303–310, 2012.
- EL-MASSRY, K. F.; EL-GHORAB, A. H.; SHAABAN, H. A.; SHIBAMOTO, T. **Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 57, n. 5, p. 5265-70, 2009.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. **Plantas Mediciniais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários**. Química Nova, v.30. n. 2, p. 374-381, 2007.
- GOIS, D. F.; **ÓLEO ESSENCIAL DA AROEIRA (*Schinus terebinthifolius* Raddi) COMO ALTERNATIVA AOS ANTIMICROBIANOS MELHORADORES DE DESEMPENHO PARA LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS**, 2014, p.67, Dissertação (Mestrado Ciências Animal) - Universidade Federal da Bahia, Ilhéus, 2014.
- KOYAMA, S.; YAMAGUCHI, Y.; TANAKA, S.; MOTOYASHIMA, J. **A new substance (yoshixol) with an interesting antibiotic mechanism from wood oil of japanase traditional tree (kiso hinoki), *Chamaecyparis obtusa***. General Pharmacology, v. 28, p.797- 804, 1997.
- LIMA, L. B.; VASCONCELOS, C. F. B.; MARANHÃO, H. M. L.; LEITE, V. R.; FERREIRA, P. A.; ANDRADE, B. A.; ARAÚJO, E. L.; XAVIER, H. S.; LAFAYETTE, S. S. L.; WANDERLEY, A. G. **Acute and subacute toxicity of *Schinus terebinthifolius* bark extract**. Journal of Ethnopharmacology, v. 126, p. 468-73, 2009.
- LISTROM, P.J.; MALLARD, W.G. **NIST Chemistry WebBook**, NIST standard reference database number 69. Disponível em: <http://webbook.nist.gov/chemistry>. October- January 2016-2017.
- MELO JÚNIOR, E.J.M. DE; RAPOSO, M.J.; LISBOA NETO, J.A.; DINIZ, M.F.A.; MARCELINO JÚNIOR, C.A.C.; SANT'ANA, A.E.G. **Medicinal plants in the healing of dry socket in rats: Microbiological and microscopic analysis**. International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology, v.9, n.2, p.109-116, 2002.

MIRANDA, C.A.S.F. **Atividade antioxidante das folhas de diversas plantas**, 2010, p.138, Dissertação (Mestrado Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2010.

PIRAS, A., MARZOUKI, H., FALCONIERI, D., PORCEDDA, S., GONÇALVES, M. J., CAVALEIRO, C., & SALGUEIRO, L. **Chemical Composition and Biological Activity of Volatile Extracts from Leaves and Fruits of *Schinus terebinthifolius* Raddi from Tunisia**. Records of Natural Products, v.11, n.1, p.9-16, 2017.

RAUT, J.S. KARUPPAYIL, S.M. **A status review on the medicinal properties of essential oils**. Industrial Crops and Products, volume 62. p.250 – 264, 2014.

SCHNEE, C.; KÖLLNER, T. G.; GERSHENZON, J.; DEGENHARDT, J.; **The Maize Gene *terpene synthase 1* Encodes a Sesquiterpene Synthase Catalyzing the Formation of (*E*)- β -Farnesene, (*E*)-Nerolidol, and (*E,E*)-Farnesol after Herbivore Damage**. Plants physiology, v.130, p.2049, 2002.

SILVA, A.C.R.da; LOPES, P.M.; AZEVEDO, M.M.B.de; COSTA, D.C.M.; ALVIANO, C.S.; ALVIANO, D.S. **Biological Activities of α -pinene and β -pinene enantiomers**. Molecules, v.17, p. 6305-6316, 2012.

CAPÍTULO 16

EXSUDADOS UTILIZADOS COMO REMÉDIOS PELOS CABLOCOS DO RIO UNINI, AM, BRASIL - CLASSIFICAÇÃO BASEADA EM SEUS COMPOSTOS QUÍMICOS

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 06/04/2021

SP, Brazil

São Paulo, SP – Brasil

<http://lattes.cnpq.br/5841447439806263>

Thamara Sauini

Department of Biological Sciences, Centro de Estudos Etnobotânicos e Etnofarmacológicos, Universidade Federal de São Paulo, Diadema, SP, Brazil

São Paulo, SP – Brasil

<http://lattes.cnpq.br/7906880719492754>

Joao Henrique Ghilardi Lago

Universidade Federal do ABC, Centro de Ciências Naturais e Humanas.

Santo André, SP - Brasil

<http://lattes.cnpq.br/2325513222088331>

Eliana Rodrigues

Department of Biological Sciences, Centro de Estudos Etnobotânicos e Etnofarmacológicos, Universidade Federal de São Paulo, Diadema, SP, Brazil

Diadema, SP - Brasil

<http://lattes.cnpq.br/2830288889321370>

Juliana de Faria Lima Santos

Coordenação em Ciência e Tecnologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brazil

São Luís, MA - Brasil

<http://lattes.cnpq.br/1218335380612548>

Marcelo Funicelli de Oliveira

Department of Biological Sciences, Centro de Estudos Etnobotânicos e Etnofarmacológicos, Universidade Federal de São Paulo, Diadema, SP, Brazil

São Paulo, SP – Brasil

<http://lattes.cnpq.br/8569405292079583>

Fernando Cassas Salles Machado

Department of Biological Sciences, Centro de Estudos Etnobotânicos e Etnofarmacológicos, Universidade Federal de São Paulo, Diadema, SP, Brazil

Diadema, SP – Brasil

<http://lattes.cnpq.br/4198946458633556>

Priscila Baptistella Yazbek

Department of Biological Sciences, Centro de Estudos Etnobotânicos e Etnofarmacológicos, Universidade Federal de São Paulo, Diadema,

RESUMO: Embora o uso de exsudados na medicina tradicional tenha sido observado comumente durante levantamentos etnofarmacológicos, poucos registros foram feitos acerca do mérito científico desses produtos. O foco deste estudo foi documentar dados etnofarmacológicos e classificar exsudados usados como medicamento pelos “caboclos” do Rio Unini, no Amazonas, Brasil, com base em análises clínicas. Por meio de uma abordagem etnográfica, as plantas indicadas e seus respectivos exsudados foram coletados, identificados e incorporados ao herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Para classificar estes exsudados, o material vegetal foi extraído com metanol, e os extratos obtidos foram analisados por ressonância magnética nuclear e espectrometria de massa visando a identificação dos principais compostos.

Quinze exsudados foram indicados pelos “caboclos” como remédios caseiros; entre seus usos terapêuticos, os processos inflamatórios, as síndromes ligadas à cultura e as doenças respiratórias são os mais proeminentes. Com base em sua solubilidade e classificação química, quinze exsudatos foram categorizados em: látex (7), resinas (5), seiva (1), goma (1), oleoresina (1); e onze deles não foram mencionados na literatura farmacológica até o presente momento. Os resultados obtidos podem contribuir para a aplicação química/farmacológica de exsudatos dessas espécies, várias das quais são classicamente utilizadas na medicina popular brasileira.

PALAVRAS - CHAVE: Floresta amazônica, Etnobotânica, Plantas medicinais, Etnofarmacologia, Fitoquímica de exsudados

EXUDATES USED AS MEDICINE BY THE “CABOCLOS RIVER-DWELLERS” OF THE UNINI RIVER, AM, BRAZIL – CLASSIFICATION BASED IN THEIR CHEMICAL COMPOSITION

ABSTRACT: Although the use of exudates in traditional medicine has been commonly observed during ethnopharmacological surveys, few records have been made concerning the scientific merits of these products. The aim of this study was to document ethnopharmacological data and to classify exudates used as medicine by the “caboclos” river-dwellers from the Unini River of Amazonas, Brazil, on chemical analyses basis. Using an ethnographic approach, indicated plants and their respective exudates were collected, identified and incorporated into herbarium of the National Institute of Amazonian Research. To classify these exudates, plant material was extracted using methanol, and obtained extracts were analyzed by Nuclear Magnetic Resonance and mass spectrometry aiming identification of main compounds. Fifteen exudates were indicated by “caboclos” river-dwellers as home remedies; among their therapeutic uses, inflammatory processes, culture-bound syndromes and respiratory diseases are most prominent. Based on their solubility and chemicals classes, fifteen exudates were classified into: latex (7), resins (5), sap (1), gum (1), oleoresin (1); and eleven of them have not been mentioned on pharmacological literature until this moment. The obtained results may contribute to chemical/pharmacological application of exudates from these species, several of which have been classically used in Brazilian folk medicine.

KEYWORDS: Amazon forest, Ethnobotany, Medicinal plants, Ethnopharmacology, Exudates phytochemistry.

1 | INTRODUÇÃO

Embora o uso de exsudados na medicina tradicional tenha sido comumente observado durante pesquisas etnofarmacológicas, poucos registros foram feitos sobre os méritos científicos destes produtos. No Brasil, o uso de resina tem sido notado entre as etnias de Kapoor (Balée, 1994), Paumari (Prance *et al.*, 1987) e Waimiri Atroari (Milliken *et al.*, 1992). Uma possível explicação para a lacuna nos registros é a dificuldade em identificar os exsudados, uma vez que estes se assemelham na aparência física. No entanto, sua caracterização e meios de distinção têm sido facilitado nos últimos anos, como resultado dos desenvolvimentos tecnológicos em química, biologia molecular e microscopia.

Exsudados solúveis em água incluem gomas, que são compostas de polissacarídeos e são secretados por poços; e seivas, compostas de polissacarídeos e aminoácidos, conforme descrito por Langenheim (2003). Segundo o mesmo autor, exsudados solúveis em gordura incluem resinas e oleorresinas, que são compostas por terpenóides e compostos fenólicos secretados por canais resiníferos, cavidades, tricomas e células epidérmicas; os óleos são compostos de ácidos graxos e glicerol; e o látex é uma mistura complexa de terpenóides, compostos fenólicos, proteínas e carboidratos e é secretado por laticíferos. Não só os exsudados são pouco estudados do ponto de vista etnofarmacológico, mas, até onde sabemos, poucos estudos farmacológicos e químicos foram realizados em exsudados. Por outro lado, existem culturas amazônicas cujos usos medicinais de exsudados precisam ser identificados e documentados antes de serem perdidos devido à rápida introdução de medicamentos sintéticos. Portanto, o objetivo deste estudo é documentar dados etnofarmacológicos e classificá-los, com base em análise química, os exsudados (como látex, resina, oleorresina e assim por diante) usados como medicamento por ribeirinhos “caboclos” do Rio Unini do Amazonas, Brasil.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Dados etnofarmacológicos

Os exsudados analisados neste estudo foram indicados por doze curandeiros de ribeirinhos “caboclos” que vivem em duas comunidades ao longo do Rio Unini da Amazônia, Brasil (**Fig. 1**), durante 11 meses de trabalho de campo, entre abril de 2008 e janeiro de 2012 por um dos os autores (JFLS). Para a seleção de especialistas em cura locais, uma amostra de “bola de neve”, conforme descrito por Bernard (1988), foi realizada por consulta aos habitantes locais das comunidades ribeirinhas. Técnicas e métodos etnográficos foram aplicados, incluindo observação participante, diários de campo, entrevistas informais e não estruturadas (Bernard, 1988; Foote-Whyte, 1990). Durante as entrevistas, as seguintes fichas de dados foram administradas: informações pessoais do entrevistado, pesquisa etnofarmacológica (ingredientes, usos, partes usadas, modo de preparação e contra-indicações de plantas e animais usados para fins terapêuticos) e coleta de plantas (nome popular, hábito, época de floração/frutificação, organoléptico e aspectos morfológicos) (Santos *et al.*, 2012). Os exsudados indicados pelos entrevistados e seus respectivos materiais vegetais foram coletados durante o trabalho de campo nas comunidades de Terra Nova (01°41 “S, 61°49” W) e Tapiira (01°46 “S, 62°13” W) (**Fig. 1**), identificados pelo Sr. José Ramos, técnico em taxonomia vegetal, e incorporados ao herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Antes do trabalho de campo, todas as autorizações necessárias foram obtidas para o estudo, incluindo alvará de acesso às Unidades de Conservação, a fim de garantir a coleta de amostras, transporte do material biológico e acesso ao conhecimento tradicional associado, e consentimento prévio dos informantes.

