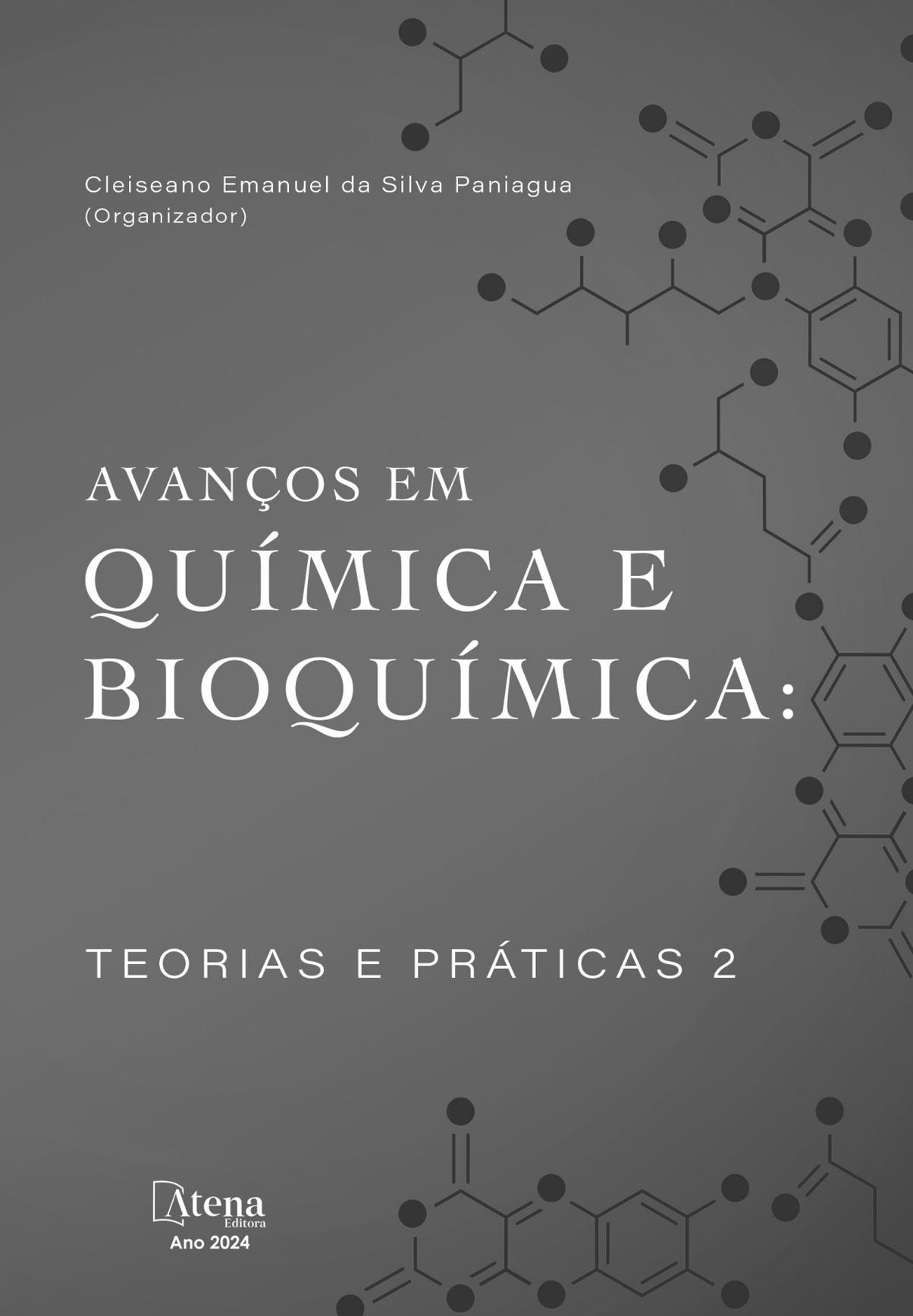
The background of the cover is a deep blue color, overlaid with various white chemical structures. These include branched alkanes, aromatic rings, and complex heterocyclic systems, all rendered in a minimalist, line-art style. The structures are scattered across the page, with some appearing larger and more prominent than others, creating a sense of depth and scientific focus.

Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua
(Organizador)

AVANÇOS EM
QUÍMICA E
BIOQUÍMICA:

TEORIAS E PRÁTICAS 2

Atena
Editora
Ano 2024

The background of the cover is a dark grey color, overlaid with various white chemical structures. These include branched alkanes, aromatic rings, and heterocyclic compounds, all rendered in a minimalist, skeletal style. The structures are scattered across the page, with some appearing more prominently than others.

Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua
(Organizador)

AVANÇOS EM
QUÍMICA E
BIOQUÍMICA:

TEORIAS E PRÁTICAS 2

Atena
Editora
Ano 2024

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Ellen Andressa Kubisty

Luiza Alves Batista

Nataly Evilin Gayde

Thamires Camili Gayde

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

2024 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2024 O autor

Copyright da edição © 2024 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelo autor.

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 da obra e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva do autor, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos ao autor, 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 Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Profª Drª Alana Maria Cerqueira de Oliveira – Instituto Federal do Acre

Profª Drª Ana Grasielle Dionísio Corrêa – Universidade Presbiteriana Mackenzie

Profª Drª Ana Paula Florêncio Aires – Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

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 – Colégio Militar Dr. José Aluisio da Silva Luz / Colégio Santa Cruz de Araguaina/TO

Profª Drª Cristina Aledi Felsemburgh – Universidade Federal do Oeste do Pará

Prof. Dr. Diogo Peixoto Cordova – Universidade Federal do Pampa, Campus Caçapava do Sul

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

Prof. Dr. Fabrício Moraes de Almeida – Universidade Federal de Rondônia

Profª Drª Glécilla Colombelli de Souza Nunes – Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Hauster Maximiler Campos de Paula – Universidade Federal de Viçosa

Profª Drª Iara Margolis Ribeiro – Universidade Federal de Pernambuco

Profª Drª Jéssica Barbosa da Silva do Nascimento – Universidade Estadual de Santa Cruz

Profª Drª Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Prof. Dr. Juliano Bitencourt Campos – Universidade do Extremo Sul Catarinense

Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Leonardo França da Silva – Universidade Federal de Viçosa

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

Prof. Dr. Marcos Vinicius Winckler Caldeira – Universidade Federal do Espírito Santo

Profª Drª Maria Iaponeide Fernandes Macêdo – Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Profª Drª Maria José de Holanda Leite – Universidade Federal de Alagoas

Profª Drª Mariana Natale Fiorelli Fabiche – Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Miguel Adriano Inácio – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais

Prof. Dr. Milson dos Santos Barbosa – Universidade Tiradentes

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

Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Nilzo Ivo Ladwig – Universidade do Extremo Sul Catarinense

Profª Drª Priscila Natasha Kinas – Universidade do Estado de Santa Catarina

Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Rafael Pacheco dos Santos – Universidade do Estado de Santa Catarina

Prof. Dr. Ramiro Picoli Nippes – Universidade Estadual de Maringá

Profª Drª Regina Célia da Silva Barros Allil – Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Sidney Gonçalo de Lima – Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Avanços em química e bioquímica: teorias e práticas 2

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Maiara Ferreira
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizador: Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

A946 Avanços em química e bioquímica: teorias e práticas 2 /
Organizador Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua. –
Ponta Grossa - PR: Atena, 2024.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-258-2966-1

DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.661242410>

1. Química. 2. Bioquímica. I. Paniagua, Cleiseano
Emanuel da Silva (Organizador). II. Título.

CDD 540

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

DECLARAÇÃO DO AUTOR

Para fins desta declaração, o termo 'autor' será utilizado de forma neutra, sem distinção de gênero ou número, salvo indicação em contrário. Da mesma forma, o termo 'obra' refere-se a qualquer versão ou formato da criação literária, incluindo, mas não se limitando a artigos, e-books, conteúdos on-line, acesso aberto, impressos e/ou comercializados, independentemente do número de títulos ou volumes. O autor desta obra: 1. Atesta não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação à obra publicada; 2. Declara que participou ativamente da elaboração da obra, 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 da obra para submissão; 3. Certifica que a obra publicada está completamente isenta de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirma a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhece ter informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autoriza 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 da obra publicada, 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. A editora pode disponibilizar a obra em seu site ou aplicativo, e o autor também pode fazê-lo por seus próprios meios. Este direito se aplica apenas nos casos em que a obra não estiver sendo comercializada por meio de livrarias, distribuidores ou plataformas parceiras. Quando a obra for comercializada, o repasse dos direitos autorais ao autor será de 30% do valor da capa de cada exemplar vendido; 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. Em conformidade com a Lei Geral de Proteção de Dados (LGPD), a editora não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como quaisquer outros dados dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

O e-book: “Avanços em química e bioquímica: teorias e práticas 2” é constituído por quatro capítulos de livros que avaliaram: *i*) correlação entre o tecido epitelial e o mesênquima no desenvolvimento do câncer de próstata; *ii*) potencial bioativo das folhas e caules de *Stevia rebaudiana* para o tratamento de diabetes e obesidade; *iii*) remoção de corante em efluente de indústria têxtil por Processos Oxidativos Avançados (POAs) e; *iv*) melhoria de desempenho do sistema de transmissão no processo de frenagem de veículos.

O primeiro capítulo apresenta uma revisão da literatura em relação ao desenvolvimento de câncer de próstata, a partir da compreensão, correlação e implicações entre o tecido epitelial e a mesênquima em diferentes contextos, demonstrando que existem inúmeras lacunas a serem preenchidas na literatura científica, em especial no tocante ao desenvolvimento de fármacos para o tratamento do tipo de câncer em destaque.

O capítulo 2 apresentou uma revisão da literatura em relação a presença de compostos bioativos presentes em folhas e caules da espécie *Stevia rebaudiana* para o controle e prevenção de diabetes e obesidade, provenientes da elevada ingestão de alimentos e bebidas com alto teor de açúcares e gorduras. O estado da arte vem demonstrando a existência de uma enorme lacuna em relação ao uso sustentável de extratos de *Stevia* e sua contribuição para as áreas de saúde e de alimentos.

O terceiro capítulo investigou a utilização de diferentes Processos Oxidativos Avançados (POAs) em efluente têxtil contaminado pelo corante orgânico Vermelho Laca Manganês (VLM). Os resultados apontaram que os processos UVA/O₂/ZnO e UVA/O₂/ZnO/KPS apresentaram taxas de degradação que podem alcançar até 97% de eficiência de remoção do VLM presente no efluente.

Por fim, o capítulo 4 apresentou um estudo com o objetivo de melhorar o desempenho de veículos em testes de resistência durante o processo de frenagem dos mesmos. Os resultados apontam uma redução considerável em relação ao tempo e melhorias na relação pistão-coroa, análise de eixos por meio da utilização de *softwares*.

Nesta perspectiva, a Atena Editora vem trabalhando de forma a estimular e incentivar cada vez mais pesquisadores do Brasil e de outros países, a publicarem seus trabalhos com garantia de qualidade e excelência em forma de livros, capítulos de livros e artigos científicos.

CAPÍTULO 1	1
INTERAÇÕES EPITÉLIO-MESENQUIMAIS NO DESENVOLVIMENTO PROSTÁTICO E NO CÂNCER DE PRÓSTATA: MECANISMOS DE COMUNICAÇÃO TECIDUAL	
Laura Dickel Saraiva	
Léder Leal Xavier	
Fábio Klamt	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.6612424101	
CAPÍTULO 2	15
EXTRATOS E FRAÇÕES FUNCIONAIS DE STEVIA REBAUDIANA: IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS, AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIDIABÉTICA E ANTILIPÍDICA	
Milena Kazue Enokida	
Cynthia Letícia Serra Cabeça	
Natani Caroline Nogueira	
Paulo Leonardo Marotti Siciliano	
Paula Gimenez Milani Fernandes	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.6612424102	
CAPÍTULO 3	42
APLICAÇÃO DE PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS NO TRATAMENTO DE SOLUÇÕES CONTENDO UM CORANTE ORGÂNICO	
Leonardo Araújo Martins Titericz	
Leonardo Alcântara Sperancetta	
Palimécio Gimenes Guerrero Júnior	
Paulo Roberto de Oliveira	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.6612424103	
CAPÍTULO 4	54
MEJORA DE LA TRANSMISIÓN DE POTENCIA EN UN FÓRMULA SAE: DISEÑO Y ANÁLISIS DE UN SISTEMA DE ALTA PERFORMANCE	
Siro Tagliaferro	
Nelson Menezes	
Jesús Vásquez	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.6612424104	
SOBRE O ORGANIZADOR	79
ÍNDICE REMISSIVO	80

INTERAÇÕES EPITÉLIO-MESENQUIMAIS NO DESENVOLVIMENTO PROSTÁTICO E NO CÂNCER DE PRÓSTATA: MECANISMOS DE COMUNICAÇÃO TECIDUAL

Data de submissão: 19/09/2024

Data de aceite: 01/10/2024

Laura Dickel Saraiva

Laboratório de Bioquímica Celular
Departamento de Bioquímica / ICBS
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)
Porto Alegre – Rio Grande do Sul
<http://lattes.cnpq.br/0867309108399717>

Léder Leal Xavier

Laboratório de Biologia Celular e Tecidual
Escola de Ciências da Saúde e da Vida
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS)
Porto Alegre-Rio Grande do Sul
<https://lattes.cnpq.br/0516950924338641>

Fábio Klamt

Laboratório de Bioquímica Celular
Departamento de Bioquímica / ICBS
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)
Porto Alegre – Rio Grande do Sul
<http://lattes.cnpq.br/3256932358053453>

RESUMO: A próstata é uma importante glândula do sistema reprodutor masculino. Produtora de uma parte considerável do fluido seminal, é essencial para o sucesso reprodutivo. A glândula é constituída principalmente por tecido epitelial secretor

e estroma fibromuscular, nervos e vasos sanguíneos. E, como tem sido demonstrado em diversos estudos desenvolvidos nas últimas décadas, a comunicação entre esses tecidos é crucial para o bom funcionamento da próstata e para o sua organogênese. Porém, o desenvolvimento e progressão de patologias, como o câncer de próstata, também é intrinsecamente influenciado por essas interações. As mudanças na fisiologia desses tecidos no processo de envelhecimento podem ser cruciais no entendimento do surgimento dessa patologia. Para compreender como essa comunicação acontece e sua implicação na organogênese e tumorigênese da próstata, neste capítulo, trazemos os principais pontos e implicações da sinalização entre tecido epitelial e mesênquima em diferentes contextos.

PALAVRAS-CHAVE: Próstata; Câncer de próstata; microambiente tumoral; organogênese, interações epitélio-mesenquimais.

EPITHELIAL-MESENCHYMAL INTERACTIONS IN PROSTATIC DEVELOPMENT AND PROSTATE CANCER: TISSUE COMMUNICATION MECHANISMS

ABSTRACT: The prostate is an important gland in the male reproductive system which is responsible for producing a considerable part of the seminal fluid, essential for reproductive success. The gland consists mainly of secretory epithelial tissue and fibromuscular stroma, nerves and blood vessels. As it has been shown in several studies carried out in recent decades, the communication between these tissues is crucial for the proper functioning of the prostate and its organogenesis. However, the development and progression of some pathologies, such as prostate cancer, is also intrinsically mediated by these interactions. Changes in the physiology of these tissues during the aging process may be crucial keys in understanding the emergence of this pathology. Meaning to understand how this communication happens and its implications for prostate organogenesis and tumorigenesis, this chapter brings riglights and implications of signaling between epithelial tissue and mesenchyme in different contexts. **KEYWORDS:** Prostate; Prostate cancer; tumor microenvironment; organogenesis, epithelial-mesenchymal interactions.

1 | INTRODUÇÃO

A próstata é uma glândula acessória indispensável ao sistema reprodutivo masculino, produzindo cerca de 30% dos componentes do sêmen, adicionando importantes fatores ao fluido seminal, como proteases para auxiliar na movimentação dos espermatozoides e outras substâncias que ajudam a neutralizar o pH vaginal, evitando a apoptose de gametas na concepção (MEDICAL NEWS TODAY 2022). Diversas proteases são secretadas pela próstata, entre elas, o Antígeno Prostático Específico (PSA), um importante marcador sérico de patologias prostáticas, incluindo o câncer de próstata (YOUSEF e DIAMANDIS, 2001). A glândula prostática é composta por ácinos contendo uma camada única de células epiteliais glandulares sensíveis a hormônios e outra camada de células basais germinativas que detém a capacidade proliferativa do tecido, permeadas por escassas células neuroendócrinas (TOIVANEN e SHEN, 2017). Os ácinos são envoltos por mesênquima diferenciado em estroma fibromuscular composto por fibroblastos, células musculares lisas e matriz extracelular, permeado por células imunológicas não residentes, nervos, vasos sanguíneos e linfáticos (TOIVANEN e SHEN, 2017). A maioria das interações bioquímicas entre o epitélio e estroma se dão principalmente pela matriz extracelular, composta de um amálgama de macromoléculas que provêm suporte e substrato para adesão e migração celular, além de conter diversas proteínas sinalizadoras que induzem o crescimento e remodelamento do tecido (HANKE *et al*, 2020). Essa dinâmica é completamente alterada durante patologias como o câncer de próstata, com uma aparente retroalimentação da doença gerada pela desregulação da sinalização entre os tecidos (HANKE *et al*, 2020).

Todo o funcionamento da próstata, desde o princípio de sua organogênese, é explicitamente dependente da boa comunicação entre seus componentes teciduais. Tanto que, o estroma e o epitélio acinar são igualmente importantes no desempenho das

funções prostáticas e no desenvolvimento embrionário da próstata, como veremos no próximo segmento. Por outro lado, o câncer de próstata, assim como basicamente todos os processos desta glândula, também é fortemente atrelado a sinalização recíproca entre tecido epitelial e mesenquimal, criando um complexo microambiente tumoral, possivelmente tão importante para a malignidade da doença quanto o próprio adenocarcinoma (GE *et al*, 2022). Nesta revisão, procuramos trazer uma abordagem compreensiva da importância dessa comunicação em diferentes cenários da fisiologia prostática, e como essas reações podem acarretar no desenvolvimento e perpetuação do câncer de próstata.

2 | PAPEL DA SINALIZAÇÃO RECÍPROCA ENTRE TECIDO EPITELIAL E MESÊNQUIMA NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DA PRÓSTATA

As interações entre mesênquima e epitélio são essenciais já na própria formação da glândula, mediando a diferenciação da próstata a partir do sino urogenital (UGS) quando sob influência dos hormônios andrógenos no início do desenvolvimento do sistema reprodutor masculino (Fig. 1) (CUNHA *et al*, 1992). Diversos experimentos foram conduzidos a fim de entender o desenvolvimento da próstata e o papel de cada tecido constituinte neste processo, e como se dão as trocas de sinalização entre o tecido epitelial do sino urogenital (UGE) e o mesênquima dessa mesma estrutura embrionária (UGM).

Em um dos seus primeiros artigos publicados sobre o tema, Gerald R. Cunha demonstrou que o desenvolvimento da próstata depende da interação do mesênquima com o tecido epitelial, e que o UGE dita a natureza da glândula formada quando cultivado juntamente com mesênquima de outros órgãos alvo dos hormônios andrógenos. Neste estudo, UGM, UGE, tecido epitelial da vesícula seminal (SVE) e mesênquima de vesícula seminal (SVM) foram extraídos de embriões de camundongo e cultivados de forma homotípica (SVE+SVM e UGE+UGM), configurando o grupo controle, e heterotípica (SVE+UGM e UGE+SVM) como grupo experimental. O desenvolvimento esperado ocorreu em ambos os controles, com os tecidos de vesícula seminal se diferenciando em uma histologia típica do órgão, assim como a cultura de tecidos do sino urogenital apresentou diferenciação em glândula prostática. Curiosamente, quando o UGE foi combinado com o mesênquima originário da vesícula seminal (SVM) o órgão se desenvolveu como uma glândula prostática, assim como a recombinação heterotípica de SVE e UGM resultou no desenvolvimento em vesícula seminal. Tanto a vesícula seminal quanto o sino urogenital são estruturas alvo dos hormônios andrógenos, cruciais para a organogênese (CUNHA, 1972).

Mas, o que aconteceria se a sensibilidade a esses hormônios fosse anulada em um dos tecidos? Haveria diferenciação glandular? A resposta é: depende do tecido. Em 1978, Cunha e Lung publicaram outro artigo que explora a interação hormonal tanto no tecido epitelial quanto no mesênquima. Neste estudo, foi utilizada a recombinação de UGM e UGE de camundongo *wild-type* (wt) e da variedade Tfm (*testicular feminization*

mice) – linhagem que não expressa receptores de hormônios andrógenos (AR), e portanto o desenvolvimento dos órgãos reprodutores masculinos é impedida –, e implantando essas culturas em ratos machos, mantendo esses tecidos expostos a andrógenos. Nesse experimento se demonstrou que as combinações de UGE-wt ou UGE-Tfm com UGM-wt resultou em diferenciação em glândula prostática, em oposição a diferenciação dos tecidos em uma histologia semelhante a vista na vagina resultante da combinação de UGE de qualquer linhagem com UGM de camundongos Tfm. Com base nesses resultados, podemos concluir que a diferenciação desses tecidos depende da sensibilidade do mesênquima aos hormônios sexuais, enquanto essa qualidade no tecido epitelial pode ser negligenciada durante a organogênese. Neste caso, como o desenvolvimento dessas glândulas é andrógeno-dependente, podemos supor que o mesênquima age como um intermediário da ação hormonal para o desenvolvimento epitelial (CUNHA e LUNG, 1978). Corroborando fortemente essa hipótese, Cooke et al. no início da década de 1990, demonstraram que a expressão de AR era detectável apenas no tecido mesenquimal no período anterior e durante o desenvolvimento do bulbo prostático, tendo sua expressão no tecido epitelial apenas posteriormente à formação da glândula (COOKE *et al*, 1991).

Ademais, o tecido epitelial parece exercer uma função crucial na diferenciação das células mesenquimais em células de músculo liso. Isso foi demonstrado em um experimento no qual apenas UGM embrionário foi incubado embaixo da cápsula renal de roedores machos, e após 4 semanas, foi observado o desenvolvimento de escassas células musculares lisas. Contudo, quando providos com UGE de ratos, o desenvolvimento do estroma se deu normalmente. Surpreendentemente, quando recombinação com tecido epitelial prostático humano, o mesênquima desenvolveu características de estroma prostático humano, com espessamento dos feixes musculares. Com isso, a sinalização recíproca entre tecido epitelial e mesênquima é essencial para o desenvolvimento adequado e espécie-específico do estroma (CUNHA *et al*, 1992).

Portanto, considera-se que na organogênese da próstata, as interações entre o mesênquima e epitélio são essenciais e complementares, configurando uma via de duplo sentido: o mesênquima induz o crescimento e diferenciação do tecido epitelial e o epitélio promove a diferenciação do mesênquima em um estroma fibromuscular coeso e adequado para a espécie. Semelhantemente, Já na vida adulta, as interações entre epitélio e estroma continuam a modular importantes aspectos do funcionamento da próstata, como o crescimento, diferenciação e morte celular por meio das vias de sinalização de andromedinas, fatores de crescimento e diferenciação produzidos pelo estroma quando influenciado pelos hormônios sexuais (CUNHA, 2008). Como veremos a seguir, em algumas patologias da próstata, a comunicação entre os diferentes tecidos da glândula parece estar alterada, podendo desempenhar um papel importante na origem e progressão da doença.

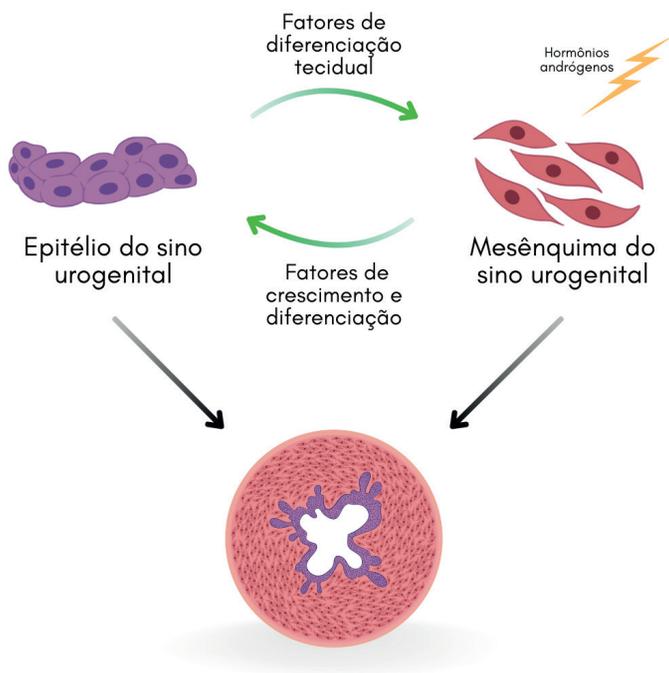


Figura 1. Sinalização recíproca dos tecidos na formação da próstata. A formação da próstata depende da troca de fatores de crescimento e diferenciação entre o epitélio e o mesênquima do sino urogenital, mediados pela ação dos hormônios andrógenos no mesênquima.

3 | MICROAMBIENTE TUMORAL: “CÂNCER É UMA FERIDA QUE NÃO CICATRIZA”

O câncer de próstata é uma neoplasia de prognóstico variável e muito comum em homens de idade superior a 60 anos (RAWLA, 2019), sendo o segundo tipo de câncer mais incidente na população masculina e o quinto tipo de câncer que mais causa óbitos no mundo, com cerca de 1,4 milhão de casos em 2022 *World Cancer Research Fund Organization* (2022). O Brasil assume uma trágica posição nas estatísticas quanto ao câncer de próstata, ocupando o 4º lugar no ranking de casos, com 102 mil diagnósticos em 2022, e o terceiro lugar em número de mortes causadas pela doença, com cerca de 19 mil óbitos no mesmo ano, segundo a *World Cancer Research Fund Organization* (2022). O tipo mais comum de câncer de próstata é o adenocarcinoma prostático (MARCUS *et al*, 2012), caracterizado pelo crescimento descontrolado, anormal e infiltrativo do epitélio secretor, que por meio de uma série de mutações adquire um potencial proliferativo, anteriormente reservado à camada basal, que não é encontrada nos ácinos cancerosos (HUMPHREY, 2007). Apesar de que o tecido epitelial seja o mais óbvio problema nesse cenário, o mesênquima também desempenha um importante papel no desenvolvimento e progressão

da doença, configurando o microambiente tumoral (GE *et al*, 2022).

Com o avanço da idade, a estrutura e fisiologia da próstata tendem a mudar; provavelmente pelas mudanças na produção e ação hormonal e/ou pela maior resposta inflamatória da glândula relacionada à idade, o estroma prostático assume permanentemente uma fisiologia semelhante à encontrada no processo de cicatrização (SCHÄFER e WERNER, 2008). Durante o processo de cicatrização, a matriz é intensamente remodelada e age como um “reservatório” de fatores de crescimento para a reconstituição do tecido obliterado. Essas condições são muito semelhantes às encontradas em diversos tipos tumorais, incluindo o câncer de próstata. Ademais, a comunicação entre os tecidos se desvirtua profundamente no câncer de próstata acarretando em drásticas alterações podem ser observadas na composição, estrutura e fisiologia do mesênquima, resultando no chamado “estroma reativo” (Fig. 2), que se faz presente ainda no início do processo neoplásico e se desenvolve de acordo com a progressão da doença (BARRON e ROWLEY, 2012). De fato, muitas das alterações presentes no ER já são observáveis nas proximidades de ácinos com neoplasia intraepitelial (PIN) – lesão apontada como mais provável precursora do adenocarcinoma de próstata – , sugerindo uma coevolução das alterações no estroma e no epitélio glandular (TUXHORN *et al*, 2002). O ER apresenta diferenças de composição celular importantes em relação ao estroma sadio, com a degeneração de células musculares lisas e proliferação de fibroblastos associados ao câncer (CAF), além de apresentar desregulação na expressão de moléculas na matriz extracelular, com aumento na expressão de fatores de remodelamento tecidual e de crescimento; alterações que podem desempenhar um papel importante na progressão da patologia ao fomentar a replicação celular já desregulada, por definição, no câncer (TUXHORN *et al*, 2002).