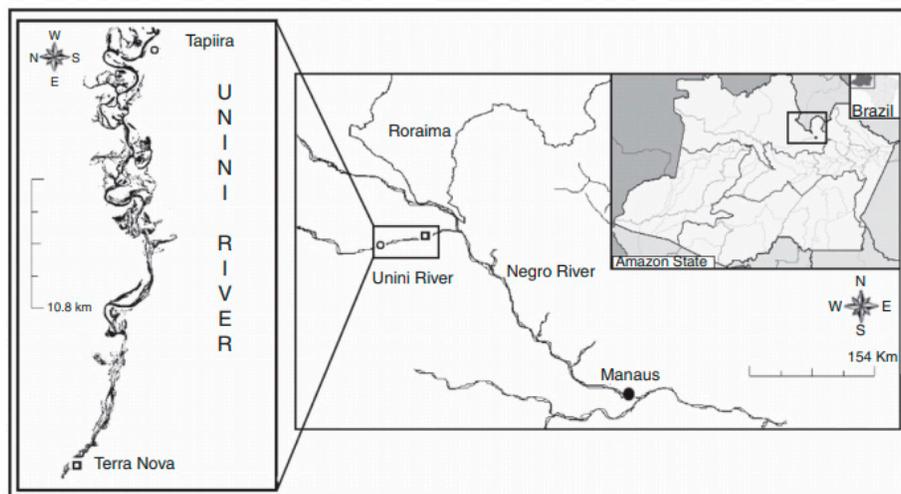


Figura 1. Localização do rio Unini no bioma floresta Amazônica, Estado do Amazonas - Brasil (mapa à direita). Localização de duas comunidades do Rio Unini, onde os exsudatos foram coletados durante o trabalho de campo: Terra Nova - 01°41 "S, 61°49" W e Tapiira - 01°46 "S, 62°13" W (esquerda).

Fonte: Fundação Vitória Amazônica (2005).

Extração de exsudados

Os exsudados líquidos (látex, oleorresina e seiva), foram obtidos a partir de troncos de suas respectivas árvores por incisões utilizando facão ou faca, dependendo da espessura das cascas. Uma cânula de metal pontiaguda foi adaptada no tronco de cada árvore para coleta de exsudatos. Os exsudatos sólidos e semi-sólidos (resina e goma, respectivamente), estavam presos em troncos de árvores; portanto, foram coletados manualmente. Todos os exsudatos foram colocados em vidros âmbar, devidamente rotulados com datas e códigos numéricos correlacionando-os às árvores das quais foram coletados. Esses recipientes foram guardados em uma caixa de isopor até chegarem ao laboratório onde seus extratos foram preparados para análises químicas. Todos os exsudatos foram secos após a coleta, antes da preparação dos extratos.

Preparação dos extratos e análises químicas

A solubilidade dos exsudatos obtidos foi avaliada usando 10 mg de cada material vegetal e 1 ml de H₂O ou hexanos em um tubo de ensaio. Então, exsudatos foram extraídos usando MeOH (50 ml de solvente para cada 10 g de material vegetal) em um banho ultrassônico em temperatura ambiente durante 20 minutos. Após a evaporação do solvente sob pressão reduzida, os extratos brutos obtidos foram analisados por ¹H e ¹³C RMN (ressonância magnética nuclear) espectroscopia em um espectrômetro BrukerAvance 300

(Núcleos de 300 MHz a ^1H e 75 MHz a ^{13}C , respectivamente) usando CDCl_3 , CD_3OD , $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, $(\text{CD}_3)_2\text{O}$ ou D_2O como solventes e padrão interno. Os extratos brutos também foram analisados por HPLC/ESIMS (cromatografia líquida/espectrometria de massa de ionização por electrospray) usando o equipamento da Bruker Daltonics Esquire 3000 Plus. O Sistema HPLC foi acoplado a uma coluna Zorbax-C18 (250 mm \times 4,6 mm, 3,55 m, Agilent, EUA) a 40 °C. Os solventes H_2O e acetonitrila (CH_3CN) foram usados, começando com 15% de CH_3CN (0-20 minutos), aumentando para 100% (20-25 minutos), isocrático (5 minutos) e diminuindo para 15% (30-32 minutos), e isocrático (3 minutos) com taxa de fluxo de 1 ml/minuto. O volume de injeção foi de 3 μl e a detecção de UV a 352 nm e 280 nm. o espectro ESIMS (baixa resolução) foram registrados em modos de varredura completa e varredura de íons de produto (argônio CID). A fonte de íons foi definida da seguinte forma: gás nebulizador = 3 l/minuto, gás de dessolvatação = 15 l/minuto, DL = 150 °C, bloco de calor = 300 °C e tensão = 3,5 kV. GC/EIMS (cromatografia gasosa/espectrometria de massa de impacto eletrônico de baixa resolução) medidos em um cromatógrafo Shimadzu GC-17A equipado com uma coluna capilar DB-5 (5% fenil reticulado em 95% de silicone - 30 m, 0,32 mm, I.D., Espessura de filme de 0,25 μm) interfaceado com um espectrômetro de massa MS-QP-5050A. A programação da temperatura foi realizada de 150 a 300 °C a 15 °C/minuto, depois isotérmica a 300 °C por 5 minuto. As temperaturas do Injetor e do detector eram 150 °C e 320 °C, respectivamente, e o hélio foi usado como gás de arraste. A identificação de compostos foi conduzida por análise individual de espectros NMR e MS (baixa resolução). Os dados obtidos foram comparados com os registrados para amostras autênticas (α - e β - amirina, sitosterol, estigmasterol, quercetina, quercitrina, catequina, lupeol, friedelina, ácido betulínico, ácido copálico, ácido oleanólico, ácido ursólico, ácido palmítico, ácido brasiliense e ácido isobrasiliense estavam disponíveis em nosso laboratório enquanto lisina e triptofano foram obtidos da Sigma-Aldrich) e/ou com aqueles disponíveis na literatura.

Levantamento bibliográfico

A partir das espécies de plantas identificadas, pesquisamos bancos de dados científicos (Pubmed e Scopus junho/2015) para determinar se seus exsudatos foram alvos de estudos farmacológicos anteriores.

3 | RESULTADOS

Todos os doze entrevistados (sete mulheres e cinco homens) nasceram na região do médio Rio Negro e são descendentes de habitantes dos estados do Amazonas e Ceará. Eles se classificam nas seguintes categorias: conhecedores de drogas naturais (de acordo com os entrevistados), curandeira (3), parteira (2) e 'desmintidor' (um especialista em técnicas de massagem para tratamentos de luxação óssea e tensão muscular) (1). Eles

relataram ter aprendido a cura prática com pais, parentes, amigos, vizinhos e, muitas vezes, como um resultado do interesse próprio, como é o caso das parteiras e ‘desmintidores’ (Santos *et al.*, 2012). Conforme mostrado na **Tabela 1**, os ribeirinhos “caboclos” indicaram quinze exsudados. Membros da família Burseraceae eram os mais frequentemente identificados, totalizando quatro espécies. Seus usos terapêuticos foram apresentados em seus termos locais (ênicos) e estão assinalados em itálico ao longo deste capítulo. Entre seus usos terapêuticos, os processos inflamatórios, síndromes ligadas à cultura e doenças respiratórias são os mais proeminentes. Síndromes ligadas à cultura são listadas como derrame (acidente vascular cerebral) e ‘doença do ar’, que serão detalhados a seguir.

Família	Nome científico/ nomenclatura vernacular (voucher)	Uso medicinal (em termos locais)	Estudo farmacológico (parte da planta/ exsudado estudado)	Exsudado (solubilidade)	Principais compostos identificados **
Apocynaceae	<i>Couma macrocarpa</i> Barb. Rodr./leite-de- sorva (ER097)	<i>Fraqueza pulmonar</i>	-	Látex (lipossolúvel)	-
Araceae	<i>Philodendron solimoesense</i> A.C.Sm./cipó-ambé (ER2000)	<i>Catarata</i>	-	Látex (lipossolúvel) - alquilfenol, esteróides	3-octadecenil- fenol, sitosterol, estigmasterol a, b, d
Bignoniaceae	<i>Tynanthus panurensis</i> (Bureau ex Baill.) Sandwith/ cipó-cravo (ER2003)	<i>Calmante e melhora a memória</i>	-	Seiva (hidrossolúvel)	-
Burseraceae	<i>Protium amazonicum</i> (Cuatrec.) Daly/breu- branco (JFLS413)	<i>Dor de cabeça, derrame e 'doença do ar'</i>	-	Resina (lipossolúvel) - triterpenos	α -amirina, β -amirina a, b, d
	<i>Protium aracouchini</i> (Aubl.) Marchand/ breu-preto (JFLS404)	<i>Dor de cabeça, derrame e 'doença do ar'</i>	-	Resina (lipossolúvel) - triterpenos	α -amirina, β -amirina a, b, d
	<i>Protium decandrum</i> (Aubl.) Marchand/ chico-da-silva (JFLS421)	<i>Feridas</i>	-	Resina (lipossolúvel) - flavonóide glicosídeos/ triterpenos	α -amirina, β -amirina, quercetina, quercitrina a, b, c, d
	<i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.) Marchand/breu- branco (JFLS458)	<i>Dor de cabeça*, derrame*, 'doença do ar'* e doença respiratória</i>	Analgésico - resina (Oliveira <i>et al.</i> , 2005a); ansiolítico/ antidepressivo - resina (Aragão <i>et al.</i> , 2006); antiinflamatório - resina (Oliveira <i>et al.</i> , 2004)	Resina (lipossolúvel) - triterpenos/ polifenólicos	α -amirina, β -amirina, quercetina, catequina a, b, c, d