Ademais, a desregulação vista no estroma reativo pode levar à disrupção de constituintes importantes de um órgão diferenciado, como a lâmina basal – parte da matriz extracelular que provê suporte e adesão às células epiteliais – pela redução na expressão de laminina pelas células mesenquimais (TLSTY, 2001), acarretando na despolarização das células epiteliais e conseqüentemente na desdiferenciação celular e desregulação da proliferação e da adesão celular (LEE e VASIOUKHIN, 2008). Evidencia-se que as interações entre o microambiente tumoral e as células malignas são chaves importantíssimas para o entendimento da origem e progressão da doença, além de serem potenciais alvos terapêuticos no controle do câncer. O estudo da composição tecidual, nesse contexto, pode ser uma chave importante para o entendimento das dinâmicas que ocorrem no microambiente tumoral. Devido a essa importância, faz-se tão crucial o estudo das alterações mesenquimais circundantes quanto do tumor em si.

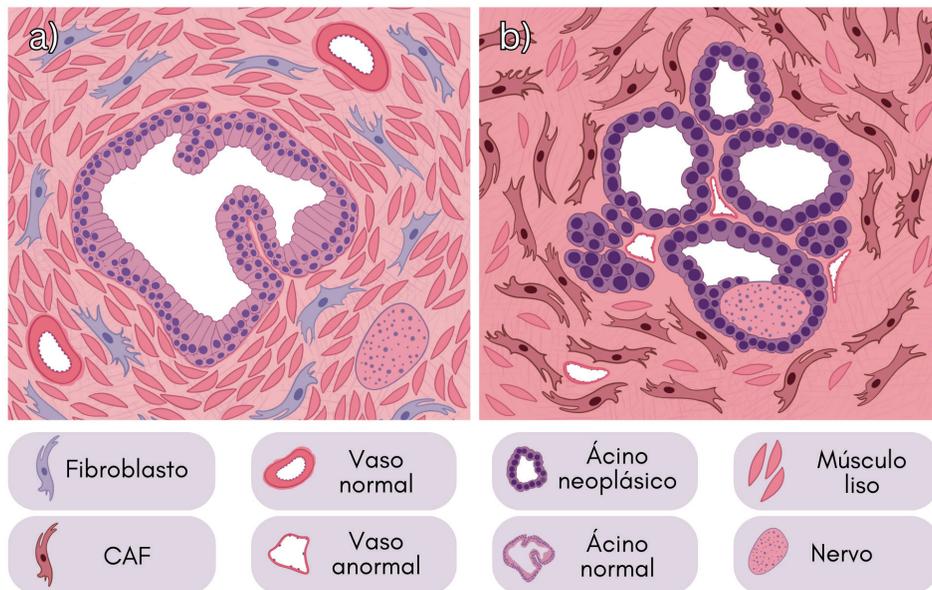


Figura 2. Alterações no microambiente glandular no câncer de próstata. a) Tecido normal: ácino benigno, circundado por estroma com alta densidade de células musculares, de matriz pouco densa com escassos fibroblastos, os nervos e vasos sanguíneos são bem formados e individualizados; b) Estroma reativo Ácinos neoplásicos apresentando invasão perineural, circundado por estroma com visível degeneração do músculo liso, aumento na densidade da matriz, intensa proliferação de CAF, os vasos sanguíneos são aberrantes.

3.1 Angiogênese e neurogênese

Assim como em diversos outros tumores, o câncer de próstata induz a formação de novos vasos sanguíneos para suprir o crescimento tumoral (VAN MOORSELAAR e VOEST, 2002), apesar de os vasos em tumores de próstata serem frequentemente anômalos e mal formados. Além disso, a angiogênese tumoral parece ter um papel prognóstico, facilitando a invasão tecidual dos tumores (LEE e VASIOUKHIN, 2008). Esse fenômeno é amplamente associado à expressão aberrante de VEGF observada no tumor de próstata; no tecido prostático normal, a expressão de VEGF é basicamente restrita ao estroma, enquanto no câncer de próstata se observa a expressão desse fator de crescimento também no tecido epitelial (VAN MOORSELAAR e VOEST, 2002).

A neurogênese em tumores de próstata é outro processo chave para o desenvolvimento de metástases, possivelmente atrelado à ativação de rotas de sinalização de YAP1, mediado pelos CAF, que induz a secreção de NGF (do inglês *nerve growth factor*) (SHEN *et al*, 2022). Outro fator de crescimento atuante no processo de neurogênese no adenocarcinoma é o fator de crescimento epitelial (EGF), altamente expresso pelas células tumorais (YARDEN, 2001).

3.2 Fibroblastos Associados ao Câncer (CAF)

Uma parte focal dos estudos sobre o estroma reativo e os seus impactos na progressão tumoral é a observada proliferação de CAF. Os fibroblastos associados ao câncer são um tipo heterogêneo de células mesenquimais com pelo menos três subtipos identificáveis na próstata, de acordo com o perfil de expressão gênica (CHEN *et al*, 2021). Os CAF expressam marcadores como α -SMA, uma variedade de actina expressa especialmente em células de músculo liso possibilitando contração, e proteína de ativação de fibroblasto (FAP), fator importante para as interações epitélio-mesenquimais (XING *et al*, 2010). Essas características conferem aos CAFs fisiologia muito semelhante a dos miofibroblastos, células essenciais no processo de reparo tecidual após uma lesão (ORIMO e WEINBERG, 2006). Contudo, diferente dos miofibroblastos, os CAF não degeneram após a conclusão do processo de restauração tecidual, tornando-se peças permanentes do estroma tumoral (XING *et al*, 2010; CIRRI e CHIARUGI, 2012). Apesar de muito estudados, a origem exata dos CAF no câncer de próstata ainda permanece obscura. Funcionalmente, em alguns estudos, se sugere que a ativação dos fibroblastos em áreas circundantes a lesões neoplásicas seja originalmente uma reação defensiva contra a própria lesão, mas que em algum momento do desenvolvimento do tumor, os mecanismos de ação desses fibroblastos seriam “sequestrados” pelas células tumorais (SCHÄFER e WERNER, 2008).

Outra característica compartilhada por ambos os tipos celulares é a superexpressão de fatores de crescimento celular, como TGF- β , HGF (KAMINSKI *et al*, 2006) e FGF (GIRI *et al*, 1999) que não só induzem o aumento da taxa replicativa (Fig. 3a) mas também são peças chave na ativação de proto-oncogenes nas células epiteliais acinares, podendo auxiliar na tumorigênese (CIRRI e CHIARUGI 2012). Tanto que, quando em contato com a matriz extracelular extraída de ER, células da linhagem LNCaP - derivadas de tecido epitelial de adenocarcinoma de próstata - sofrem aumento na proliferação e motilidade celular (PALUMBO *et al*, 2012).

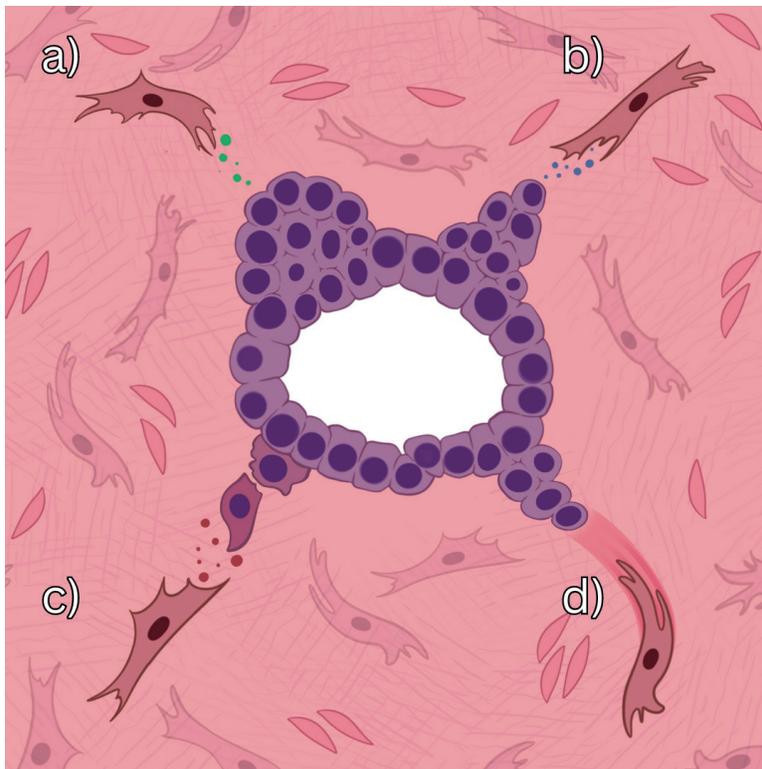


Figura 3. Mecanismos de interação dos CAF com as células tumorais; a) secreção de fatores de crescimento, aumentando a replicação celular; b) suporte metabólico pela secreção de metabólitos; c) promoção da invasão epitélio-mesenquimal; d) remodelamento da matriz.

Contudo o suporte para o crescimento tumoral vai além da secreção de fatores de crescimento. Em outros tipos tumorais se observou que CAF participam no crescimento e no aumento da sobrevivência das células tumorais com a injeção de metabólitos como aminoácidos (SOUSA *et al*, 2016; OLIVARES *et al*, 2017), lactato alguns lipídeos (Fig. 3b) (AUCIELLO *et al*, 2019) na matriz, que podem servir de aporte nutricional para as células neoplásicas quando em déficit nutricional. Outro fator que contribui para a permissividade do microambiente ao câncer vem das atividades imunossupressoras dos CAF, com a secreção aumentada de metaloproteinasas (BARSOUM *et al*, 2011). A secreção de TGF β também é associada à hipoatividade de alguns tipos de células imunológicas, como os linfócitos-T, ajudando a evasão das células neoplásicas do radar do sistema imunológico (TRAPANI, 2005).

O TGF β produzido por CAF é um fator que parece desempenhar dois papéis opostos na fisiologia celular: em tecidos normais, TGF β proporciona a diferenciação celular e é importante na supressão tumoral. Contudo, a desregulação das rotas influenciadas pela molécula observada nos processos neoplásicos faz com que TGF β desempenhe um papel importante na metástase, induzindo a invasão epitélio-mesenquimal (Fig. 3c)

(MASSAGUÉ, 2008). Além disso, a superexpressão de TGF- β e HGF pode levar ao próprio desenvolvimento de neoplasias em tecidos anteriormente saudios, como foi observado experimentalmente em tecido epitelial mamário normal (KUPERWASSER *et al*, 2004).

Os CAF, assim como os miofibroblastos, frequentemente apresentam superexpressão de moléculas estruturais da matriz extracelular, como fibronectina, laminina e colágeno, o que resulta em um aumento na densidade da matriz (XING *et al*, 2010). A adesão celular das células tumorais à fibronectina e à laminina pode ativar rotas de sinalização de sobrevivência celular (HEHLGASN *et al*, 2007). O ácido hialurônico é um constituinte importante da matriz e está superexpresso pelos fibroblastos no câncer de próstata (KNUDSON *et al*, 1984), e está relacionado a um maior potencial metastático (LIPPONEN *et al*, 2001) e de recidiva do tumor (AALTOMAA *et al*, 2002), assim como a uma maior replicação celular das células cancerosas ao induzir a produção de HGF (*hepatocyte growth factor*) (GHATAK *et al*, 2010). O papel dos CAF no modelamento da matriz não é restrito ao aumento na expressão de moléculas estruturais. Alguns estudos com outros tipos tumorais indicam que CAF podem modelar fibras colágenas ou utilizar a contração celular para criar ductos para a migração celular (Fig. 3d) (LI *et al*, 2016).

Os CAF são indiscutivelmente um dos fatores principais do microambiente tumoral, tanto nos tumores prostáticos quanto em diversos outros adenocarcinomas. Os fibroblastos associados ao câncer são um dos focos principais dos estudos sobre o câncer de próstata na atualidade, podendo ser uma grande chave para o entendimento tanto da origem quanto de diversos aspectos da progressão da doença. Diversos mecanismos de ação dessas células ainda estão sendo descritos e têm o potencial de ser novos alvos terapêuticos para o controle do câncer.

3.3 Influência do microambiente tumoral na resposta terapêutica

A chegada das drogas antitumorais geralmente acontece por difusão, do capilar sanguíneo para a matriz. Em primeira instância, o próprio espessamento da matriz observado no estroma reativo pode dificultar a difusão de quimioterápicos pelo aumento da pressão intersticial, que diminui o fluxo sanguíneo (DISCHER *et al*. 2005). Essa condição se comprova quando, em condições experimentais, a administração dessas medicações juntamente com proteases degradantes do ácido hialurônico – superexpresso na matriz tumoral –, desempenha um melhor desempenho no controle do tumor (PROVENZANNO *et al*, 2012). Complementarmente, a adesão celular às proteínas da matriz extracelular parece desempenhar um papel na sobrevivência celular e na resistência à radioterapia e quimioterapia (FORNARO *et al*, 2003). A acidificação e hipóxia observada no tumor de próstata também dificulta a chegada e ação dos medicamentos antitumorais (MANALLACK, 2008; PARKER *et al*, 2004). Algumas drogas estão sendo elaboradas como maneiras de aumentar a efetividade de quimioterápicos e de radioterapia tendo como alvo a produção

e organização das proteínas da matriz extracelular devido a importância desses fatores na ação terapêutica.

4 | CONCLUSÕES

As interações entre os tecidos da próstata são de suma importância para o funcionamento e desenvolvimento da glândula, mas também desempenham um papel crucial na carcinogênese e na malignidade da doença, e dificultando ainda a ação de drogas antitumorais. A composição tecidual da próstata é uma área que certamente deve ser explorada quando temos em vista o estudo das interações bioquímicas da glândula, tanto no desenvolvimento quanto na patologia, pois pode denotar que tipos de sinalização estão ocorrendo entre os tecidos. De fato, ainda há muito espaço para o estudo dessas relações e como essas sinalizações podem ser de utilidade para o desenvolvimento de fármacos que auxiliam no tratamento do câncer de próstata.

REFERÊNCIAS

AALTOOMAA, S., LIPPONEN, P., TAMMI, R., et al. **Strong Stromal Hyaluronan Expression Is Associated with PSA Recurrence in Local Prostate Cancer.** *Urol Int*, v. 69, n. 4, p. 266-272, 2002.

AO, M., FRANCO, O. E., PARK, D., et al. **Cross-talk between paracrine-acting cytokine and chemokine pathways promotes malignancy in benign human prostatic epithelium.** *Cancer Res* v. 67, p. 4244–4253, 2007.

AUCIELLO, F. R., BULUSU, V., OON, C., et al. **A stromal lysolipid-autotaxin signaling axis promotes pancreatic tumor progression.** *Cancer Discov*, v. 9, p. 617–627, 2019.

BARRON, D. A., ROWLEY, D. R. **The reactive stroma microenvironment and prostate cancer progression.** *Endocr Relat Cancer*, v. 19, n. 6, p. 187-204, 2012.

BARSOUM, I. B., HAMILTON, T. K., LI, X., et al. **Hypoxia induces escape from innate immunity in cancer cells via increased expression of ADAM10: role of nitric oxide.** *Cancer Res*, v. 71, p. 7433–7441, 2011.

CHEN, S., ZHU, G. YANG, Y., Chen, S., et al. **Single-cell analysis reveals transcriptomic remodellings in distinct cell types that contribute to human prostate cancer progression.** *Nat Cell Biol*, v. 23, p. 87–98, 2021.

CIRRI, P., CHIARUGI, P. **Cancer-associated-fibroblasts and tumour cells: A diabolic liaison driving cancer progression.** *Cancer Metastasis Rev*, v. 31, p. 195–208, 2012.

COOKE, P. S., YOUNG, P. CUNHA, G. R. **Androgen receptor expression in developing male reproductive organs.** *Endocrinology* v. 128, p. 2867–2873, 1991.

CUNHA, G. R., BATTLE, E., YOUNG, P., et al. **Role of epithelial–me senchymal interactions in the differentiation and spatial organization of visceral smooth muscle.** *Epithelial Cell Biol*, v. 1, p. 76–83, 1992.

- CUNHA, G. R. **Epithelio–mesenchymal interactions in primordial gland structures which become responsive to androgenic stimulation.** *Anat Rec*, v. 172, p. 179–196, 1972.
- CUNHA, G. R., LUNG, B. **The possible influences of temporal factors in androgenic responsiveness of urogenital tissue recombinants from wild-type and androgen-insensitive (Tfm) mice.** *J Exp Zool*, v. 205, p. 181–194, 1978.
- CUNHA, G. R. **Mesenchymal–epithelial interactions: Past, present, and future.** *Differentiation*, v. 76, p. 578–586, 2008.
- DISCHER, D. E., JANMEY, P., WANG, Y. L. **Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate.** *Science*, v. 310, p. 1139–1143, 2005.
- FERRER, F. A., MILLER, L. J., ANDRAWIS, R. I., et al. **Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human prostate cancer: In situ and in vitro expression of VEGF by human prostate cancer cells.** *J Urol*, v. 157, p. 2329–2333, 1997.
- FORNARO, M., PLESCIA, J., CHHEANG, S. Et al. **Fibronectin protects prostate cancer cells from tumor necrosis factor- α -induced apoptosis via the AK.** *J Biol Chem*, v. 278, n. 50, p. 50402–50411, 2003.
- GE, R., WANG, Z., CHENG, L. **Tumor microenvironment heterogeneity an important mediator of prostate cancer progression and therapeutic resistance.** *npj Precis Onc*. v. 6, p. 31, 2022.
- GHATAK, S., HASCALL, V. C., MAEKWALD, R. R., et al. **Stromal hyaluronan interaction with epithelial CD44 variants promotes prostate cancer invasiveness by augmenting expression and function of hepatocyte growth factor and androgen receptor.** *J Biol Chem*, v. 285, p. 19821–19832, 2010.
- GIRI, D., ROPIQUET, F., ITTMANN, M. **Alterations in Expression of Basic Fibroblast Growth Factor (FGF) 2 and Its Receptor FGFR-1 in Human Prostate Cancer.** *Clin Cancer Res*, v. 5, n. 5, p. 1063–1071, 1999.
- HEHLGANS, S., HAASE, M., CORDES, N. **Signalling via integrins: Implications for cell survival and anticancer strategies.** *Biochim Biophys Acta*, v. 1775, p. 163–180, 2007.
- HENKE, E., NANDIGAMA, R., ERGÜN, S. **Extracellular Matrix in the Tumor Microenvironment and Its Impact on Cancer Therapy.** *Front Mol Biosci*. v. 6, p. 160, 2020.
- HUMPHREY, P. A., **Diagnosis of adenocarcinoma in prostate needle biopsy tissue.** *J Clin Pathol*, v. 60, n. 1, p. 35–42, 2007.
- KAMINSKI, A., HAHNE, J. C., HADDOUTI, E., et al. **Tumour-stroma interactions between metastatic prostate cancer cells and fibroblasts.** *Intern J Mol Med*, v. 18, p. 941–950, 2006.
- KNUDSON, W., BISWAS, C., TOOLE, B. P. **Interactions between human tumor cells and fibroblasts stimulate hyaluronate synthesis.** *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, v. 81, p. 6767–6771, 1984.
- KUPERWASSER, C., CHABARRIA, T., WU, M., et al. **Reconstruction of functionally normal and malignant human breast tissues in mice.** *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, v.101, n. 14, p. 4966–4971, 2004.

LEE, M., VASIOUKHIN, V. **Cell polarity and cancer—Cell and tissue polarity as a non-canonical tumor suppressor.** *J Cell Sci*, v. 121, p. 1141–1150, 2008.

LI, J., JIA, Z., KONG, J., et al. **Carcinoma-associated fibroblasts lead the invasion of salivary gland adenoid cystic carcinoma cells by creating an invasive track.** *PLoS ONE*, v. 11, n. 3, e0150247, 2016.

LIPPONEN, P., AALTOMAA, S., TAMMI, R., et al. **High stromal hyaluronan level is associated with poor differentiation and metastasis in prostate cancer.** *Eur J Cancer*, v. 37, n. 7, p. 849-856, 2001.

MANALLACK, D. T. **The pKa distribution of drugs: Application to drug discovery.** *Perspect Med Chem*, v. 1, p. 25–38, 2008.

MARCUS, D. M., GOODMAN, M., JANI, A. B., et al. **A comprehensive review of incidence and survival in patients with rare histological variants of prostate cancer in the United States from 1973 to 2008.** *Prostate Cancer Prostatic Dis.* v. 15, p. 283–288, 2012.

MASSAQUÉ, J. **TGF β in Cancer.** *Cell*, v. 134, n. 2, p. 215-230, 2008.

MELEGH, Z., OLTEAN, S. **Targeting Angiogenesis in Prostate Cancer.** *Int J Mol Sci*, v. 20, n. 11, p. 2676, 2019.

NEWMAN, Tim. **What is the prostate gland?** *Medical News Today*, 2023. Disponível em: <<https://www.medicalnewstoday.com/articles/319859>>. Acesso em: 10 de set. de 2024.

OLIVARES, O., MAYERS, J. R., GOUIRAND, V., et al. **Collagen-derived proline promotes pancreatic ductal adenocarcinoma cell survival under nutrient limited conditions.** *Nat Commun*, v. 8, p. 16031, 2017.

ORIMO, A. WEINBERG, R. A. **Stromal fibroblasts in cancer: a novel tumor-promoting cell type.** *Cell Cycle*, v. 5, n. 15, p. 1597-1601, 2006.

PALUMBO A. Jr., FERREIRA, L. B., REIS DE SOUZA P. A. V., et al. **Extracellular matrix secreted by reactive stroma is a main inducer of pro-tumorigenic features on LNCaP prostate cancer cells.** *Cancer Lett* v. 321, p. 55–64, 2012.

PARKER, C., MILOSEVIC, M., SWEET, J., et al. **Polarographic electrode study of tumor oxygenation in clinically localized prostate cancer.** *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, v. 58, p. 750–757, 2004.

PROSTATE cancer statistics. *World Cancer Research Fund Organization*. Disponível em: <<https://www.wcrf.org/cancer-trends/prostate-cancer-statistics/>>. Acesso em: 9 de set. de 2024.

PROVENZANO, P. P., CUEVAS, C., CHANG, A. E., et al. **Enzymatic targeting of the stroma ablates physical barriers to treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma.** *Cancer Cell*, v 21, p. 418–429, 2012.

RAWLA, P. **Epidemiology of Prostate Cancer.** *World J Oncol*. v. 10, n. 2, p. 63-89, 2019.

RUSSO, G., MISCHI, M. SCHEEPENS, W., et al. **Angiogenesis in prostate cancer: Onset, progression and imaging.** *BJU Int* v. 110, p. 794–808, 2012.

SCHÄFER, M., WERNER, S. **Cancer as an overhealing wound: an old hypothesis revisited.** *Nat Rev Mol Cell Biol*, v. 9, p. 628–638, 2008.

SOUSA, C., M., BIANCUR, D. E., WANG, X., et al. **Pancreatic stellate cells support tumour metabolism through autophagic alanine secretion.** *Nature*, v. 536, p. 479–483, 2016.

SHEN, T., LI, Y., WANG, D., et al. **YAP1-TEAD1 mediates the perineural invasion of prostate cancer cells induced by cancer-associated fibroblasts.** *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, v. 1868, n. 12, p. 166540.

TLSTY, T. D. **Stromal cells can contribute oncogenic signals.** *Semin Cancer Biol*. v. 11, n. 2, p. 97-104, 2001.

TRAPANI, J. A. **The dual adverse effects of TGF- β secretion on tumor progression.** *Cancer Cell*, v. 8, n. 5, p. 349-350, 2005.

TOIVANEN, R., SHEN M. M. **Prostate organogenesis: tissue induction, hormonal regulation and cell type specification.** *Development*, v. 144, n. 8, p. 1382-1398, 2017.

TUXHORN, J. A., AYALA, G. E., SMITH, M. J., et al. **Reactive Stroma in Human Prostate Cancer: Induction of Myofibroblast Phenotype and Extracellular Matrix Remodeling.** *Clin Cancer Res*, v. 8, n. 9, p. 2912–2923, 2002.

VAN MOORSELAAR, R. J., VOEST, E. E. **Angiogenesis in prostate cancer: its role in disease progression and possible therapeutic approaches.** *Mol Cell Endocrinol*. v. 197, n. 1-2, p. 239-250, 2002.

XING F., SAIDOU, J., WATABE, K. **Cancer associated fibroblasts (CAFs) in tumor microenvironment.** *Front Biosci*, v. 15, p. 166–179, 2010. DOI 10.2741/3613.

YARDEN, Y. **The EGFR family and its ligands in human cancer. signaling mechanisms and therapeutic opportunities.** *Eur J Cancer*, v. 37, n. 4, p. 3-8, 2001.

YOUSEF, G. M., DIAMANDIS E. P. **The new human tissue kallikrein gene family: Structure, function, and association to disease.** *Endocr Rev*, v. 22, p. 184-204, 2001.

EXTRATOS E FRAÇÕES FUNCIONAIS DE STEVIA REBAUDIANA: IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS, AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIDIABÉTICA E ANTILIPÍDICA

Data de submissão: 06/08/2024

Data de aceite: 01/10/2024

Milena Kazue Enokida

Biochemistry Department, State University of Maringá (UEM),
Maringá – Paraná, Brazil
<https://orcid.org/0009-0002-0229-5642>

Cynthia Letícia Serra Cabeça

Postgraduate Program in Biochemistry,
Biochemistry Department, Biological Sciences Center, State University of Maringá (UEM)
Biochemistry Department, State University of Maringá (UEM), Maringá – Paraná, Brazil
<https://orcid.org/0000-0002-9303-8643>

Natani Caroline Nogueira

Postgraduate Program in Biochemistry,
Biochemistry Department, Biological Sciences Center, State University of Maringá (UEM)
Biochemistry Department, State University of Maringá (UEM), Maringá – Paraná, Brazil
<https://orcid.org/0009-0008-2248-7979>

Paulo Leonardo Marotti Siciliano

Postgraduate Program in Biochemistry,
Biochemistry Department, Biological Sciences Center, State University of Maringá (UEM)
Biochemistry Department, State University of Maringá (UEM), Maringá – Paraná, Brazil
<https://orcid.org/0000-0003-0441-350X>

Paula Gimenez Milani Fernandes

Postgraduate Program in Biochemistry,
Biochemistry Department, Biological Sciences Center, State University of Maringá (UEM)
Biochemistry Department, State University of Maringá (UEM), Maringá – Paraná, Brazil
<https://orcid.org/0000-0003-0851-6872>

RESUMO: As folhas e caules de *Stevia rebaudiana* são muito procurados para a produção de adoçantes, pois fornecem edulcorantes naturais e que podem auxiliar no controle de síndromes metabólicas como o diabetes mellitus. O crescente número de pessoas com comorbidades como diabetes e a obesidade fez com que a busca por alimentos e bebidas com baixos teores de açúcar e gordura também cresça. Pesquisadores vêm demonstrando que a planta estévia possui compostos bioativos, além dos glicosídeos com poder adoçante, que podem apresentar propriedades e efeitos adjuvantes nestas e em outras doenças, e que muitas vezes são perdidos conforme o processo de purificação, ou são considerados resíduos de processo. Outro subproduto desta planta que merece destaque são seus caules,

estes representam cerca de 30% de sua biomassa total, e são considerados um desafio para a indústria de adoçantes, se moídos junto com as folhas ou se descartados, representam custos adicionais, e se reaproveitados não estão inseridos na alimentação humana. Dessa forma, este capítulo revisou e reuniu dados publicados e dados experimentais de extratos e frações de estévia, com potencial bioativo para serem utilizados como possíveis adjuvantes no tratamento de diabetes e de obesidade. Esses extratos e frações são geralmente subprodutos ou resíduos e desta forma este trabalho pode acrescentar à literatura resultados importantes que podem contribuir para o desenvolvimento e a consolidação da cadeia produtiva de Stevia de forma sustentável e ainda contribuir para as áreas da saúde, farmacêutica e de alimentos.

PALAVRAS-CHAVE: Compostos fenólicos, UHPLC-MS/MS, amilase, lipase, extratos de estévia.