Clusiaceae	<i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess./jacareúba (JFLS513)	<i>Remove verrugas*</i>	Antiproliferativo – casca do caule (Jin <i>et al.</i> , 2011)	Látex (lipossolúvel) - fenólicos	Ácido brasiliense, ácido isobrasilense a, c, d
	<i>Vismia guianensis</i> (Aubl.) Choisy/lacre (JFLS359)	<i>Micose</i>		Látex (lipossolúvel) - triterpenos	Lupeol, friedelina, ácido betulinico a, b, d
Dilleniaceae	<i>Dolioscarpus</i> sp/cipó d'água (JFLS423)	<i>Derrame e 'doença do ar'</i>		Látex (lipossolúvel) - triterpenos	ácido betulinico a, b, d
Euphorbiaceae	<i>Hevea spruceana</i> (Benth.) Müll. Arg./ seringa-barriguda (JFLS401)	<i>Febre</i>		Látex (lipossolúvel) - triterpenos	Lupeol a, b, d
Fabaceae s.l.	<i>Copaifera multijuga</i> Hayne/óleo-de- cobaíba (JFLS403)	<i>Dor de garganta*, febre e gripe</i>	Anti-inflamatório - oleorresina (Veiga- Junior <i>et al.</i> , 2007); antinociceptivo - óleo (Gomes <i>et al.</i> , 2007)	Oleorresina (lipossolúvel) - diterpeno	Ácido copálico a, d
	<i>Hymenaea courbaril</i> L./jatobá-do-mato (JFLS424)	<i>Gripe*, dor de garganta* e tosse</i>	Antiviral - nenhum dado encontrado (Cecílio <i>et al.</i> , 2012); anti-inflamatório - pericarpo (Takagi <i>et al.</i> , 2002)	Resina (lipossolúvel) - diterpeno	Ácido kolavenico ^a
Lecythidaceae	<i>Bertolletia excelsa</i> Humb. & Bonpl./ castanha-do-Pará (ER88)	<i>Hemorroidas e diarréia</i>		Goma (hidrossolúvel) - aminoácidos	Lisina, triptofano a, d
Moraceae	<i>Brosimum parinarioides</i> Duckel/ leite-do-Amapá (JFLS414)	<i>Tuberculose, verme e fraqueza pulmonar</i>		Látex (lipossolúvel) – ácidos graxos, triterpenos	ácido palmítico, lupeol, ácido ursólico, ácido oleanólico a, b, d

* As correspondências entre os usos preconizados pelos entrevistados e os dados farmacológicos

** Identificação: ^aNMR, ^bGC/EIMS, ^cLC/ESIMS, ^dComparação com amostra autêntica

Tabela 1: Os 15 exsudatos de plantas usados como remédio pelos ribeirinhos amazônicos do Rio Unini, AM; seus dados farmacológicos presentes na literatura científica; suas respectivas classificações com base em nossa análise química, e os principais compostos identificados.

Em relação ao modo de preparo usado para a composição de medicamentos contendo exsudatos, a maioria deles são usados *in natura* sem passar por processo de aquecimento. Algumas exceções são: a goma de *Bertolletia excelsa*, utilizada na preparação de um chá por decocção; a resina de *Hymenaea courbaril*, usada para preparar um xarope; e resinas de *Protium* usadas para fumigação. Este tipo de método de preparação é mais relacionado a síndromes ligadas à cultura, como discutido abaixo.

As vias de administração são variadas, incluindo oral, tópica e inalatória. O uso

tópico foi observado no caso de remoção de verrugas por *Calophyllum brasiliense*. Neste caso também foi observado o contexto religioso na prática da cura, uma vez que o látex desta planta deve ser colocado durante três sextas-feiras seguidas, enquanto o curandeiro ora; na última sexta-feira a verruga cai, conforme explicado durante a observação de campo realizada. O látex produzido pela *Vismia guianensis* é também administrado topicamente em micoses. Ainda assim, o látex de *Philodendron solimoense* é colocado diretamente nos olhos como indicação para catarata. A administração oral foi observada para alguns látex, como os de *Brosimum parinarioides* e *Couma macrocarpa*. De acordo com os relatos dos entrevistados, eles são considerados como ‘leite’, devido a sua consistência e cor branca. A inalação foi observada apenas com as resinas, durante o processo de fumigação, descritas a seguir.

Normalmente, as doses são utilizadas em gotas (considerando látex, seiva e oleorresinas) ou peças frescas (resinas e gomas). No entanto, as doses usadas desses exsudatos em remédios caseiros nem sempre eram claramente definidas, e se tornaram ainda mais subjetivas quando usadas por fumigação, onde muitos ingredientes são carbonizados em uma panela de barro com resinas de *Protium* - folhas, pedaços de animais, como chifres, dentes, pênis, ninhos de pássaros, entre muitos outros - junto com carvão. Durante este ritual, a criança deve cruzar através da fumaça produzida por fumigação três vezes ao dia, enquanto orava. É muito comum o uso de orações durante várias práticas terapêuticas observadas, já que a religião ainda é católica em algumas comunidades. Essas práticas não são mais observadas onde a religião sofreu mudanças e tornou-se evangélica. Esta mudança desencadeou a separação de algumas comunidades em estudo.

Com base na solubilidade e classes químicas obtidas durante as análises químicas, quinze exsudatos foram classificados em: látex (7 exsudatos), resinas (5), seiva (1), goma (1) e oleorresina (1). Onze deles não foram mencionados na literatura farmacológica até agora. A **Tabela 1** mostra a família e o nome científico/nome vernacular de cada planta analisada, classificação dos exsudatos com base em sua solubilidade, principais compostos identificados, uso medicinal por “caboclos” e estudos farmacológicos publicados relacionados com esses exsudatos específicos.

Para identificar os principais compostos de cada extrato de MeOH obtido, eles foram analisados individualmente por NMR e/ou MS (LC/ESIMS ou GC/EIMS) (**Tabela 1**). Espectros ^{13}C NMR de extractos de espécies *Protium*, bem como de *Hevea spruceana*, *Philodendron solimoense*, *V. guianensis*, *Doliosarpus* sp. e *B. parinarioides* apresentaram picos mais intensos de carbonos sp^2 em δ 150/109, 145/122 e/ou 139/124 características do esqueleto de triterpenos de tremoço, oleanano e ursano (Olea e Roque, 1990). Esta análise, em associação com dados de GC/EIMS, permitiram a identificação de α - e β - amirinas, friedelina e lupeol, bem como ácidos ursólico, oleanólico e betulínico. Além disso, espectros de ^1H NMR de extratos brutos de *Protium decandrum* e *Protium heptaphyllum* mostraram sinais menos intensos em δ 6,2-8,0, sugerindo a presença de derivados fenólicos. ^{13}C NMR

associado à análise LC/ESIMS de material bruto permitiu a identificação de flavonóides quercetina, quercitrina e catequina. O material bruto do extrato MeOH de *C. brasiliense* mostrou-se composto principalmente por ¹H NMR, de material alifático/aromático, que foi analisado diretamente por LC/ESIMS. Usando dados de UV e MS, bem como co-injeção usando amostras autênticas, a identificação de ácidos brasilienses e isobrasilienses foi possível. A análise espectral de NMR (¹H e ¹³C) de plantas Fabaceae (*Copaifera multijuga* e *H. courbaril*) em extratos brutos sugeriram a predominância de ácidos diterpênicos devido a presença de vários picos em δ 106-165 (carbonos sp²) e em aproximadamente δ 172 (COOH). A comparação dos dados relatados com ácidos copálico e colavenicos (Marchesini *et al.*, 2009), permitiram a identificação desses diterpenos. O espectro de ¹H NMR do extrato de MeOH de *B. excelsa* sugeriu a ocorrência de aminoácidos como principais constituintes. Usando dados de NMR obtidos de amostras autênticas, a identificação de lisina e triptofano foi possível. A identificação de esteróides sitosterol e estigmasterol no extrato bruto de MeOH de *P. solimoense* foi conduzido por análise do espectro ¹H NMR devido aos picos característicos em δ 0,7 (s), 5,4 (br d) e 3,5 (m). Visando confirmação, parte desse material foi dissolvido em MeOH:H₂O 2:1 e particionado com hexano. A fase orgânica foi analisada por ¹³C NMR e GC/EIMS confirmando a ocorrência de esteróides detectados, bem como 3-octadecenilfenol.

4 | DISCUSSÃO

Com base na solubilidade e classes químicas encontradas em cada um dos quinze exsudatos analisados, e comparando-os com o produto químico evidências apresentadas por Langenheim (2003), foram classificados em: látex, resinas, seiva, goma e oleorresina, conforme mostrado na **Tabela 1**. Nossa classificação foi corroborado por alguns estudos existentes de anatomia e morfologia botânica que confirmam a presença de resinas e/ou canais resiníferos em espécies de *Protium*, como *P. amazonicum*, *P. aracouchini*, *P. decandrum*, *P. heptaphyllum* (Rüdiger *et al.*, 2007; Daly *et al.*, 2011), *C. multijuga* (Milani *et al.*, 2012) e *H. courbaril* (Cunningham *et al.*, 1974); e laticíferos em *C. macrocarpa* (Williams, 1962), *C. brasiliense* (Cabral, 2011) e *B. parinarioides* (Jacomassi *et al.*, 2007).

Conforme mostrado na **Tabela 1**, dentre os quinze exsudatos, quatro foram descritos em estudos farmacológicos anteriores e apresentaram correspondência entre pelo menos um uso de medicamento local e o efeito observado publicado na literatura científica. Além disso, é digno de nota que estudos farmacológicos da literatura foram realizados com exsudatos de plantas. Uma exceção foi a citação antiviral para *H. courbaril* por Cecílio *et al.* (2012), que a parte investigada da planta não foi mencionada. Estas quatro espécies são destacadas abaixo.

O 'breu-branco' - 'branco-como-breu' (*P. heptaphyllum* (Aubl.) Marchand) é usado por diversas culturas para o tratamento de dor de cabeça, inflamação, como expectorante,

repelente de insetos e para doenças respiratórias (Branch e Silva, 1983; Marques *et al.*, 2010). Neste estudo, esta foi uma das plantas mais citadas pelos entrevistados; suas resinas, queimadas e cheiradas, são usadas principalmente para o tratamento de dores de cabeça, derrame, ‘doença do ar’ e doença respiratória e mostrou-se composto por triterpenos (α - e β - amirina), bem como derivados polifenólicos (quercetina e catequina). Os três primeiros usos terapêuticos foram confirmados em estudos farmacológicos: analgésico (Oliveira *et al.*, 2005a) e ansiolítico (Aragão *et al.*, 2006), uma vez que o analgésico pode estar relacionado à dor de cabeça, e o ansiolítico para ambos os distúrbios: derrame e ‘doença do ar’. *P. heptaphyllum* também possui efeitos gastroprotetores e antiinflamatórios (Oliveira *et al.*, 2004); e seus triterpenos (α - e β - amirina) têm um potencial hepatoprotetor (Oliveira *et al.*, 2005b). Além disso, da Silva *et al.* (2013) descreveu uma atividade antimicrobiana do óleo essencial de ‘breu-negro’ (*Protium* spp.). De acordo com nossas observações de campo, e como discutimos anteriormente (Santos *et al.*, 2012), ‘doença do ar’ e derrame (acidente vascular cerebral) são a mesma doença, a primeira terminologia é adotada quando os pacientes são crianças e o segundo, adultos. São doenças cujos sintomas podem estar associados à ansiedade e parecem fazer parte das síndromes ligadas à cultura discutidas por Bourbonnais-Spear *et al.* (2007).

Observou-se também que resinas de outras espécies do mesmo gênero, *P. aracouchini* (Aubl.) e *P. amazonicum* (Cuatrec.) também podem ser usadas para tratar dor de cabeça, derrame e ‘doença do ar’, na forma de cigarros.

O látex de ‘jacareúba’ (*C. brasiliense* Cambess.) é indicado para *remover verrugas* na medicina local e tem sido alvo de vários estudos farmacológicos, que confirmaram sua ação antiproliferativa no linfoma do manto das células (Jin *et al.*, 2011), antifúngico (Reyes-Chilpa *et al.*, 1997), anti-úlceras (Lemos *et al.*, 2012) e atividades tripanocidas (Rea *et al.*, 2013). Essas atividades biológicas podem estar relacionadas à presença de cumarinas, cromenos, xantonas e triterpenos, uma vez que esses compostos foram encontrados como principais constituintes da resina (Noldin *et al.*, 2006).

A oleoresina de ‘copaíba’ (*C. multijuga* Hayne) é usada para o tratamento de dor de garganta, febre e gripe. É uma espécie versátil entre entrevistados, seu exsudato é usado para preparar um xarope com outras espécies de planta, e em casos graves de inflamação da garganta, é recomendado colocar algumas gotas *in natura* no local afetado. Em pesquisas realizadas na região amazônica, foram observados usos semelhantes para ‘copaíba’ (Branch e Silva, 1983; Balée, 1994; Pinto e Maduro, 2003; Shanley e Rosa, 2005; Rodrigues, 2006). Alguns estudos têm avaliado seus efeitos antiinflamatórios (Veiga-Junior *et al.*, 2007), propriedades anti-edematogênicas (Veiga-Junior *et al.*, 2006), antinociceptiva (Gomes *et al.*, 2007), antineoplásico (Gomes *et al.*, 2008) e atividades antimicrobianas (Santos *et al.*, 2008). O uso para dor de garganta mostrou alguma semelhança com os efeitos/ações investigadas, demonstrando concordância entre conhecimento popular e ciência acadêmica.

O 'jatobá-do-mato' (*H. courbaril*) é uma planta bem conhecida na Amazônia, bem como em outros biomas brasileiros, e é frequentemente citado para curar doenças respiratórias em levantamentos etnofarmacológicos (Oliveira *et al.*, 2011). Entre os "caboclos" que vivem ao longo do Rio Unini, a resina dessa planta é usada para tratar gripe, inflamações de garganta e tosse. Cecílio *et al.* (2012) demonstrou sua atividade antiviral, enquanto seu efeito antiinflamatório foi relatado por Takagi *et al.* (2002). Este último pode estar relacionado à indicação para dor de garganta. Ambos os estudos utilizaram extratos de EtOH, de folhas e pericarpos da planta, respectivamente. Essas atividades podem ser associadas à presença de ácido colavenico, um diterpeno do tipo clerodano, encontrado como o principal derivado do material vegetal. Este diterpeno revelou atividades antimicrobianas (Faizi *et al.*, 2008) e antifúngicas (Salah *et al.*, 2003).

Amador contribuição deste estudo está no registro de exsudatos pela etnofarmacologia, especialmente aqueles onze que ainda não foram investigados pela farmacologia. Com base na riqueza de dados coletados na região amazônica - e considerando o fato de que vários biomas brasileiros também possuem plantas produtoras de exsudato - acreditamos que um esforço maior deve ser feito por pesquisadores das áreas da etnociência para registrar esses usos.

5 | CONCLUSÃO

Os exsudados são materiais vegetais promissores que podem ser usados na descoberta de drogas devido ao acúmulo de vários metabólitos. Embora esses materiais tenham sido investigados apenas com moderação por estudos farmacológicos, os resultados relatados neste trabalho podem contribuir para o conhecimento químico/farmacológico dessas espécies de plantas, muitas das quais foram usadas na medicina folclórica clássica brasileira.

6 | DIVULGAÇÕES ÉTICAS

Proteção de seres humanos e animais. Os autores declaram que nenhum experimento foi realizado em humanos ou animais para este estudo.

Confidencialidade dos dados. Os autores declaram que nenhuma informação de pacientes aparece neste artigo.

Direito à privacidade e consentimento informado. Os autores declaram que nenhuma informação de pacientes aparece neste artigo.

7 | CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

ER idealizou, orientou, coletou alguns dos exsudatos e coordenou o estudo. JHGL foi responsável pelas análises químicas. JFLS realizou parte do trabalho de campo e coleta de dados. PBY e FCSM contribuíram com as discussões, elaboração do mapa, revisão, formatação e padronização do manuscrito. MFO e TS realizaram a tradução do artigo para o português e revisão, respectivamente. Todos os autores leram o final manuscrito e eles aprovaram a submissão.

REFERÊNCIAS

- Aragão, G.F., Carneiro, L.M., Junior, A.P., Vieira, L.C., Bandeira, P.N., Lemos, T.L., Viana, G.S., 2006. A possible mechanism for anxiolytic and antidepressant effects of alpha- and beta-amyryn from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 85, 827–834.
- Balée, W., 1994. *Footprints of the Forest: Ka'apor Ethnobotany. The Historical Ecology of Plant Utilization by an Amazonian People.* Columbia University Press, New York.
- Bernard, H.R., 1988. *Research Methods in Cultural Anthropology.* SAGE, Newbury Park.
- Bourbonnais-Spear, N., Awad, R., Merali, Z., Maquin, P., Cal, V., Arnason, J.T., 2007. Ethnopharmacological investigation of plants used to treat *susto*, a folk illness. *J. Ethnopharmacol.* 109, 380–387.
- Branch, L.C., Silva, M.D., 1983. Folk medicine of Alter do Chão, Pará, Brazil. *Acta Amaz.* 13, 737–797.
- Cabral, F.N., (Dissertação de Mestrado) 2011. As Clusiaceae Lindl. (Guttiferae Juss) s.s., Calophyllaceae J. Agardh e Hypericaceae Juss. no Parque Nacional do Viruá (Roraima) e Biologia Reprodutiva de *Clusia* sp. (*Clusia nitida* Bittrich, ined). Programa de Pós-Graduação em Botânica, National Institute of Amazonian Research, Manaus, 100 p.
- Cecílio, A.B., de Faria, D.B., Oliveira, P., de Carvalho Oliveira, P., Caldas, S., de Oliveira, D.A., Sobral, M.E., Duarte, M.G., Moreira, C.P., Silva, C.G., de Almeida, V.L., 2012. Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavirus. *J. Ethnopharmacol.* 141, 975–981.
- Cunningham, A., Martin, S.S., Langenheim, J.H., 1974. Labd-13-en-8-ol-15-oic acid in the trunk resin of Amazonian *Hymenaea courbaril*. *Phytochemistry* 13, 294–295.
- Daly, D.C., Harley, M.M., Martínez-Habibe, M.C., Weeks, A., 2011. Flowering plants. Eudicots: Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae. In: Kubtzki, K. (Ed.), *Burseraceae.* Springer Berlin-Heidelberg, Berlin, pp. 76–104.
- Da Silva, E.R., Oliveira, D.R., Leitão, S.G., Assis, I.M., Veiga-Junior, V.F., Lourenço, M.C., Alviano, D.S., Alviano, C.S., Bizzo, H.R., 2013. Essential oils of *Protium* spp. samples from Amazon popular markets: chemical composition, physicochemical parameters and antimicrobial activity evaluation. *J. Essent. Oil Res.* 25, 171–178.

- Faizi, S., Khan, R.A., Mughal, N.R., Malik, M.S., Sajjadi, K.E., Ahmad, A., 2008. Antimicrobial activity of various parts of *Polyalthia longifolia* var. *pendula*: isolation of active principles from the leaves and the berries. *Phytother. Res.* 22, 907–912.
- Foote-Whyte, W., 1990. Treinando a observação participante. In: Guimarães, A.Z. (Ed.), *Desvendando máscaras sociais*. Francisco Alves, Rio de Janeiro, pp. 77–86.
- Gomes, N.M., Rezende, C.M., Fontes, S.P., Matheus, M.E., Fernandes, P.D., 2007. Antinociceptive activity of Amazonian copaiba oils. *J. Ethnopharmacol.* 109,486–492.
- Gomes, N.M., Rezende, C.M., Fontes, S.P., Hovell, A.M., Landgraf, R.G., Matheus, M.E., Pinto, A.C., Fernandes, P.D., 2008. Antineoplastic activity of Copaifera multijuga oil and fractions against ascitic and solid Ehrlich tumor. *J. Ethnopharmacol.* 119, 179–184.
- Jacomassi, E., Moscheta, I., Machado, S.R., 2007. Morfoanatomia e histoquímica de *Brosimum gaudichaudii* Trécul. (Moraceae). *Acta Bot. Bras.* 21, 575–597.
- Jin, L., Tabe, Y., Kimura, S., Zhou, Y., Kuroda, J., Asou, H., Inaba, T., Konopleva, M., Andreeff, M., Miida, T., 2011. Antiproliferative and proapoptotic activity of GUT-70 mediated through potent inhibition of Hsp90 in mantle cell lymphoma. *Br. J. Cancer* 104, 91–100.
- Langenheim, J.H., 2003. *Plant Resins: Chemistry, Evolution, Ecology, and Ethnobotany*. Timber Press, Portland.
- Lemos, L.M., Martins, T.B., Tanajura, G.H., Gazoni, V.F., Bonaldo, J., Strada, C.L., Silva, M.G., Dall’oglio, E.L., de Sousa Júnior, P.T., Martins, D.T., 2012. Evaluation of antiulcer activity of chromanone fraction from *Calophyllum brasiliense* Camb. *J. Ethnopharmacol.* 141, 432–439.
- Marchesini, A.M., Prado, G.G., Messiano, G.B., Machado, M.B., Lopes, L.M.X., 2009. Chemical constituents of *Aristolochia giberti*. *J. Braz. Chem. Soc.* 20, 1598–1608.
- Marques, D.D., Sartori, R.A., Lemos, T.L.G., Machado, L.L., Souza, J.S.N.D., Monte, F.J.Q., 2010. Chemical composition of the essential oils from two subspecies of *Protium heptaphyllum*. *Acta Amaz.* 40, 227–230.
- Milani, J.F., Rocha, J.F., Teixeira, S. de P., 2012. Oleoresin glands in copaiba (*Copaifera trapezifolia* Hayne: Leguminosae), a Brazilian rainforest tree. *Trees-Struct. Funct.* 26, 769–775.
- Milliken, R., Miller, R., Pollard, S.R., Wandelli, E.V., 1992. *Ethnobotany of the Waimiri Atroari Indians of Brazil*. Royal Botanic Gardens Kew, London.
- Noldin, V.F., Isaias, D.B., Cechinel Filho, V., 2006. Gênero *Calophyllum*: Importância química e farmacológica. *Quim. Nova* 29, 549–554.
- Olea, R.S.G., Roque, N.F., 1990. Análise de misturas de triterpenos por RMN de ¹³C. *Quim. Nova* 13, 278–281.
- Oliveira, F.A., Vieira-Júnior, G.M., Chaves, M.H., Almeida, F.R., Florêncio, M.G., Lima Jr., R.C., Silva, R.M., Santos, F.A., Rao, V.S., 2004. Gastroprotective and antiinflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. *Pharmacol. Res.* 49, 105–111.