ABSTRACT: The leaves and stems of *Stevia rebaudiana* are highly sought after for the production of sweeteners, as they provide natural sweeteners that can help control metabolic syndromes such as diabetes mellitus. The growing number of people with comorbidities such as diabetes and obesity has also led to a growing demand for foods and beverages with low sugar and fat content. Researchers have been demonstrating that the stevia plant has bioactive compounds, in addition to glycosides with sweetening power, which can have adjuvant properties and effects in these and other diseases, and which are often lost during the purification process, or are considered processing waste. Another byproduct of this plant that deserves attention is its stems, which represent approximately 30% of its total biomass and are considered a challenge for the sweetener industry. If ground together with the leaves or discarded, they represent additional costs, and if reused, they are not included in the human diet. Thus, this chapter reviewed and gathered published data and experimental data on stevia extracts and fractions, with bioactive potential to be used as possible adjuvants in the treatment of diabetes and obesity. These extracts and fractions are generally by-products or residues and thus this work can add important results to the literature that can contribute to the development and consolidation of the stevia production chain in a sustainable way and also contribute to the health, pharmaceutical and food sectors.

KEYWORDS: Phenolic compounds, UHPLC-MS/MS, amylase, lipase, stevia extracts.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

ABTS⁺ - Cation 2,2-Azino-Bis(2-Ethylbenzeno-thiazoline-6-Sulfonic Acid) Diammonium Salt

ABTS - 2,2-Azino-Bis(2-Ethylbenzeno-thiazoline-6-Sulfonic Acid) Diammonium Salt

DPPH - 2,2-Difenil-1-Picril-Hidrazil

EEF - Extrato Etanólico a partir das Folhas

EHC - Extrato Hidroetanólico a partir dos Caules

EHF - Extrato Hidroetanólico a partir das Folhas

EMC - Extrato Metanólico a partir dos Caules

EMF - Extrato Metanólico a partir das Folhas

FAE ETF - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Etanólico das Folhas

FAE METC - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico do Caule

FAE METF - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico das Folhas

FAS - Fração Antioxidante de Stévia

HPLC - High Performance Liquid Chromatography

LC - Cromatografia líquida

Mn(VII) - Permanganato de potássio

NA - Não analisado

ND - Não detectado, inferior a 0,0001%

UHPLC-HRMS - Ultra-High Performance Liquid Chromatography - High Resolution Mass Spectrometry

TRIS-HCL - Tris(hidroximetil)aminometano-Ácido Clorídrico

1 | INTRODUÇÃO

A planta estévia que tem como nome científico *Stevia rebaudiana* Bertoni é uma arbuscula da família *Asteraceae* nativa do nordeste paraguaio na América do Sul, e é muito conhecida pelos povos indígenas que a chamam de ka'a he'e ("erva doce"). Estas plantas podem atingir até 90 cm de altura com folhas que medem de 3 a 5 cm de comprimento e 1 a 1,5 cm de largura; suas flores são brancas com as pétalas agrupadas em racemos terminais ou axilares (Magalhães et al., 2000). É muito conhecida pelos seus adoçantes, os glicosídeos de esteviol extraídos da folhagem da planta que possuem um poder adoçante de até 450 vezes maior que o poder do açúcar comum, a sacarose. O Núcleo de Estudos em Produtos Naturais da Universidade Estadual de Maringá, o NEPRON, produziu uma variante conhecida como Stevia UEM-13 que contém como glicosídeo majoritário o rebaudiosídeo A (Ciotta et al., 2022; Milani et al., 2017).

As plantas possuem uma enorme capacidade de produzir e acumular metabólitos secundários para que realizem todas as suas funções fisiológicas. Os metabólitos secundários representam uma grande estratégia adaptativa das plantas desenvolvida para interação com o meio ambiente e para garantir a sobrevivência, especialmente em condições adversas. Esses compostos são uma expressão da complexidade bioquímica das plantas, sendo produzidos com os propósitos de dissuadir animais, proteção contra microrganismos patogênicos e atrair polinizadores (Pacífico et al., 2019; Durnic e Blache, 2012). Atualmente tem havido elevado interesse em explorar as propriedades bioativas desses metabólitos secundários, visando não apenas a prevenção de doenças, mas também seus potenciais efeitos farmacológicos e alimentícios, tornando-se aditivos alimentares (Durnic e Blache, 2012).

No Brasil, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2024), um aditivo alimentar é qualquer substância adicionada com intenção de alterar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais dos alimentos sem a finalidade de nutrir, podem ser adicionados durante seu processamento até chegar ao consumidor final.

Muitas doenças crônicas como diabetes, obesidade e muitas outras patologias podem ter seus sintomas associados com excesso de radicais livres no organismo (Sies, 2015). Esse excesso de espécies reativas de oxigênio, podem oxidar biomoléculas como

proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos. Um mecanismo de defesa contra essas substâncias são os antioxidantes. Essas substâncias e mecanismos são usados para controlar e prevenir o dano oxidativo molecular desequilibrado por essas comorbidades. Além das patologias, milhares de fatores internos e externos no organismo, como processos metabólicos, estilo de vida, consumo de alimentos ricos em oxidantes, ou que favorecem processos oxidativos precisam ser controlados ou minimizados pelos antioxidantes que podem melhorar o desequilíbrio do organismo. Nesse sentido, alimentos dietéticos, ricos em compostos bioativos, são uma importante fonte de vários metabólitos antioxidantes (Rammohan et al., 2023).

Diabetes mellitus (DM) é uma enfermidade causada pela falta ou má absorção de um hormônio, a insulina, principal hormônio que regula o nível glicêmico no sangue e garante a energia para o organismo. A falta de insulina ou sua má absorção pode causar aumento da glicemia. Altas taxas podem ainda levar a complicações no coração, nas artérias, nos olhos, rins e nos nervos e em casos mais extremos, a morte. De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes mais de 13 milhões de pessoas vivem com a doença, representando 6,9% da população nacional (ANATEL, 2021).

Outra doença crônica que pode ser consequência de uma alimentação desequilibrada é a obesidade que, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), é causada pelo excesso de gordura corporal que pode gerar prejuízos à saúde, afetando, em diferentes proporções, pessoas de todas as idades e grupos sociais. No mundo, cerca de 650 milhões de pessoas em todo o mundo são afetados pela obesidade. Uma estratégia importante para controlar e reduzir esta doença é o consumo de alimentos saudáveis ou que sejam fonte de compostos bioativos (Ministério da Saúde, 2022).

As folhas de estévia são frequentemente utilizadas como matéria-prima para obtenção de diversos extratos, tanto para fins comerciais quanto de pesquisa. A maioria dos estudos sobre *Stevia rebaudiana* concentra-se no fracionamento dos extratos obtidos dessa folhagem. No processamento de extração, o principal objetivo é obter a maior taxa de recuperação de adoçante, utilizando a menor relação solvente/folha de estévia possível (Koubaa et al., 2015). O pré-tratamento com solventes apolares tem sido utilizado para obter extratos de melhor qualidade sensorial e facilitar as etapas de purificação empregando processos de separação por membranas (Ciotta et al., 2022). Formigoni et al. (2018) realizaram o pré-tratamento etanólico e caracterizam o extrato etanólico por cromatografia acoplada à espectrometria de massas, determinando a presença de várias classes de substância, dentre eles fenólicos e esterebinas importantes. Os resultados mostraram que apesar de ser considerado um subproduto do processamento e purificação dos adoçantes de estévia, este extrato apresenta importantes compostos com potencial bioativo, com potencial antioxidante e que precisa ser estudado como fonte importante de adjuvantes no tratamento de comorbidades como DM e obesidade.

O extrato etanólico obtido a partir do pré-tratamento pode ser fracionado por diferentes

metodologias e os resultados podem gerar compostos diferentes com rendimentos distintos. Assim a busca por metodologias eficientes e inovadoras torna-se muito importante. Dacome et al., 2005 obteve importantes resultados com Stevia, isolando os compostos de interesse, glicosídeos de esteviol, por meio de fracionamento cromatográfico com hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol. Moreira et al., 2008 também avaliou o potencial bioativo de extratos metanólicos e etanólicos fracionados de citronela. Nosso grupo de pesquisa obteve uma fração rica em compostos fenólicos a partir do fracionamento do extrato etanólico do pré-tratamento de folhas de Stevia UEM-13, de acordo com a metodologia desenvolvida por Milani et al. (2017a). Alguns estudos também apontam a obtenção de frações de acetato de etila em outras plantas que apresentam atividade antioxidante. Como mostrado por Saravanakumar et al., 2021, que obtiveram a fração a partir do extrato metanólico de *Stachys riederivar japonica* (Miq.) seguindo o fracionamento com hexano e logo depois acetato de etila. Enquanto Tijani et al., 2020 obtiveram uma fração a partir do extrato aquoso das sementes de *Daucuscarota L.* e posteriormente fracionado com acetato de etila por 3 vezes, produto que também demonstrou compostos com atividade antioxidante. Nota-se que em variados materiais vegetais o solvente acetato de etila, posteriormente a solventes como hexano e clorofórmio, é capaz de promover a obtenção de produtos contendo compostos antioxidantes.

Milani et al. (2017) e Cabeça et al. (2023) obtiveram uma fração antioxidante de Stevia (FAS) por meio do fracionamento do extrato metanólico de folhas de *Stevia rebaudiana*. FAS, com elevado teor de polifenóis, apresentou alto potencial antidiabético e antioxidante *in vitro* e *in vivo* e restaurou parte da função pancreática de animais diabéticos, modulando a secreção de insulina, principalmente quando a concentração plasmática de glicose nesses animais foi maior (Milani et al., 2017b; Piovan et al., 2018; Milani et al., 2020). Encontramos melhores resultados quando adicionamos o FAS a um suplemento de proteína de soro de leite conhecido como whey protein, um isolado de proteína de soro de leite (WPI).

A maioria dos estudos para a obtenção de compostos bioativos e adoçantes se concentram nas folhas de estêvia, há escassos relatos de estudos sobre essa matéria prima. Os caules de estêvia correspondem a aproximadamente 30% da biomassa total da planta sendo um componente significativo de biomassa e contém cerca de 3% de glicosídeos de esteviol (Atteh et al., 2011; Nogueira et al., 2024). Eles geralmente são moídos juntamente com as folhas, o que é ruim para a obtenção e purificação dos adoçantes. Quando são separados das folhas tornam-se resíduos e costumam ser utilizados como complemento na alimentação animal (Atteh et al., 2011). Entretanto Yu et al., (2017) e Nogueira et al., 2024 extraíram e isolaram compostos antioxidantes dos caules, de extratos aquosos e alcoólicos de caules, respectivamente, e o potencial antioxidante desses extratos foi significativamente maior do que de extratos das folhas. Dessa forma, torna-se uma importante tarefa avaliar extratos e frações, ainda não estudados a partir de caules de estêvia, com o objetivo de

propor um destino adequado a este subproduto.

Pelo exposto acima, o NEPRON vem pesquisando a obtenção de extratos e frações funcionais, ricas em compostos bioativos, na maioria remanescentes de etapas do processo de obtenção dos adoçantes ou provenientes de resíduos deste processo, a fim de contribuir para o desenvolvimento sustentável da cadeia produtiva e industrial de estévia, agregando valor e ainda fornecendo opções para o reaproveitamento de subprodutos e trazendo benefícios à saúde. O objetivo deste capítulo foi realizar a compilação de dados experimentais de estudos já publicados ou inéditos do Núcleo de Estudos em Produtos Naturais (NEPRON), da Universidade Estadual de Maringá, referência há mais de 20 anos em estudos de *Stevia*. Resultados e discussões sobre a obtenção desses extratos e frações, sobre seus constituintes, avaliação de seu potencial antioxidante, antihiperlipidêmico e antihiperlipídico serão descritos, comparados com a literatura, objetivando contribuir para encontrar um extrato ou fração mais promissor para futuramente atuar como adjuvante no tratamento de doenças como diabetes e obesidade.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Os arbusculos de *Stevia rebaudiana* da variedade Stevia UEM-13 foram cultivados em um canteiro do Núcleo de Estudos de Produtos Naturais, NEPRON, localizado na Universidade Estadual de Maringá. A poda foi feita quando houve o máximo de crescimento vegetativo, que foi em aproximadamente 50 a 60 dias após a última colheita. Os ramos coletados foram secos em um forno de circulação de ar a 60 °C até que o teor de umidade atingiu níveis inferiores a 10 %. Em seguida os caules e as folhas foram separados manualmente, para então serem moídos em um moedor de lâminas de aço inoxidável com abertura de peneira de 2 mm, sendo posteriormente acondicionados para o processo de extração e análise subsequente.

2.2 Processo de extração

A **tabela 1** traz um resumo dos processos de extração de folhas ou caules de *Stevia rebaudiana*, para a obtenção de extratos e frações.