Oliveira, F.A., Costa, C.L., Chaves, M.H., Almeida, F.R., Cavalcante, I.J., Lima, A.F., Lima Jr., R.C., Silva, R.M., Melo, A.R., Santos, F.A., Rao, V.S., 2005a. Attenuation of capsaicin-induced acute and visceral nociceptive pain by alpha- and betaamyrin, a triterpene mixture isolated from *Protium heptaphyllum* resin in mice. *Life Sci.* 77, 2942–2952.

Oliveira, F.A., Chaves, M.H., Almeida, F.R., Lima Jr., R.C., Silva, R.M., Maia, J.L., Brito, G.A., Santos, F.A., Rao, V.S., 2005b. Protective effect of alpha- and beta-amyrin, a triterpene mixture from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. Trunk wood resin, against acetaminophen-induced liver injury in mice. *J. Ethnopharmacol.* 98, 103–108.

Oliveira, D.R., Leitão, G.G., Coelho, T.S., Almeida da Silva, P.E., Lourenço, M.C.S., ARQMO, Leitão, S.G., 2011. Ethnopharmacological versus random plant selection methods for the evaluation of the antimycobacterial activity. *Rev. Bras. Farmacogn.* 21, 793–806.

Pinto, A.A.C., Maduro, C.B., 2003. Produtos e subprodutos da medicina popular comercializados na cidade de Boa Vista, Roraima. *Acta Amaz.* 33, 281–290.

Prance, G.T., Balée, W., Boom, B.M., Carneiro, R.L., 1987. Quantitative ethnobotany and the case for conservation in Amazonia. *Conserv. Biol.* 1, 296–310.

Rea, A., Tempone, A.G., Pinto, E.G., Mesquista, J.T., Silva, L.G., Rodrigues, E., Sartorelli, P., Lago, J.H.G., 2013. Soulamarin isolated from *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae) induces plasma membrane permeabilization of *Trypanosoma cruzi* and mitochondrial dysfunction. *Plos. Neglect. Trop. Dis.* 7, e2556–e2563.

Reyes-Chilpa, R., Jimenez-Estrada, M., Estrada-Muñiz, E., 1997. Antifungal xanthenes from *Calophyllum brasiliense* heartwood. *J. Chem. Ecol.* 23, 1901–1911.

Rodrigues, E., 2006. Plants and animals utilized as medicines in the Jaú National Park (JNP), Brazilian Amazon. *Phytother. Res.* 20, 378–391.

Rüdiger, A.L., Siani, A.C., Veiga-Junior, V.F., 2007. The chemistry and pharmacology of the South America genus *Protium* Burm. F. (Burseraceae). *Pharmacogn. Rev.* 1, 93–104.

Salah, M.A., Bedir, E., Toyang, N.J., Khan, I.A., Harries, M.D., Wedge, D.E., 2003. Antifungal clerodane diterpenes from *Macaranga monandra* (L) Muell. et Arg. (Euphorbiaceae). *J. Agric. Food Chem.* 51, 7607–7610.

Santos, A.O.D., Ueda-Nakamura, T., Dias Filho, B.P., Veiga Junior, V.F., Pinto, A.C., Nakamura, C.V., 2008. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 103, 277–281.

Santos, J. de F.L., Pagani, E., Ramos, J., Rodrigues, E., 2012. Observations on the therapeutic practices of riverine communities of the Unini River, AM, Brazil. *J. Ethnopharmacol.* 142, 503–515.

Shanley, P., Rosa, N.A., 2005. Conhecimento em erosão: um inventário etnobotânico na fronteira de exploração da Amazônia Oriental. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi Ciências Naturais* 1, 147–171.

Takagi, K., Itoh, S., Nasu, S., Yamada, S., Nomura, S., Shimomura, K., Onishi, K., 2002. Anti-inflammatory effect and pigmentation inhibitory effect of the pericarp of Jatoba (*Hymenaea courbaril* L.). *Nat. Med.* 56, 108–112.

Veiga-Junior, V.F., Zunino, L., Patitucci, M.L., Pinto, A.C., Calixto, J.B., 2006. The inhibition of paw oedema formation caused by the oil of *Copaifera multijuga* Hayne and its fractions. *J. Pharm. Pharmacol.* 58, 1405–1410.

Veiga-Junior, V.F., Rosas, E.C., Carvalho, M.V., Henriques, M.G., Pinto, A.C., 2007. Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne – a comparative study. *J. Ethnopharmacol.* 112, 248–254.

Vitoria Amazônica Foundation, 2005. Relatório Anual 2005. Fundação Vitória Amazônica (FVA), Manaus.

Williams, L., 1962. Laticiferous plants of economic importance III, Couma species. *Econ. Bot.* 16, 251–263.

BIOMONITORAMENTO FÍSIOQUÍMICO E FITORREMEDIAÇÃO DE CAFEÍNA UTILIZANDO MACRÓFITAS

Data de aceite: 01/07/2021

Data de submissão: 06/04/2021

Sophia de Aquino Ilário

Graduação em andamento em Farmácia
Centro Universitário Filadélfia, UniFil, PR Brasil
<http://lattes.cnpq.br/8555726965097381>

RESUMO: O presente trabalho objetivou avaliar a qualidade de um ambiente aquático na presença e ausência de espécies de macrófitas e verificar sua capacidade de fitorremediação do ambiente e do composto $C_8H_{10}N_4O_2$ (Cafeína). Duas espécies foram utilizadas, *Pistia stratiotes* e *Elodea nuttallii*. Os exemplares foram coletados e testados com amostras de água de dois pontos do centro urbano da cidade de Londrina - PR, córrego Água fresca e Lago Igapó. As amostras de água coletadas foram separadas para análise em quatro recipientes. Testes de pH, amônia e nitrito foram realizados quinzenalmente. Nestes, foram utilizados quatro recipientes com diferentes quantidades de água e uma única planta em cada. Os resultados obtidos pela *P. stratiotes* foram expressivos quanto à melhora nos parâmetros analisados. Quando as macrófitas morreram, os testes foram repetidos e os valores retornaram aos níveis iniciais, mostrando assim, que esta espécie pode ser utilizada como biomonitora de ambientes aquáticos em centros urbanos. Já a *E. nuttallii*, não apresentou resultados satisfatórios tanto para água de ambiente lacustre quanto para ambiente de água corrente. Em relação ao

teste de proporção verificou-se que uma única macrófita é capaz de melhorar o pH de todas as quantidades de água testadas (5L, 10L, 15L e 20L) sendo necessários testes com maiores quantidades, a fim de aferir uma quantidade exata que uma única macrófita desta espécie consegue fitorremediar. Testes foram iniciados em parceria com a empresa de Saneamento do Paraná (Sanepar), a fim de verificar se as macrófitas, além de melhorar os aspectos físico químicos da água, também fazem a correção de parâmetros inorgânicos como chumbo, cádmio, mercúrio, nitrogênio amoniacal, fósforo total, nitrato e nitrito (baseados na resolução 357 do CONAMA). Testes para verificar a quantidade de cafeína na água e a capacidade da macrófita de biorremediação do ambiente estão em andamento. Por fim, diante dos testes já realizados, é clara a possibilidade de utilização de macrófitas (*P. stratiotes*) como filtros biológicos de ambientes aquáticos em degradação.

PALAVRAS - CHAVE: Fitorremediação, plantas aquáticas e qualidade de água.

BIOMONITORING AND PHYTOREMEDIATION OF AQUATIC ENVIRONMENTS USING MACROPHYTES

ABSTRACT: The present work aimed to evaluate the quality of an aquatic environment with presence and absence of macrophyte species as well as verify its phytoremediation capacity of the environment and the compound $C_8H_{10}N_4O_2$ (Caffeine). Two species were used – *Pistia stratiotes* and *Elodea nuttallii*. The specimens were collected and tested with two - spot water samples from the urban center of Londrina - PR,

fresh water stream and Lake Igapó. The collected water samples were separated for analysis in four containers. PH, ammonia and nitrite tests were performed fortnightly. In these ones, four containers were used with different amounts of water and a single plant in each. The results obtained by *P. stratiotes* were expressive regarding the improvement in the analyzed parameters. When the macrophytes died the tests were repeated and the values returned to the initial levels. Thus, it is shown that this species can be used as biomonitoring of aquatic environments in urban centers. However, *E. nuttallii* did not present satisfactory results for water in the lacustrine environment and for the water environment. In relation to the proportion test, it was verified that a single macrophyte is able to improve the pH of all the water quantities tested (5L, 10L, 15L and 20L) and tests with larger quantities are necessary in order to measure an exact amount a single macrophyte of this species achieves phytoremediation. Tests were initiated in partnership with the Basic Sanitation Company in Parana State - Sanepar, in order to verify if the macrophytes, besides improving the physical aspects of water, also make correction of inorganic parameters such as lead, cadmium, mercury, ammoniacal nitrogen, total phosphorus, nitrate and nitrite (based on resolution 357 of CONAMA). Tests to check the amount of caffeine in the water and the ability of the macrophyte to bioremediate the environment are in progress. Finally, based on the tests which have already been carried out, it is clear the possibility of using macrophytes (*P. stratiotes*) as biological filters of aquatic environments in degradation.

KEYWORDS: Aquatic plants, phytoremediation and Water quality.

1 | INTRODUÇÃO

Aproximadamente 70% da superfície terrestre encontra-se coberta por água. No entanto, menos de 3% deste volume é de água doce, cuja maior parte está concentrada em geleiras (geleiras polares e neves das montanhas), restando uma pequena porcentagem de águas superficiais para os seres humanos. E essa água, além de ser constantemente desperdiçada, se apresenta muito poluída pelas atividades humanas.

A cafeína, inclusive, é classificada como contaminante emergente. Pelo fato de não haver nenhum tipo de restrição relacionada a esse tipo de propagação, não há métodos conhecidos de fitorremediação do composto, ou seja, a água tratada que chega à casa de bilhões de pessoas está cada vez mais contaminada com uma grande concentração de cafeína que é oferecida para consumo e tem alta probabilidade de conter contaminantes potencialmente perigosos. (CERON, 2012) Sendo necessário buscar meios que possam contribuir para a manutenção da qualidade das águas existentes no planeta.

Uma das alternativas para essa contribuição foi por meio do biomonitoramento, que é um processo bastante utilizado na atualidade e consiste na utilização de seres vivos, parte de seres vivos ou comunidades, como ferramentas para mensurar a qualidade ambiental baseando nas respostas destes às alterações do ambiente. Portanto, é uma observação contínua de determinada área com auxílio da mesma e bioindicadores, que neste caso, são chamados de biomonitores. Sendo assim, para a presente pesquisa foram utilizados como biomonitores os microrganismos das macrófitas aquáticas, *Pistia stratiotes*,

uma evolução de vegetais terrestres que se adaptaram ao ambiente aquático, por isso apresentam algumas características semelhantes e uma grande capacidade de adaptação a diferentes tipos de ambientes. A existência de pesquisas prévias utilizando macrófitas na recuperação de rios e lagos poluídos mostra sua eficácia em absorver grandes quantidades de substâncias tóxicas, além disso algumas espécies estão presentes nos locais de pesquisa do projeto em questão.

Muitas espécies são filtradoras e possuem capacidade de absorver diversos elementos além de terem uma capacidade adaptativa em ambientes de variados gradientes que compreende desde solos saturados até submersos na coluna d'água (ESTEVES, 1998; BIANCHINI JR. et al,2002; CAMARGO et al.,2013), podendo auxiliar em programas de biomonitoramento e fitorremediação de ambientes aquáticos.

Por isso, torna-se viável estudos que busquem o potencial de tolerância dessas plantas a poluentes, a fim de que possam ser utilizadas como filtros biológicos, influenciando as características físico-químicas dos corpos d'água (PAGIORO e THOMAZ, 1999)

2 | METODOLOGIA

2.1 Coleta e Preparação do Teste (Parte I)

Primeiramente realizou-se uma coleta de 20 litros de água no Lago Igapó situado em Londrina- PR (foto I), no mesmo local, foram coletados exemplares de macrófitas da espécie *Pistia stratiotes* (foto II). A água coletada foi distribuída em duas bacias, sendo 7,5 litros em cada (foto III). As plantas foram lavadas em água corrente a fim de remover resíduos sólidos e colocadas em uma bacia. Foram enumeradas, e marcações com fitas foram feitas para demonstrar o limite de água, facilitando assim, sua reposição de forma precisa em caso de evaporação.

A bacia com as plantas serviu como parâmetro, a outra permaneceu como controle, sem presença das plantas.

2.2 Testes Utilizados

Utilizando testes de aquário, os valores de pH, nitrito, gás carbônico, oxigênio e amônia foram quinzenalmente aferidos.



Foto I: Lago Igapó Londrina- PR

Fonte: google imagens



Foto II: *Pistia stratiotes*

Fonte: google imagens



Foto III: Bacias do Experimento

Fonte: autora

2.3 Coleta E Preparação Do Teste (Parte II)

A fim de testar outra espécie de macrófita, o mesmo método foi realizado com exemplares de *E. nuttallii* (Foto IV). Encontrada, diferentemente da *P. stratiotes*, no córrego Água Fresca, Londrina-PR. Amostras desse novo ambiente foram coletadas e distribuídas com 5 litros em cada, totalizando quatro (4) bacias para os testes:

Bacia 1: água do córrego e macrófitas da espécie *Pistia stratiotes* (parâmetro)

Bacia 2: água do córrego (controle)

Bacia 3: água do córrego e macrófitas da espécie *Elodea nuttallii* (parâmetro)

Bacia 4: água do córrego (Controle)



Foto IV: *Elodea nuttallii*

Fonte: Google imagens



Foto V: Testes utilizados

Fonte: Autora

Após lavadas, as macrófitas foram separadas e colocadas em 2 bacias, sendo outras duas bacias somente com água para servirem de parâmetros. Todas as bacias foram enumeradas e marcações foram feitas para reposição de água em caso de evaporação.

Por fim, testes de aquário foram utilizados para aferir valores de pH, amônia e nitrito (foto V) nas 4 bacias.

2.4 Análise Microbiológica

Análises microbiológicas de varredura foram realizadas, utilizando amostras de água do Lago Igapó e do Córrego Água Fresca. E também das plantas *E. nuttallii* e *P. stratiotes*. Foram feitas a partir de microscópios ópticos. Para cada ponto de coleta foram feitas triplicatas (foto VI) e para as macrófitas uma lâmina cada (foto VII).

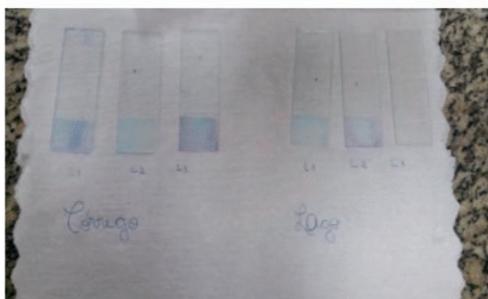


Foto VI: Lâminas para análises do Córrego e Lago

Fonte: Autora



Foto VII: Lâminas para análise da *Elodea* e *Pistia*

Fonte: Autora

2.5 Análises de Proporção e Resolução Conama 357

As análises de proporção foram realizadas para obter um controle aproximado da capacidade que uma macrófita apresentaria melhora significativa na qualidade da água. Para isso, foi feita a coleta de macrófitas da espécie *P. stratiotes* com aproximadamente o mesmo tamanho (medida feita pela raiz) (foto VII) e massa (medida feita após uma secagem parcial da planta na balança de precisão) (foto IX). Separadas em quatro bacias com diferentes capacidades: 5L, 10L, 15L e 20 litros de água do Lago Igapó. Semanalmente os valores de pH, nitrito e amônia foram verificados, utilizando os testes de aquário e phmetro (foto X). A Fim de aprimorar as análises já obtidas, o mesmo teste sobre proporção de água e macrófita, foi repetida para que as amostras iniciais e finais de água em contato com as macrófitas pudessem ser enviadas a SANEPAR (Companhia de Saneamento do Paraná) com finalidade de analisar alguns parâmetros da resolução CONAMA 357. (tabela I).



Foto VIII :Medidas das raízes

Fonte: Autora



Foto IX: Pesagem da macrófita

Fonte: Autora



Foto X: pHmetro

Fonte: Autora

Cádmio Total	Nitrato (como N)
Chumbo Total	Nitrito (como N)
Mercúrio Total	Nitrogênio amoniacal
Fósforo Total	

Tabela I: Parâmetros selecionados para análise Sanepar

2.6 Teste Preliminar da Cafeína- Caciقة (Companhia Caciقة de Café Solúvel Londrina - PR)

Para analisar a cafeína na água foi feita uma parceria com a Caciقة- Londrina PR (Companhia Caciقة de Café Solúvel), foi realizado um procedimento como análise inicial, já que criamos um modelo hipotético do ambiente. Coletamos 10L de água do Lago Igapó e 4 exemplares da macrófita *Pistia stratiotes* com aproximadamente valores iguais da medida das raízes (5 cm). Dado que foram utilizadas 2 bacias com capacidade de 10L, cada uma continha 5L de água do Lago, em uma das bacias foi dissolvido 2,8g de cafeína (Foto XI) e colocado as 2 macrófitas para servir de parâmetro e a outra bacia de controle só com água e as outras plantas (Fotos XII e XIII). A primeira amostra foi recolhida no mesmo dia do procedimento e a segunda foi coletada 2 dias depois. As amostras foram verificadas pela Caciقة que analisou o teste em duas etapas distintas: separação e quantificação.

A separação se dá no processo entre a fase estacionária e fase móvel onde a interação entre a molécula de cafeína com a fase estacionária (coluna cromatografia) e a

fase móvel (solução orgânica).

A quantificação pela absorvância na faixa do ultravioleta (272 nm) associado a curva de calibração ou com a comparação entre áreas onde uma delas é a do padrão com concentrações definida, sendo a separação e quantificação um processo instrumental denominado de CLAE (cromatografia líquida de alta performance).



Foto XI: Cápsulas de cafeína

Fonte: Autora



Foto XII: Bacia 1 (Controle)

Fonte: Autora



Foto XIII: Bacia 2 (Parâmetro)

Fonte: Autora



Foto XIV: Amostras

Fonte: Autora

2.7 Teste Preliminar da Cafeína 2 - Cacique (Companhia Cacique de Café Solúvel Londrina - PR)

Em duas bacias foram colocados 15L de água do Lago Igapó, em seguida ambas foram enriquecidas com aproximadamente 5,6g de cafeína. Uma das bacias foi utilizada como controle e a outra como parâmetro.

3 I RESULTADOS

Os testes realizados com a *Pistia stratiotes* revelaram melhora nos valores de pH e nitrito da água do lago, quando comparados às bacias controle. O mesmo resultado não foi observado quando colocadas na água do córrego, pois ela manteve os valores da bacia controle. Já a *Elodea nuttallii*, não apresentou resultados satisfatórios para água de ambiente lacustre nem para ambiente corrente, pois seus valores não apresentaram melhora em relação às amostras controle. (tabela III e IV).

pH 0 - 7 Básico 7 Neutro 8 - 14 Ácido
Amônia em temperatura ambiente (25°C) 0,000 - 0,001 Básico (pH de 6 - 7) 0,002 - 0,098 perigoso (pH 6 - 8,5) 0,114 - 1,623 Tóxica (pH 7,5 - 8,5)
Nitrito: 0,0 Ideal 0,25 aceitável 0,5 crítico 1,0 - 2,8 Perigoso

Tabela II: Valores de referência expressos em partes por milhão (ppm)

	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
<i>P. stratiotes</i> Lago	pH: 7,4	7,0	7,2	7,1
	Amônia: 0,009	0	0,25	0
	Nitrito: 0,25	0,25	0,0	0,25
Sem <i>P. stratiotes</i> Lago	pH: 7,4	7,6	7,6	7,6
	Amônia: 0,009	0,50	0	0,25
	Nitrito: 0,25	0,5	1,0	0,5
<i>P. stratiotes</i> Córrego	pH: 6,8	6,6	6,8	7,5
	Amônia: 0,25	0,25	0,25	0
	Nitrito: 0	1,0	1,0	0,0
Sem <i>P. stratiotes</i> Córrego	pH: 6,8	6,8	7,2	7,5
	Amônia: 0,25	0	0,25	0,25
	Nitrito: 0	0,5	0,25	0,0

<i>E. nuttallii</i> Córrego	pH: 6,8	7	6,8	7,2
	Amônia:0,25	0	0	0
	Nitrato: 0,5	0,5	0	0)
Sem <i>E. nuttallii</i> Córrego	pH:6,8	7,5	7,2	7,5
	Amônia:0,25	0	0	0
	Nitrato:0,5	0,25	0	0
<i>E. nuttallii</i> Lago	pH: 6,8	6,8	7,2	7,2
	Amônia:0,50	0,50	0	0
	Nitrato: 0,0	0,5	0	0
Sem <i>E. nuttallii</i> Lago	pH: 6,8	6,8	7,5	7,5
	Amônia:0,50	0,50	0	0
	Nitrato: 0,0	0,5	1,0	0

Tabela III: Resultados dos testes de biomonitoramento com *Pistia stratiotes* e *Elodea nuttallii*.

Todos os valores são expressos em ppm (partes por milhão)

	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
<i>P. stratiotes</i> Lago	pH:7,2	7	7	7,2
	Amônia:0,50	0,25	0,007	0,25
	Nitrato:0,5	1,75	0,5	0
Sem <i>P. stratiotes</i> Lago	pH:7,2	7,6	7,6	7,6)
	Amônia:0,50	0	0,007	0,25
	Nitrato:0,5	1	0	0,25
<i>E. nuttallii</i> Córrego	pH:6,8	7	6,8	6,8
	Amônia:0,25	0,5	0,25	0,25
	Nitrato:0,25	1,75	2,8	0,25
Sem <i>E. nuttallii</i> Córrego	pH:6,8	7,5	7,5	7,2)
	Amônia:0,25	0	0	0
	Nitrato:0,25	0,5	1	0,5
<i>E. nuttallii</i> Lago	pH:6,8	7	7	6,6
	Amônia:0,50	1	0,5	0,25
	Nitrato:0,25	1,75	2,8	1
Sem <i>E. nuttallii</i> Lago	pH:6,8	7,5	7,2	6,8
	Amônia:0,50	0,25	0	0
	Nitrato:0,25	1	1	0,5

Tabela IV: Repetição dos testes de biomonitoramento.