Extrato/ Fração	Resumo do processo de extração	Referência
EEF	Folhas de <i>Stevia</i> previamente secas e moídas (300g) foram embebidas com etanol absoluto em uma coluna (temperatura ambiente). Este mesmo solvente eluiu através da coluna e a coleta de 14 frações de 300 ml foi realizada. Essas frações foram reunidas perfazendo o extrato etanólico, que foi seco a 50 °C em rotaevaporador.	Formigoni et al., 2018
EHF	Na obtenção do extrato hidroetanólico, folhas de <i>Stevia</i> secas e moídas (100 g), foram submetidas à extração em aparato <i>soxhlet</i> usando etanol e água até a exaustão (700 mL), na proporção 70:30 (v/v). O processo foi repetido. Após esse procedimento o extrato obtido foi seco em rotaevaporador a 50 °C	DNP*
EMF	Folhas secas (100 g) de <i>Stevia rebaudiana</i> , previamente moídas e secas, foram adicionadas de 600 ml de metanol P.A. e acondicionadas ao sistema usando o aparelho <i>soxhlet</i> . O extrato obtido foi filtrado e evaporado no rotaevaporador (marca Buchi), a temperatura de 50°C e à vácuo.	Milani et al., 2017a
FAE ETF	Esta fração foi obtida a partir do extrato etanólico, um subproduto do pré-tratamento das folhas de <i>Stevia</i> UEM-13 (Formigoni et al., 2018). O fracionamento foi realizado de acordo com Milani et al., 2017a.	Cabeça et al., 2024
FAE METF	O extrato metanólico (EMF) seco foi hidratado e posteriormente adicionado de hexano. A fração hexânica foi retirada e a fração aquosa remanescente foi adicionada de clorofórmio. Esta última foi separada e a fração aquosa restante extraída acetato de etila. A mistura foi separada em funil de separação e a fração obtida em acetato de etila (orgânico) foi seca no rotaevaporador (marca Buchi), à temperatura de 50°C e a vácuo.	Milani et al., 2017a
EMC	Caules de <i>Stevia</i> UEM-13 secos e moídos (100g), foram submetidos à extração em aparato <i>soxhlet</i> usando metanol (700 mL) até a exaustão (8 horas). Após esse procedimento o extrato metanólico foi seco em rotaevaporador a 50 °C.	Nogueira et al., 2024
EHC	Na obtenção do extrato hidroetanólico, caules de <i>Stevia</i> secos e moídos (100 g), foram extraídos em aparato <i>soxhlet</i> usando etanol e água até a exaustão (700 mL), na proporção 70:30 (v/v). Após o extrato obtido foi seco em rotaevaporador a 50 °C	Nogueira et al., 2024
FAE METC	O pó obtido no EMC foi fracionado com diferentes solventes (hexano, clorofórmio e acetato de etila) de polaridade crescente para obtenção das frações polifenólicas (Milani et al 2017a). A fração em acetato de etila foi seca em rotaevaporador e foi analisada.	Nogueira et al., 2024

DNP* - dados inéditos, publicados neste capítulo; **EEF** - Extrato Etanólico a partir das Folhas; **EHC** - Extrato Hidroetanólico a partir dos Caules; **EHF** - Extrato Hidroetanólico a partir das Folhas; **EMC** - Extrato Metanólico a partir dos Caules; **EMF** - Extrato Metanólico a partir das Folhas; **FAE ETF** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Etanólico das Folhas; **FAE METC** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico do Caule; **FAE METF** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico das Folhas; **NA** - Não analisado; **ND** - Não detectado, inferior a 0,0001%.

Tabela 1. Resumo dos processos de obtenção dos extratos e frações funcionais de *Stevia rebaudiana*

2.3 Teor de glicosídeos

Para quantificação de esteviosídeo, rebaudiosídeo A e C as amostras secas foram ressuspendidas em 10 mL da fase móvel composta por água deionizada e acetonitrila (J. T. Baker grau HPLC, concentração 99,9%) na proporção 1:4 (v/v). A solução foi agitada em

vortex e colocada em ultrassom por 5 minutos. Foram realizadas 5 filtrações e o filtrado final foi analisado em cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), marca Gilson, modelo 307, acoplado a detector IR, coluna NH₂, vazão de 0,5 mL/min. O tempo de análise foi de 30 minutos (DACOME, et al. 2005).

2.4 Quantificação de compostos fenólicos

Segundo a metodologia de Ahmad et al, (2018), foram utilizados 150 uL do reagente Folin-Ciocalteu a 0,25 N, 150 uL de cada amostra, 2,4 mL de água deionizada, a solução foi agitada em vortex por 3 minutos, adicionamos 300 uL de Na₂CO₃. A solução foi incubada durante 2 horas em temperatura ambiente em ausência de luz. Foi medido em 725,0 nm no espectrofotômetro e o resultado foi expresso em ug de equivalente de ácido gálico por mg de amostra utilizando curva padrão de ácido gálico.

2.5 Quantificação de flavonoides

A quantificação de flavonoides para os extratos e frações foi realizada segundo Ruiz-Ruiz et al, (2015) que indica que deveria primeiro ser preparados os reagentes cloreto de alumínio a 10% e acetato de potássio 1,0 M. Em tubos de ensaios foram preparados 0,5 mL de amostra, 1,5 mL de metanol, 0,1 mL de reagente cloreto de alumínio e 0,1 mL de acetato de potássio preparados previamente, e 2,8 mL de água destilada, a solução foi homogeneizada em vortex, deixando em repouso longe da luz em temperatura ambiente por 30 minutos, após passado o tempo a solução foi lida em espectrofotômetro sob absorvância de 415,0 nm expressando os dados obtidos em equivalentes de quercetina usando curva padrão.

2.6 Atividade Antioxidante - método ABTS+ (radical 2,2-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico))

A determinação da atividade antioxidante pela captura do radical ABTS foi realizada seguindo a metodologia descrita pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) (2007). O preparo do radical foi realizado com o preparo do reagente persulfato de potássio para a preparação do radical ABTS, adicionando 1,76 mL do persulfato a solução com ABTS, aguardamos 16 horas no escuro à temperatura ambiente. Após as 16 horas, diluímos 1 mL em etanol absoluto até atingir uma absorvância de 0,70 nm a 734 nm. Com o radical finalizado foi adicionado 30 uL de amostra e 3,0 do radical, essa solução após agitada em um agitador de tubos. Aguardamos mais 6 minutos no escuro em temperatura ambiente, foi lido em absorvância de 731,0 nm foi expresso em equivalentes de ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico, o Trolox como curva padrão

previamente feitos.

2.7 Atividade Antioxidante - método DPPH

A determinação de atividade antioxidante pelo método de DPPH de acordo com o método de Ahmad et al., (2018). Foi adicionado em um tubo de ensaio 200 uL de DPPH 0,05%, onde também foi adicionado 80 uL de amostra e 3,72 mL de metanol, foi incubado na ausência de luz durante 30 minutos à temperatura ambiente. A leitura por espectrômetro Cary, 50-Scan UV-Vis em 517,0 nm sendo que o composto de referência utilizado foi o Trolox de acordo com a curva padrão. Os dados também foram calculados em porcentagem de inibição.

$$\% \text{Inibição} = (\text{ABS Controle} - \text{ABS Amostra}) / \text{ABS Controle} * 100 \quad \text{Equação 1}$$

2.8 Avaliação da capacidade de inibição da enzima alfa-amilase

Segundo Apostolidis et al (2007) é avaliado a inibição da enzima da alfa-amilase com diferentes concentrações de amido, assim como diferentes concentrações de amostra e do inibidor padrão, acarbose, colocaremos 500 uL da solução de amido, 250 uL amostra, será incubado por 5 minutos a 37 °C, pipetamos 250 uL da enzima e incubamos por mais 10 minutos, adicionamos 250 uL de DNS e levamos a fervura por 5 minutos, adicionamos 2,5 mL de água destilada, e ao esfriar lemos em um espectrofotômetro na absorbância de 540 nm, e utilizamos a curva de maltose para expressar os dados.

$$\% \text{Inibição} = (\text{ABS controle} - \text{ABS amostra}) / \text{ABS controle} \times 100$$

2.9 Avaliação da capacidade de inibição da enzima alfa-glucosidase

Seguindo a metodologia de Natsir et al (2018) com adaptações de Shin et al (2003) e Subramanian et al (2008), foi adicionado 200 uL de enzima, 200 uL de amostra homogeneizado em vortex, pré-incubar a 37 °C por 5 minutos, pipetamos 500 uL de substrato da enzima pNPG, incubamos por mais 20 minutos, foi pipetado 8 mL de Na₂CO₃, homogeneizar e ler em um espectrofotômetro a 400 nm. Os dados foram expressos de acordo com a **Equação 1**.

2.10 Avaliação da capacidade de inibição da enzima lipase

A avaliação da capacidade de inibição dos extratos e frações seguindo a metodologia de Oliveira et al (2015), onde 20 mg do substrato o p-nitrofenil-palmitato foi suspenso em 10 mL de isopropanol até sua dissolução completa, a enzima lipase foi dissolvida em tampão Tris-HCl em pH 8 que foi centrifugada e usado o sobrenadante como fonte enzimática, Foi usado 100 uL de tampão Tris HCl (tris(hidroximetil)aminometano-ácido

clorídrico), 530 uL de substrato, após pré aquecimento da mistura de reação a 37 °C, 100 uL da solução enzimática foi colocada na mistura de reação aguardamos 20 minutos na mesma temperatura, para então a reação ser parada em fervura, resfriada a solução é colocado em uma centrifugação a 1500 rpm por 5 minutos, lemos o sobrenadante em espectrofotômetro a 410 nm.

2.11 Identificação de compostos bioativos

Os extratos foram submetidos a análise por *Ultra-high-performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry UHPLC-HRMS* para identificação de compostos fenólicos e flavonoides. AS amostras foram introduzidas por injetor automático em um sistema cromatográfico UHPLC (Shimadzu, modelo Nexera X2), equipado com um sistema binário de bombas (A e B). O UHPLC estava acoplado a um espectrômetro de massas de alta resolução (Bruker, modelo Impact II) com fonte de ionização por Electrospray e analisadores Quadrupolo (Q) e Tempo de voo (TOF). O espectrômetro de massas (QTOF) foi calibrado com uma solução de formiato de sódio a 1 mM, e os espectros de MS serão adquiridos em modo positivo e negativo, com espectros de MS/MS obtidos no modo scan para íons mais intensos na faixa de 50 a 1300 m/z. Para a separação das moléculas nas amostras, foi utilizada uma coluna cromatográfica do tipo C18. Foram injetados 3 uL de cada amostra, com a temperatura do forno cromatográfico ajustada para 40 °C. A fase móvel ligada à bomba A do UHPLC continha água ultrapura com 0,1% de ácido fórmico, enquanto a fase móvel ligada à bomba B continha metanol (MeOH) com 0,1% de ácido fórmico, em um fluxo contínuo de 0,250 mL/minutos em eluição por gradiente. Na análise em modo negativo, apenas a fase móvel A continha ácido fórmico. No início da corrida cromatográfica até 2 minutos a fase móvel B estava em 5%, de 2 a 5 minutos, a 30% de B de 5 a 10 minutos, a 70% de B de 10 a 20 minutos a 90% de B de 20 a 30 minutos a 95% de B e 30 a 35 minutos haverá a reconstituição da coluna com 5% da fase B. O cromatograma iônico e os espectros MS e MS/MS obtidos foram visualizados com o software DataAnalysis 4.1, comparados com a literatura e analisados por bancos de dados de espectrometria de massa de acesso aberto, como Massbank e Human Metabolome Database.

2.12 Análise estatística

Todos os testes foram realizados em triplicata, os resultados foram expressos como média e erro padrão da média e submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo seguido pelo teste de Tukey com significância estabelecidas em $p < 0,05$.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teor de glicosídeos

Glicosídeos de esteviol são os ditos adoçantes de estévia. São compostos metabólitos secundários, e são um complexo que consiste em duas unidades, uma de aglicona, também conhecida como genina que é lipofílica, podendo ter diversos grupos funcionais e a glicona que é hidrofílica composta por um ou mais componentes de açúcar, sendo mais comum a D-glicose. Com a glicose ancorada os glicosídeos de esteviol tem sabor doce. O número de glicoses e a posição determinam diferentes propriedades dos glicosídeos. O rebaudiosídeo A é reconhecido mundialmente como o glicosídeo de quantidades importantes e com perfil sensorial superior. No entanto pesquisas recentes vêm procurando destacar outros rebaudiosídeos como de melhor perfil, como o rebaudiosídeo M. Nos glicosídeos ainda, podem estar presentes diversos grupos como fenólicos, flavonoides, cumarinas, álcoois, cromonas, antraquinonas, cardíacos, cianogênicos, glicosinolatos, saponínicos e aldeídos. Para as análises de glicosídeos presentes nas amostras, quantificamos os principais, em quantidades, glicosídeos (rebaudiosídeo A, C e esteviosídeo). Os dados estão expressos na **Tabela 2**.

Os extratos metanólicos e etanólicos das folhas apresentaram maior teor de glicosídeos em comparação com os extratos do caule, que ainda assim apresentou maior teor que as frações. Os teores desses extratos provenientes das folhas ficaram em torno de 30%, o que pode demonstrar que em termos de extração de glicosídeos os dois solventes foram muito similares. Dessa forma utilizar o etanol pode ser mais vantajoso por ser um solvente considerado verde, além disso reutilizar este subproduto merece ser estudado pensando na sustentabilidade do processo. O fracionamento apresentou uma perda no teor de glicosídeos em comparação aos extratos de mesma origem. Tal fato é resultante da solubilidade nos solventes orgânicos aos quais foram expostos e fracionados (IUPAC Goldbook, 2016; Vollhardt & Schore, 2007; Bruice, 2006). EHF e EMC obtiveram valores maiores em comparação com os extratos aquosos de caules e folhas e mostraram que o processo de extração em água possibilita maior rendimento de extração de glicosídeos (Dacome et al., 2005).

Extrato/Fração	% de Glicosídeos totais
EEF	28,5
EHF	NA
EMF	30,1
FAE ETF	ND
FAE METF	0,05
EMC	8,66
EHC	4,12
FAE METC	ND

EEF - Extrato Etanólico a partir das Folhas; **EHC** - Extrato Hidroetanólico a partir dos Caules; **EHF** - Extrato Hidroetanólico a partir das Folhas; **EMC** - Extrato Metanólico a partir dos Caules; **EMF** - Extrato Metanólico a partir das Folhas; **FAE ETF** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Etanólico das Folhas; **FAE METC** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico do Caule; **FAE METF** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico das Folhas; **NA** - Não analisado; **ND** - Não detectado, inferior a 0,0001%.

Tabela 2. Percentagem de Glicosídeos totais por Extrato/Fração

3.2 Quantificação de compostos fenólicos e flavonoides

A concentração de compostos fenólicos e flavonoides está mostrada na **tabela 3**. Compostos fenólicos também chamados de polifenóis são compostos por anéis aromáticos com radicais hidroxilas variando de compostos simples a altamente polimerizados, são facilmente conjugados a monossacarídeos e sua síntese está relacionada com duas vias metabólicas: a rota do ácido chiquímico e a rota do ácido malônico. Os fenólicos estão muito relacionados com a coloração dos alimentos, que ao serem oxidados causam as cores do amadurecimento, além de estar diretamente relacionado com o crescimento das plantas e defesa contra infecções e ferimentos, o que proporciona um impacto importante em sua estabilidade oxidativa. A maioria dos polifenóis antioxidantes estão presentes nos alimentos que consumimos no cotidiano, portanto são considerados antioxidantes dietéticos. Um desses polifenóis, o ácido clorogênico e o ácido cinâmico presentes nas folhas e nos caules respectivamente, estão muito relacionados com as atividades antioxidante, anti-inflamatória, antilipidêmica e antidiabética (Koblitz, 2008; Lemus-Mondaca, et al., 2018; Ling e Kitts, 2016; Gouthamchandra, Sudeep, Venkatesh e Shyam Prasad, 2017; Ong, Hsu e Tan, 2013; Myint, et al., 2020). Flavonoides também conhecidos como heterosídeos, quando existe a presença de açúcar, são o maior grupo de fenólicos naturais que são encontrados em frutas e vegetais. Duas de suas propriedades marcantes são seu sabor amargo e sua baixa solubilidade o que potencializa sua recuperação em solventes polares sendo responsáveis pelos sabores, cores e fragrâncias nas flores e frutos. Como integrantes dos compostos fenólicos demonstram ter características nutracêuticas como antioxidantes, antidiabéticos

e imunomoduladores, suplementos de flavonoides mostraram eficácia de medicamentos em várias doenças neuro inflamatórias, neurodegenerativas, diabetes e infecções (Nagar, Dey, Das, Basu, 2022; Rodriguez, et al., 2021; Mancarz, Prado, Pazzim, 2023). Na tabela a seguir é mostrado que frações provenientes dos extratos obtiveram um resultado melhor em comparação com seus extratos, sendo a fração acetato de etila do extrato metanólicos tanto da folha (FAE METF) quanto do caule (FAE METC) as que apresentaram resultados mais proeminentes. Ainda a fração obtida a partir do extrato metanólico foi testada quanto a sua citotoxicidade, e os resultados mostraram-se negativos até mesmo em concentrações 1000 vezes superiores que as doses administradas nos animais. O extrato hidroetanólico da folha (EHF) obteve melhores resultados pela provável mistura de solventes polares verdes, a água e o etanol, tendo a maior porcentagem de extração de compostos fenólicos e de flavonoides, demonstrando possuir atividade antioxidante importante, aumentando as expectativas de possuírem atividades antidiabéticas e antilipídica.

Extrato/Fração	% Compostos Fenólicos u	% Flavonoides
EEF	10,04	7,71
EHF	56,7	19,5
EMF	10,2	4,15
FAE ETF	45,9	16,51
FAE METF	51,3	17,8
EMC	17,25	6,78
EHC	15,93	5,32
FAE METC	26,29	9,53

EEF - Extrato Etanólico a partir das Folhas; **EHC** - Extrato Hidroetanólico a partir dos Caules; **EHF** - Extrato Hidroetanólico a partir das Folhas; **EMC** - Extrato Metanólico a partir dos Caules; **EMF** - Extrato Metanólico a partir das Folhas; **FAE ETF** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Etanólico das Folhas; **FAE METC** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico do Caule; **FAE METF** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico das Folhas.

Tabela 3. Porcentagem de Compostos Fenólicos e Flavonoides por Extrato/Fração

3.3 Atividade Antioxidante - método DPPH

O radical 2,2-Difenil-1-Picril-Hidrazil DPPH foi um método desenvolvido por Brand-Willians em 1995, onde um radical livre estável é usado para determinar a atividade antioxidante. Esse método, ao longo dos anos foram sofrendo modificações e adaptações por diversos pesquisadores, mas os ensaios são baseados na capacidade dos antioxidantes em eliminar os radicais DPPH. O único elétron do átomo de nitrogênio no DPPH é reduzido à hidrazina retirando um átomo de hidrogênio dos antioxidantes. Sua estabilidade é proveniente do aglomerado estérico no átomo de nitrogênio divalente de primeira ordem e ao efeito “*push-pull*” exercido pelo grupo difenilamino de segunda ordem, um doador de

elétrons e *picryl* um receptor de elétrons. Esse efeito estabiliza consideravelmente sua estrutura canônica. O radical DPPH possui uma cor violeta, estável e intensa. Quando a solução antioxidante é misturada com a solução de DPPH essa cor violeta desaparece resultando na forma reduzida do radical DPPH-H; a solução muda de violeta para amarelo pálido como resultado da redução radical pela transferência de átomos de hidrogênio dos antioxidantes que são doadores de H.

O radical é levemente solúvel em solventes polares, dissolve-se em solventes orgânicos, reage de forma exigente com doadores de hidrogênio em diferentes locais de reação, geralmente atacando o anel fenil. A solução radical DPPH-metanol é muito usada por ser simples e disponível como radicais prontos, muito usado para testes em produtos alimentícios e farmacológicos medindo a absorvância dos radicais que ficam no meio de reação. O oxigênio molecular não reage com o DPPH, apenas na presença de luz, onde torna-se possível verificar uma ligeira interação (Kawai e Shibuya, 2002; Chen et al., 2009; Xie e Schaich, 2014).

O ensaio DPPH, apesar de ser *in vitro*, geralmente reflete resultados *in vivo*, sendo um bom parâmetro para extrapolação. O extrato metanólico teve os melhores resultados entre os extratos, apenas sendo superado pelas frações acetato de etila obtidas a partir do extrato metanólico da folha (FAE METF) e do caule (FAE METC), demonstrando que a fração concentrou os compostos antioxidantes, ou ainda apresentou algum constituinte que estava presente no seu extrato de origem. A **tabela 4** apresenta os resultados deste estudo. FAE METF concentrou quase 100% dos radicais na concentração de apenas 1 miligrama. Quando reduzimos esta concentração pela metade e até mesmo $\frac{1}{4}$ a porcentagem ainda fica acima dos 80% (Cabeça et al., 2023; Siciliano et al., 2024). Esses dados foram referência para conduzir os estudos *in vivo*. A FAE METC também apresentou importante atividade antioxidante (nogueira et al., 2024). Yu et al., 2017 obtiveram um extrato aquoso de caules e folhas de *Stevia* e avaliaram o potencial em inibir a oxidação lipídica em óleo de peixe. O extrato do caule apresentou capacidade superior ao extrato da folha. Ainda não está claro, e totalmente correlacionada a capacidade antioxidante `concentração de compostos fenólicos. Pesquisas mostram que as vezes, mesmo em menor quantidade tal composto já pode pronunciar uma atividade de sequestro superior. Assim, identificar e quantificar esses compostos torna-se uma tarefa importante de pesquisa. Este trabalho apresenta alguns desses compostos identificados (**tabelas 7, 8 e 9**).

Extrato/Fração	% Compostos Fenólicos u
EEF	13
EHF	4
EMF	93
FAE ETF	55
FAE METF	98
EMC	53
EHC	65
FAE METC	90

EEF - Extrato Etanólico a partir das Folhas; **EHC** - Extrato Hidroetanólico a partir dos Caules; **EHF** - Extrato Hidroetanólico a partir das Folhas; **EMC** - Extrato Metanólico a partir dos Caules; **EMF** - Extrato Metanólico a partir das Folhas; **FAE ETF** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Etanólico das Folhas; **FAE METC** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico do Caule; **FAE METF** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico das Folhas.

Tabela 4. Percentagem de inibição pelo método de DPPH por Extrato/Fração

3.4 Atividade Antioxidante - método ABTS⁺

O ensaio 2,2-Azino-Bis(2-Ethylbenzeno-thiazoline-6-Sulfonic Acid) Diammonium Salt, ABTS, é um ensaio para a determinação de antioxidantes totais, onde há o sequestro de radicais livres ABTS⁺. É um ensaio medido como uma redução na presença de doadores de hidrogênio, e é um método de descoloração, sendo muito popular para estimar a capacidade antioxidante de alimentos. A metodologia baseia-se nas reações de um elétron de redução do radical ABTS por compostos antioxidantes presentes nas amostras tanto proteicas como ácidos alimentícios. Quando o ABTS⁺ reage com certos compostos como as proteínas, o radical é reduzido formando um produto de cor, o que pode ser uma evidência de reações de adição de radicais nas proteínas. A interação ABTS com ácidos alimentícios tem como resultado a conversão de cátion radical em seu derivado diamagnético, facilitada pela ligação de hidrogênio com ânions ácidos. O ABTS em si pode acelerar o processo de oxidação de fenóis substituindo-os por permanganato de potássio Mn(VII), esses fenóis substituídos poderiam ser prontamente oxidado pelo cátion radical estável que foi produzido a partir da oxidação do ABTS por Mn(VII). As vias de reação do ensaio de descoloração do ABTS/persulfato de potássio mostram que alguns antioxidantes formam adutos de acoplamento com o ABTS⁺, enquanto outros sofrem oxidação sem acoplamento, apontando reações específicas para diferentes antioxidantes. Os resultados do ensaio ABTS nas amostras apresentadas neste estudo ou foram negativos ou tiveram ação antioxidante reduzida (dados não mostrados). Isto se deve ao fato de que muitas vezes uma amostra tem uma atividade importante para sequestrar determinado radical livre e não tem o mesmo resultado quando mudamos o radical. A diferença na efetividade se dá

por inúmeros fatores, um deles pode ser pelo composto presente e seu mecanismo de ação não terem sido efetivos para aquele radical. Outra observação se dá no ensaio: ensaios *in vitro* não podem ser totalmente extrapolados para os resultados *in vivo*. (Sadowska-Bartosz, Bartosz 2022; Kut, et al., 2022; Ilyasov, Beloborodov, Selivanova e Terekhov, 2020).

3.5 Avaliação atividade Antidiabética

A alfa-amilase é uma enzima que pode ser produzida por diversos organismos. São endo-carboidrases que hidrolisam ligações alfa-1,4, que existem na amilose e na amilopectina aleatoriamente no centro da molécula. Sua ação enzimática ocorre sobre o amido de forma acelerada, visto que elas apresentam maior atividade sobre substratos de alta massa molecular, gerando oligossacarídeos de diferentes tamanhos, chamadas dextrina ou maltodextrinas, com maior tempo de ação são capazes de produzir glicose e maltose. Elas são estabilizadas na presença de íons de cálcio que em si não aumentam a velocidade de reação, mas aumentam sua estabilidade, reduzindo a desnaturação aumentando sua vida útil. Essa enzima é usado em diversas áreas da biotecnologia e indústria como na fermentação de alimentos, indústria de papel, indústria têxtil apesar de existir outras enzimas que possam hidrolisar o amido, a alfa-amilase ainda é considerada a mais importante, pela sua alta demanda, são usados microrganismos para sua produção em alta escala. Nos animais é produzida na saliva e no pâncreas para a digestão do amido nos alimentos. A alfa-glicosidase é outra enzima carboidrase capaz de hidrolisar carboidratos possuem ligações alfa-glicosídicas 1,6, que uma vez rompida o resíduo liberado poderá manter sua conformação sendo ela alfa ou beta. O diabetes mellitus é uma das doenças com risco de morte, sendo as formas mais comuns o tipo 1 e 2. A diferença destes tipos é causada pela incapacidade do pâncreas de produzir insulina e da dificuldade das células em reconhecer a insulina para a captação da glicose respectivamente. A Federação Internacional de Diabetes (IDF) tem como previsão que em 2030 cerca de 643 milhões de pessoas terão diabetes e que até 2045 cerca de 783 milhões.

Pesquisas buscam adjuvantes naturais que possam auxiliar na prevenção e no tratamento do DM. Uma das formas de investigação vem sendo estudada é a inibição de enzimas como alfa-amilase e alfa glicosidase, o que retardaria a quebra de carboidratos pela saliva, intestino, pâncreas e limitaria a excursão de glicose no sangue. Muitos compostos à base de plantas são usados como inibidores enzimáticos para retardar e reduzir a disponibilidade de glicose no sangue pós-prandial (Ogle et al., 2022; Jeevanandam, et al., 2023; Koblitz, 2008). Como podemos constatar pela tabela 5 a seguir, é possível notar que os extratos e frações proveniente da Stevia puderam apresentar inibição dessas enzimas. Dados como estes, de estudos *in vitro*, são predicativos importantes para avançar nos estudos *in silico* e *in vivo*. A FAE METF obteve melhores resultados na inibição de ambas

as enzimas. Esses dados corroboram com os estudos de Singla et al (2019) que mostrou que *Stevia rebaudiana* apresenta alta atividade inibitória da α -amilase, sugerindo potencial para o desenvolvimento de medicamentos terapêuticos para o tratamento do diabetes.

Extrato/Fração [0,1 mg/ml]	% de Inibição de Amilase [4mg/mL]	% de Inibição de Glicosidase [4mg/mL]
EEF	10	90
EHF	8	97*
EMF	19	90
FAE ETF	5	92
FAE METF	40	95
EMC	8	99
EHC	26	99
FAE METC	0	99

EEF - Extrato Etanólico a partir das Folhas; EHC - Extrato Hidroetanólico a partir dos Caules; EHF - Extrato Hidroetanólico a partir das Folhas; EMC - Extrato Metanólico a partir dos Caules; EMF - Extrato Metanólico a partir das Folhas; FAE ETF - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Etanólico das Folhas; FAE METC - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico do Caule; FAE METF - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico das Folhas. *Não foi analisado nas mesmas concentrações que os outros extratos e frações para a análise da avaliação da inibição da glicosidase, esse valor é correspondente a concentração de 0,5 mg/mL.

Tabela 5. Porcentagem de inibição de Amilase e Glicosidase por Extrato/Fração

3.6 Avaliação da atividade Antilipídica

Lipases são enzimas que hidrolisam os triacilgliceróis constituindo a classe das serina hidrolases que não exige nenhum cofator para sua atividade, possuem diversos substratos tendo como produto o glicerol e ácidos graxos livres através da hidrólise de gorduras e óleos. As lipases contribuem para melhor absorção de corantes em produtos têxteis, auxiliam em muitos processos como a fabricação de couro, na remoção de componentes hidrofóbicos na indústria de papel e celulose, também são empregadas nos processos de biorremediação.

A inibição da lipase, principalmente da lipase pancreática vem sendo estudada extensivamente utilizando vários compostos naturais antioxidantes como compostos fenólicos e flavonoides. Os principais mecanismos de inibição envolvem a inibição competitiva com afinidade de ligação moderada, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. Para compostos de *Stevia rebaudiana*, esses testes são recentes. A inibição da lipase como demonstrada na tabela 6, foi destacada pela FAE METC que obteve quase 100% de inibição da lipase o que demonstra que esta fração pode apresentar atividade antilipídica alta assim como a FAE METF que obteve 95% de inibição. Este dado é importante por se tratar do caule, considerado resíduo ou subproduto. Os caules apresentam pouco teor de adoçantes e por isso não são usados na indústria para destinação humana. No entanto os

dados apresentados podem auxiliar e impulsionar o desenvolvimento deste setor.