Todos os valores são expressos em ppm (partes por milhão)

Os testes de proporção e fitorremediação, ou seja, o quanto uma única planta pode fazer a recuperação biológica em diferentes quantidades de água estão descritos na tabela V.

	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5
Bacia 1	pH: 6,15	6,7	6,2	5,8	**
	Amônia:1,00	*	0,25	0,25	**
	Nitrito:0,25	1	0,25	0	**
Bacia 2	pH:6,1	6,8	6,3	6,1	7
	Amônia:1,00	*	entre 0 e 0,25	0	0,25
	Nitrito:0,25	0,25	12:00	0	0,25
Bacia 3	pH:6,2	6,8	6,3	6,2	7,2
	Amônia:1,00	*	entre 0 e 0,25	0	0,25
	Nitrito: 0,25	0,25	0	0	0,25
Bacia 4	pH:6,15	6,9	6,4	6,3	7,1
	Amônia:1,00	*	0,25	0	0,25
	Nitrito:0,25	0,5	0	0,25	0,25

* Falta de material para desenvolvimento dos testes

** Morte dos vegetais

Todos os valores são expressos em ppm (partes por milhão)

Tabela V: Análises de proporção de água por macrófitas.

As análises microbiológicas realizadas por método de varredura (tabela VI e VII), permitiram a identificação de protozoários, podendo assim proferir que devido aparição de ciliados e flagelados, sugere-se grande quantidade de matéria orgânica no meio ambiente aquático de estudo, corroborando com os dados obtidos pela Sanepar das amostras iniciais (tabela VII), onde verificou-se que havia presença de nitrogênio amoniacal, composto químico encontrado também em ambientes com matéria orgânica.

	Lâmina 1	Lâmina 2	Lâmina 3
Córrego	**	4 protozoários do tipo ciliado	6 protozoários ciliado 1 flagelado
Lago	**	1 protozoário tipo ciliado	4 protozoários tipo ciliado

Tabela VI: Análise microbiológica por varredura na água do córrego Água fresca e Lago igapó.

** Não foi encontrado protozoários.



Foto XV: Micro-organismo flagelado
Fonte: Autora.

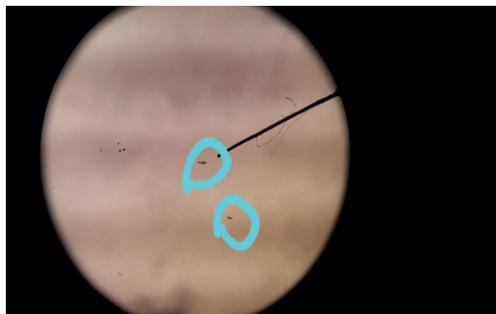


Foto XVII: Micro-organismos ciliados
Fonte: Autora.

1/1

 **SANEPAR**
Relatório de Ensaio

Laboratório:	SANEPAR		Versão:	0		Origem da Amostra:	Extra	
Amostra:	39327		Localidade:	153 - Londrina USIDLD				
Unidade:	USIDLD - 660		Bairro:	Lago Igapó				
Endereço:	Lg Igapó - próximo a Fabrica 1		Componente:	Pesquisa Externa				
Ponto:	O 007		Coletor:	Márcio Pinheiro				
Elemento:	In natura		Data do recebimento:	14/09/2017				
Cód. UT:	S/UT		Hora da Coleta:	08:47				
Data de Coleta:	14/09/2017							

Análise	Obs	Data	Resultado	Unidade	Método	LQM	Área
Cádmio Total	-	21/09/17	< 0,001	mg/L	ICP-OES	0,001	CWB-MET
Chumbo Total	-	25/09/17	< 0,005	mg/L	ICP-MS	0,005	CWB-MET
Mercúrio Total	-	20/09/17	< 0,0002	mg/L	ICP-OES	0,0002	CWB-MET
Fósforo Total	-	20/09/17	0	mg/L	Colorimétrico	-	LDA-FQAm
Nitrato (como N)	-	18/09/17	5,47	mg/L	Colorimétrico	0,05	LDA-FQA
Nitrito (como N)	-	18/09/17	0,041	mg/L	Colorimétrico	0,005	LDA-FQA
Nitrogênio Amoniacal	-	18/09/17	0,0626	mg/L N-NH4	Colorimétrico	-	LDA-FQA

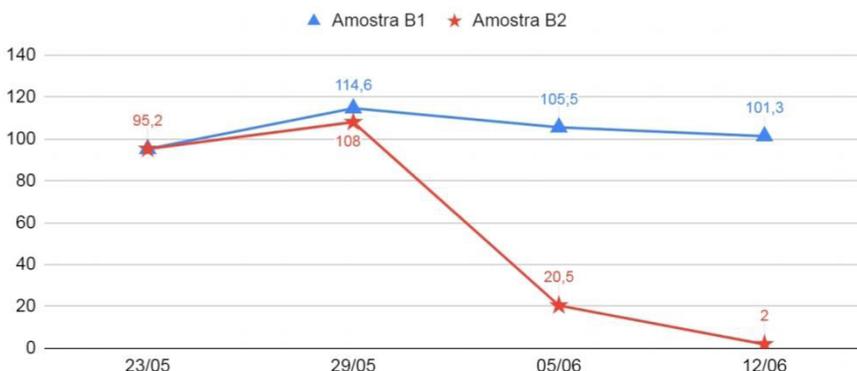
Tabela VII: Resultados da amostra inicial obtidos pela parceria da Sanepar. Parâmetros da resolução conama 357

Os testes preliminares feitos pela Cacique trouxeram bons resultados e constataram uma redução na concentração de cafeína na água com as macrófitas.

	10/09/2018	12/09/2018
Bacia 1(B1): Água do Lago + macrófitas	não detectado (< 0,3 mg/L)	não detectado (< 0,3 mg/L)
Bacia 2(B2): Água do Lago + cafeína + macrófitas	14,2 mg/L	13,3 mg/L

Tabela VIII: Resultados da amostra inicial e final obtidos pela parceria da Cacique

Análise de cromatografia líquida de alta performance I (Realizada pela Companhia Cacique de Café Solúvel - Londrina - PR)



* Todos os valores foram medidos em mg/L.

Fonte: Autora.

Tabela IX: Resultados do teste preliminar da cafeína 2 - cacique (companhia cacique de café solúvel londrina - pr)

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos dados que foram obtidos pelas análises verificou-se a melhora do ambiente, baseado em valores ideais para peixes de água doce. Os testes realizados com a *P. stratiotes* revelaram melhora nos valores de pH e nitrito da água do lago, quando comparados às bacias controle. O mesmo resultado não foi observado quando colocadas na água do córrego, pois ela manteve os valores da bacia controle, sendo assim, indiferente para ambiente com água corrente. Já a *E. nuttallii*, não apresentou resultados satisfatórios para a água de ambos ambientes. Mostrando que *P. stratiotes* é uma espécie com potencial promissor de programas de fitorremediação e biomonitoramento de ambientes aquáticos.

Em relação ao teste de proporção, verificou-se que uma única macrófita é capaz de melhorar o pH de todas as quantidades testadas; 5L, 10 L, 15 L e 20 L. Sendo necessários testes com maiores quantidades, a fim de aferir uma quantidade exata que uma única macrófita desta espécie consegue fitorremediar.

Por fim, é clara a possibilidade de utilização de macrófitas como filtros biológicos de ambientes aquáticos em degradação. Comparando as duas espécies de macrófitas no presente trabalho, pode-se afirmar que *P. stratiotes* apresentou maior potencial no biomonitoramento e fitorremediação de ambientes aquáticos. A *E. nuttallii* é uma planta, que segundo pesquisas, apresenta grande capacidade de resistência e pode ser colocada em tanques para descontaminação. Porém nos resultados obtidos verificou-se que ela apenas manteve os valores como na bacia controle, isso pode estar associado a uma grande degradação do ambiente, já que não foi observado presença de mata ciliar que

auxilia na qualidade do ambiente. Outro fator importante que pode estar associado, é que, por esta espécie necessitar de grande quantidade de nutrientes para sobreviver, a planta que foi retirada do ambiente e deixada sob condições limitadas de espaço não manteve o mesmo padrão de nutrientes do local de origem, talvez isto tenha influenciado sua possível melhora nos resultados obtidos.

Os testes realizados em parceria com a Sanepar revelaram na amostra inicial uma quantidade superior dos compostos nitrogênio amoniacal e nitrito, porém a amostra de água permaneceu em contato com as macrófitas por quatro semanas, sendo enviadas novamente uma amostra final para companhia parceira mas ainda é aguardado o envio dos resultados finais para comparação e estudo. Até o presente momento é possível afirmar que a água do Lago Igapó apresenta grande quantidade de matéria orgânica, devido a presença do nitrogênio amoniacal e também pode ser prejudicial ao ambiente aquático já que o excesso de nitrato pode provocar um crescimento de algas, cianobactérias e outros organismos que aproveitam do excesso da oferta de compostos nitrogenados para se reproduzir. A contaminação por nitrato afeta também o processo de respiração dos peixes, o que leva a vários outros efeitos secundários como mau funcionamento dos órgãos, redução do crescimento, estresse e, por consequência, redução da imunidade e problemas de osmorregulação. A fim de que, os parâmetros criados de acordo com a colorimetria das folhas, tamanho da raiz, possa servir de auxílio na identificação do comportamento das macrófitas diante a reação a diferentes compostos químicos, como a cafeína.

Como a cafeína se apresenta acompanhada de outras substâncias, o projeto apresentou algumas dificuldades nesta parte da metodologia, entretanto o teste realizado pela Cacique permite uma afirmação de que essa macrófita pode detectar e recuperar ambientes degradados.

REFERÊNCIAS

ALI, M. M.; MURPHY, K.J; ABERNETHY, V. J. Macrophyte functional variables versus species assemblages as predictors of tropic status in flowing waters. **Hydrobiology**. **415**: 131-138. 1999.

ARIAS, DAVID GUTIERREZ. Contaminantes emergentes, seus efeitos no meio ambiente e desafios para novos mecanismos de purificação de água. 2013.

BIANCHINI JR, I.; PACOBAHYBA, L.D.; CUNHA-SANTINHO, M.B. Aerobic and anaerobic decomposition of *Montrichardia arborescens* (L.) **Schott. Acta Limnol. Bras.** **14(3)**, 27-34. 2002.

BINI, L.M.; THOMAZ, S.M.; MURPHY, K.; CAMARGO, A.F.M. Aquatic macrophyte distribution in relation to water and sediment conditions in the Itaipu Reservoir, Brazil. *Hidrobiologia*, **v.415 p.147-157**. 1999.

CAMARGO, A.F.M.; ESTEVES, F.A. Influence of water level variation on biomass and chemical composition of the aquatic macrophyte *Eichhornia azurea* (Kunth) in an oxbow lake of the Rio Mogi-Guaçu (São Paulo, Brazil) . **Archiv fur Hydrobiologie, STUTTGART**, **v. 135, n.3 p.423-432**, 1996.

CAMARGO, A.F.M.; PEZZATO, M.M.; HENRY-SILVA, G.G. Fatores limitantes à produção primária de macrófitas aquáticas. In: Thomaz, S.M & Bini, L.M. Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas. **Editora da Universidade Estadual de Maringá. Cap.3, p.59-83. 2003.**

Ceron, Luciano Peske. “**Cafeína na água.**” Disponível em: <http://www.ufscar.br/~probio/info_macrof.html>, Acesso em: 03/08/15.

Disponível em: <<https://noticias.uol.com.br/meio-ambiente/ultimas-noticias/redacao/2015/05/01/presenca-de-cafeina-em-agua-tratada-e-indicio-de-contaminacao-diz-estudo.htm>>, acesso em 30/06/2018

Disponível em:<<http://www.unicamp.br/unicamp/ju/527/potavel-porem-contaminada>>, acesso em 30/06/2018

ESTEVES, F.A. Fundamentos de Limnologia. Ed. Interciências/FINEP. Rio de Janeiro, R.J 574p.1998.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. Mapa semidetalhado de solos de Londrina, escala 1:100.000. **IAPAR**, 2009.

Importância das macrófitas aquáticas, 2009. Disponível em: <http://www.ufscar.br/~probio/info_importancia>, acesso em: 18/10/2015.

LUCIANO, S.C. As macrófitas Eichornia azuera (Kunth) e Barchiaria arrecta (Stent) como armazenadoras de nitrogênio e fósforo na região inundável do rio Taquiri (Zona de desembocadura na Represa de Jurumirim, São Paulo). São Carlos, Escola de Engenharia de São Carlos. 160p. **Dissertação (mestrado). Maringá: Ed. UEM. 341 p.1996.**

OLIVEIRA, C. Características morfoanatômicas e fisiológicas na avaliação do potencial bioindicador e fitorremediador de Pistia stratiotes L. na presença de cádmio, chumbo e arsênio. 2010. Disponível em:<<http://codel.londrina.pr.gov.br/index.php/component/content/article.html?id=76> , acesso em 17/06/17.

PAIGIORO, T.A.; THOMAZ, S.M. Influncie of decomposition of Echhornia azuera on selected abiotic limnological variables of different environments of the floodplain of the high Paraná River. **Acta Limnol Bras 11(2). 157-171. 1999.**

POMPÊO, M.L.M; MOSCHINI-CARLOS, V. Macrófitas aquáticas e perifiton: aspectos ecológicos e metodológicos. **São Carlos: Editora RiMa, 5a. Ed. 2001.**

RIIS, T.; SAND-JERSEN, K.; VESTERGAARD, O. Plant communities in lowland Danish streams> species composition and environmental factors. **Aquatic Botany, v.66,p.255-275. 2000.**

RODRIGUES A. C. D.; SANTOS A. M.; SANTOS F.S.; PEREIRA A. C.; SOBRINHO N. M. B. A. Mecanismos de respostas das plantas à poluição por metais pesados: possibilidade de uso de macrófitas para remediação de ambientes aquáticos contaminados. **Revista Virtual de Química, v. 8, n. 1, p. 262-276, 2016.**

THOMAZ, S.M.; BINI, L.M. Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas. 2003.

UFSCAR,2009. O que são Macrófitas Aquáticas. Disponível em: <http://www.ufscar.br/~probio/info_macrof.html> Acesso em 30/10/ 2016.

VIDOTTI, Eliane Cristina; ROLLEMBERG, MC do E. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. **Química nova**, v. 27, n. 1, p. 139-145, 2004.

SOBRE O ORGANIZADOR

EDSON DA SILVA - Possui graduação em Fisioterapia pela Fundação Educacional de Caratinga (2001). Obteve seu título de Mestre (2007) e o de Doutor em Biologia Celular e Estrutural pela Universidade Federal de Viçosa (2013). É especialista em Educação em Diabetes pela Universidade Paulista (2017), em Tecnologias Digitais e Inovação na Educação pelo Instituto Prominas (2020) e Pós-Graduando em Games e Gamificação na Educação (2020). Realizou cursos de aperfeiçoamento em Educação em Diabetes pela ADJ Diabetes Brasil, *International Diabetes Federation* e Sociedade Brasileira de Diabetes (2018). É docente da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), desde 2006, lotado no Departamento de Ciências Básicas (DCB) da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde (FCBS). Ministra disciplinas de Anatomia Humana para diferentes cursos de graduação. No Programa de Pós-Graduação em Saúde, Sociedade e Ambiente atua na linha de pesquisa Educação, Saúde e Cultura. É vice-coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, no qual atua nas áreas de Nutrição e Saúde Coletiva. É líder do Grupo de Estudo do Diabetes credenciado pelo CNPq no Diretório dos Grupos de Pesquisa no Brasil. Desde 2006 desenvolve ações interdisciplinares de formação em saúde mediada pela extensão universitária, entre elas várias coordenações de projetos locais, além de projetos desenvolvidos em Operações do Projeto Rondon com atuações nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste do Brasil. É membro da Sociedade Brasileira de Diabetes, membro de corpos editoriais e parecerista *ad hoc* de revistas científicas nacionais e internacionais da área de ciências biológicas, de saúde e de educação. Tem experiência na área da Saúde, atuando principalmente nos seguintes temas: Anatomia Humana; Diabetes *Mellitus*; Processos Tecnológicos Digitais e Inovação na Educação em Saúde; Educação, Saúde e Cultura. É Editor da Revista Brasileira de Extensão Universitária (RBEU) e Diretor Científico da Coleção Tecnologia e Inovação na Educação em Saúde, Editora Appris.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Água de Matali 60

Aquidauana 11, 39, 40, 41, 44, 46, 49, 50, 51, 52, 53, 57

B

Bioatividade 59, 71

Bioquímica 12, 83, 98, 99, 122, 140, 141, 142, 153, 155, 156

C

Caixas Longa Vida 50, 51, 53, 54, 57

Caneleiro 129, 130, 131, 132, 134, 135, 136

Carboidratos 45, 99, 121, 140, 142, 143, 145, 153, 174

Ciências Biológicas 2, 9, 15, 50, 53, 99, 169, 202

Compostagem 22, 24, 25, 26, 27, 29, 30

D

Desenvolvimento Sustentável 23, 91, 112

Distocia 19, 20, 21

E

Educação Ambiental 24, 88, 90, 91, 97, 98

Ensino 11, 88, 90, 91, 97, 99, 100, 108, 140, 141, 142, 143, 153, 154, 155, 156

Epilepsia 10, 1, 2, 3, 5, 6, 9, 12, 13, 14, 15

Espécie Nativa 129

Esquizencefalia 2, 3, 4, 6, 7

Etnobotânica 61, 173

F

Fitorremediação 13, 117, 187, 188, 189, 196, 198

Floresta Amazônica 131, 173

G

Germinabilidade 129, 131

Glicerol Residual 11, 74

H

Hospedeiro 11, 39, 42, 43, 44

J

Jogo de cartas 12, 140, 141

K

Klebsiella oxytoca 11, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 159

M

Malformações 10, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 12

Monoterpenos 157, 159, 162, 165, 166, 167, 169

N

Nanotecnologia 32, 33, 34

O

Óleo de cozinha 11, 88, 89, 90, 92, 95, 96, 98

Óleo Essencial 12, 49, 157, 159, 161, 165, 166, 167, 169, 170, 181

P

Parasita 39, 44

Plantas Aquáticas 187

Plantas Medicinais 61, 71, 72, 158, 170, 173

Poliuição 11, 23, 25, 26, 84, 85, 88, 97, 119, 200

Processos fermentativos 74, 77

Q

Qualidade de água 187

R

Reciclagem 11, 24, 25, 26, 50, 51, 58, 88, 89, 97, 98

Répteis 19, 20, 21

Resíduos Sólidos 10, 22, 24, 25, 26, 29, 49, 89, 92, 95, 189

Reutilização 25, 50, 51, 57, 88, 97, 98, 112

S

Schinus terebinthifolius 12, 157, 158, 160, 169, 170, 171

Sistemas Bioeletroquímicos 110, 113

T

Tartaruga 19, 20

Tecnologias Limpas 12, 110, 111, 112

Triagem Fitoquímica 59, 62, 64

V

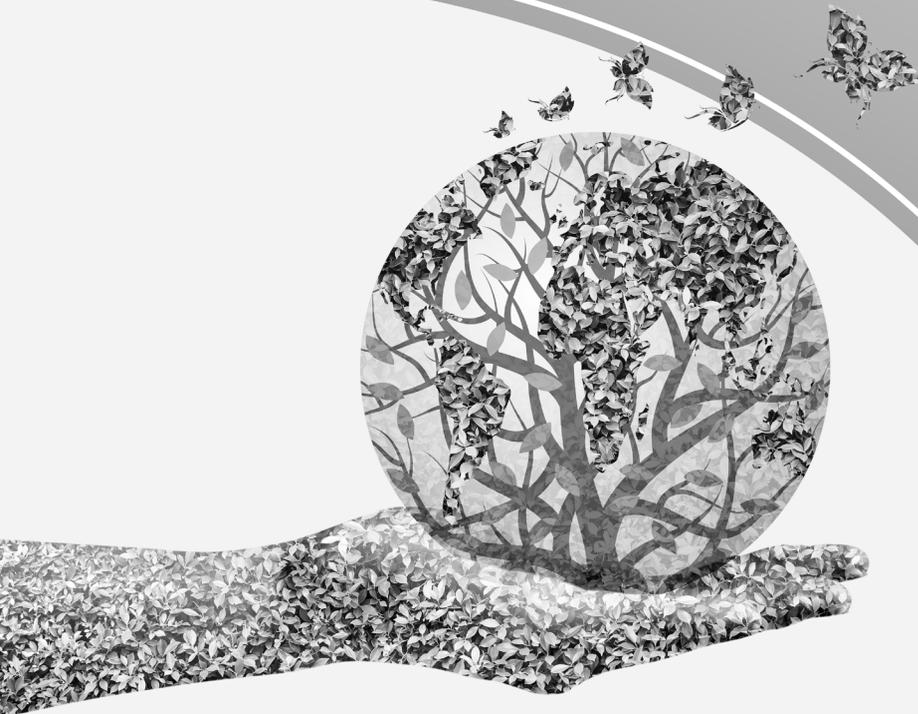
Vespas 39, 44, 45

Z

Zoológico 22, 24, 29, 30

Ciências biológicas: Realidades e virtualidades 2

-  www.atenaeditora.com.br
-  contato@atenaeditora.com.br
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  www.facebook.com/atenaeditora.com.br



Ciências biológicas: Realidades e virtualidades 2

-  www.atenaeditora.com.br
-  contato@atenaeditora.com.br
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  www.facebook.com/atenaeditora.com.br