Extrato/Fração [0,1mg/mL]	% de Inibição de Lipase [1,0mg/mL]
EEF	76
EHF	27
EMF	90
FAE ETF	76
FAE METF	95
EMC	77
EHC	49
FAE METC	99

EEF - Extrato Etanólico a partir das Folhas; **EHC** - Extrato Hidroetanólico a partir dos Caules; **EHF** - Extrato Hidroetanólico a partir das Folhas; **EMC** - Extrato Metanólico a partir dos Caules; **EMF** - Extrato Metanólico a partir das Folhas; **FAE ETF** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Etanólico das Folhas; **FAE METC** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico do Caule; **FAE METF** - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico das Folhas.

Tabela 6. Porcentagem de inibição da Lipase por Extrato/Fração

3.7 Identificação de bioativos

A cromatografia é um método de separação que distribui os componentes de uma mistura entre uma fase estacionária e uma fase móvel por meio de vários métodos, incluindo adsorção, partição, troca iônica e por diversos outros. A cromatografia líquida (LC) é o método mais comum para identificar, medir e separar componentes, essa técnica se desenvolveu para cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) que é um método eficaz, muito utilizado para identificar produtos farmacêuticos em fluidos biológicos. O desenvolvimento da cromatografia líquida de ultra alta eficiência-espectrometria acoplada à espectrometria de massa (UHPLC-MS/MS) foi se necessária pela necessidade de técnicas de separação rápida e ultrarrápida que possuem resolução maior. O UHPLC tem um tempo de análise surpreendentemente curto e usa uma pequena quantidade de solvente e fase móvel, aumenta consideravelmente a eficácia de separação e a resolução da mistura de analitos, usa o tamanho da partícula empacotamento de coluna inferior a microns como seu diferencial dos sistemas HPLC. A ideia fundamental por trás da técnica se baseia na eficiência obtida a partir do tamanho das partículas de empacotamento de colunas diminui. Uma redução do tamanho das partículas inferior a 2 μm resulta em uma melhoria na eficiência que não cai em velocidades lineares ou taxas de fluxos mais altas. Para aumentar a resolução cromatográfica com o maior número de picos, aprimorando os sistemas de separação de LC, usando uma pequena quantidade de materiais para o empacotamento de coluna e redução de tamanho das partículas e a análise se torna mais rápida e sensível (Chawla e Ranjan, 2016; Klimczak e Gliszczynska, 2014; Kumar, Saini, Nair e Shamar, 2012; Chesnut e Salisbury, 2007; Taleuzzaman, et al., 2015; Nogueira et al.,

2024). As tabelas a seguir mostram os compostos identificados nas frações e extratos com maiores teores de compostos fenólicos.

Provável metabólico	Classe	Grupo observado	Adduct	Fórmula química	m/z teórico	m/z experimental	ppm
Ácido 1,3-dicafeoil quinico	Derivados do ácido cinâmico	FAE METC POS	[MH] ⁻	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515,1184	515,1184	0
Ácido 3-cafeoilquinico	Compostos fenólicos Derivados do ácido cinâmico	FAE METC NEG	[MH] ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353,0867	353,0862	-1,416
Naringenina	Flavonoide	FAE METC NEG	[MH] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	271,0601	271,0601	0

FAE METC - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico do Caule.

Tabela 7. Identificação de compostos da fração acetato de etila do extrato metanólico do caule por UHPLC

Provável metabólico	Classe	Grupo observado	Adduct	Fórmula química	m/z teórico	m/z experimental	ppm
Quercetina-3-O-desoxihexosil-(1-2)-petosídeo	Flavonoide	FAE METF	[MH] ⁻	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₅	580,14	579,13	1,20
Kaempferol-3-O-pentosídeo	Flavonoide	FAE METF	[MH] ⁻	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	418,08	417,08	0,71
Quercetina-3-O-desoxihexosídeo	Flavonoide	FAE METF	[MH] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448,1	447,09	0,67
Ácido 1-feruloil-5-cafeoilquinico	Compostos fenólicos	FAE METF	[MH] ⁻	C ₂₆ H ₂₆ O ₁₂	530,14	529,13	-1,51
Ácido clorogênico	Compostos fenólicos	FAE METF	[MH] ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354,09	353,08	0
Quercetina-3-O-deoxi-hexosil-(1-6)-hexosídeo	Flavonoide	FAE METF	[MH] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610,15	609,14	-0,49
Quercetina-3-O-hexosídeo	Flavonoide	FAE METF	[MH] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464,09	463,08	-0,64

FAE METF - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Metanólico das Folhas.

Tabela 8. Identificação de compostos da fração acetato de etila do extrato metanólico da folha por UHPLC

Provável metabólico	Classe	Grupo observado	Adduct	Fórmula química	m/z teórico	m/z experimental	ppm
Astragalina	Flavonoide	FAE ETF	[MH] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448,376	449,1039	-8,68
Quercetina-3-O-desoxihexosil-(1-2)-pentosídeo	Flavonoide	FAE ETF	[MH] ⁻	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₅	581	579,099	1,21
Kaempferol-3-O-pentosídeo	Flavonoide	FAE ETF	[MH] ⁻	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	418	417,056	0,72
Quercetina-3-O-desoxihexosídeo	Flavonoide	FAE ETF	[MH] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	431,097	431,072	-0,46
Quercetina-3-O-desoxihexosil-(1-6)-hexosídeo	Flavonoide	FAE ETF	[MH] ⁺	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610,152	609	0
Quercetina-3-O-desoxihexosídeo	Flavonoide	FAE ETF	[MH] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448,1	447,065	0,45
Kaempferol-7-O-hexosídeo	Flavonoide	FAE ETF	[MH] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448,4	447,065	1,34
Ácido cafeoilquínico	Compostos fenólicos	FAE ETF	[MH] ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354,091	353	3,4
Ácido 3,4-dicafeoilquínico	Compostos fenólicos	FAE ETF	[MH] ⁻	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	516,450	515	3,7
Kaempferol-3-O-desoxihexosídeo	Flavonoides	FAE ETF	[MH] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432,105	431	0
Rutina	Flavonoides	FAE ETF	[MH] ⁺	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611	611,152	-4,91
Quertricina	Flavonoides	FAE ETF	[MH] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448,376	449,101	-5,12
Afzelin	Flavonoides	FAE ETF	[MH] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432,4	433,107	-4,85

FAE ETF - Fração Acetato de Etila a partir do Extrato Etanólico das Folhas;

Tabela 9. Identificação de compostos da fração acetato de etila do extrato etanólico da folha por UHPLC

Comparando as tabelas 6 e 7 mostram os compostos fenólicos e flavonoides nas frações obtidas a partir do extrato etanólico, publicados por Nogueira et al., 2024 e Siciliano et al., 2024. A tabela 8, apresenta os compostos fenólicos e flavonoides presentes na FAE obtida a partir do extrato etanólico, um subproduto da extração e purificação de adoçantes de estêvia (Cabeça et al., 2024). Nota-se que alguns compostos são similares, mostrando que a FAE a partir de um resíduo tem potencial para ser explorada e pode trazer benefícios, agregando valor ao setor e ainda contribuindo para uma exploração sustentável de estêvia.

Um dos compostos que aparece nas tabelas é o ácido cafeoilquínico é muito abundante em grãos de café, conhecido pela melhora da função cognitiva em camundongos modelo da doença de Alzheimer, possui propriedades antioxidantes devido a sua porção catecol e à conjugação estendida da cadeia lateral, forma um radical fenoxi estabilizado por ressonância, responsável pelo seu potencial antioxidante (Suganuma et al., 2024; Dizdar,

Vidic, Zeljkovic e Maksimovic, 2024).

O ácido 1,3-dicafeoilquínico também chamado de ácido 3,5-dicafeoilquínico é um composto fenólico também encontrado nos caules e nas folhas de estevia, que possui diversos benefícios à saúde. Pesquisas mostraram que o composto bioativo pode inibir o acúmulo de lipídios nas células adiposas, dificultando a proliferação celular durante a fase de expansão clonal mitótica e postergando a diferenciação terminal dos adipócitos tornando-o um potencial bioativo no combate a obesidade (Raineri et al., 2021; Lee et al., 2019). Esses resultados motivam a investigar melhor o potencial bioativo desses compostos para combater diversas doenças, como diabetes e a própria obesidade. A biossíntese desses compostos de forma sintética pode ser custoso e dessa forma obter um extrato ou fração de um resíduo e ainda ter múltiplos agentes funcionais pode representar benefícios inúmeros para diversos setores das áreas farmacêutica, de alimentos, agrária e da saúde.

4 | CONCLUSÃO

Este presente trabalho teve como objetivo reunir dados recentes publicados ou não sobre compostos bioativos presentes em resíduos, subprodutos ou extratos não doces de *Stevia rebaudiana*, especialmente de variedades de elite. O objetivo é proporcionar às literaturas do setor informações científicas importantes para contribuir para o desenvolvimento sustentável da exploração da estevia no Brasil e no mundo. A identificação de compostos bioativos e a investigação inicial da capacidade antidiabética e antilipídica de extratos e frações de estevia foi relatada. Nossos resultados demonstraram que o fracionamento dos extratos aumenta significativamente o potencial do extrato em diversas análises como na atividade antioxidante. Ainda, o caule, resíduo na obtenção de adoçantes a partir das folhas ou subproduto usado para ração animal, tem potencial para ser usado também pelas áreas farmacêutica, de alimentos e de saúde, e precisa ser melhor avaliado e aplicado. A fração proveniente do extrato etanólico, subproduto do pré-tratamento apresentou compostos bioativos similares aos das frações obtidas a partir de extratos metanólicos, solvente considerado não verde, e pode ter potencial funcional. As frações em acetato de etila (metanólicas) das folhas e dos caules possuíram maiores atividades, com maiores concentrações de compostos fenólicos, em baixas concentrações conseguiram inibição superior a 90% da enzima glicosidase e lipase, obtendo um potencial para inibir também a enzima amilase. Esses resultados obtidos têm implicações importantes para o desenvolvimento de novos tratamentos baseados em bioativos naturais principalmente no manejo e controle de diversas doenças como a diabetes mellitus e a obesidade. No entanto, a pesquisa possui limitações quanto aos rendimentos das extrações, e mais aplicações e investigações são incentivadas.

REFERÊNCIAS

AHMAD, M.; ASHRAF, B.; GANI, A.; GANI, A. Microencapsulation of saffron anthocyanin using β glucan and β cyclodextrin: Microcapsule characterization, release behavior and antioxidant potential during in-vitro digestion. **International Journal of Biological Macromolecules**. 109: 435-442, 2018.

ANVISA. Aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2024. Disponível em <Aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia — Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa (www.gov.br)> Acessado dia 17 de maio de 2024.

ANATEL. Diabetes (diabetes mellitus), ministério da saúde, 2021. Disponível em <Diabetes (diabetes mellitus) — Ministério da Saúde (www.gov.br)> Acessado dia 17 de maio de 2024

APOSTOLIDIS, A.; KWON, Y.-I.; SHETTY, K. Inhibitory potential of herb, fruit and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 8, i. 1, p. 46-54, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2006.06.001>.

ATTEH, J.; ONAGBESAN, O.; TONA, K.; DECUYPERE, E.; GEUNS, J. Potential use of Stevia rebaudiana in animal feeds. **Archivos de Zootecnia**, v. 60, n. 229, <https://dx.doi.org/10.4321/S0004-05922011000100015,2011>.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVÉLIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Lebens.-Wiss. U. Technol.** 28, 25-30. 1995. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. *Vigitel Brasil 2006-2021: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica do estado nutricional e consumo alimentar nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal entre 2006 e 2021: estado nutricional e consumo alimentar [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2022.*

BRUICE, P. Y. Química Orgânica. **Pearson Prentice Hall**. ed. 4, vol. 1, p 385-390, 2006.

CABEÇA, CYNTHIA LETÍCIA S.; **NOGUEIRA, NATANI CAROLINE**; ZORZENON, MARIA ROSA T.; DACOME, ANTONIO SERGIO; MADRONA, GRASIELE SCARAMAL; DA COSTA, CECÍLIA EDNA MAREZE; DA COSTA, SILVIO CLAUDIO; MILANI, PAULA GIMENEZ. Microencapsulated antioxidant stevia fraction fortifies whey protein and enhances its antidiabetic activity. **JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-MYSORE JCR**, v. 60, p. 2275-2285, 2023.

Stevia by-product fraction has antioxidant capacity and has been evaluated for its antihyperglycemic and antilipid potential". De autoria de Cynthia Letícia Serra Cabeça, Betânea Campangolli Pereira, Natani Caroline Nogueira, Paulo Leonardo Marotti Siciliano Maria Rosa Trentin Zorzenon, Antonio Sergio Dacome, Milena Kazue Enokida, Felipe de Oliveira Souza, Pauline Godoi Silva, Adan Rodrigues de Oliveira, Eduardo Jorge Pilau, Silvio Claudio da Costa e Paula Gimenez Milani Fernandes. Submetido à revista "Current Bioactive Compounds", aguardando publicação.

CIOTTA, S. R.; ZORZENON, M. R. T.; DACOME, A. S.; HODAS, F.; COUTO, J. M. F. A.; MILANI, P. G.; COSTA, C. E. M.; COSTA, S. C. Extraction of sweeteners from Stevia rebaudiana by semicontinuous percolation of untreated leaves and leaves pretreated with ethanol. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s.1], v. 46, n. 3, p. 1-9, 2002

CHAWLA, G.; RANJAN, C. Principle, instrumentation, and applications of UPLC: A novel technique of liquid chromatography. **Open Chemistry Journal**, 2016.

CHEN, J. Scientific consensus on food sweeteners. **China Food Information Center**, v. 57 I. 4, p. 457-460, doi: 10.3760/cma.j.cn112150-20221117-01119, 2023.

CHEN, O.; ZHUANG, J.; GUZZETTA, F.; LYNCH, J.; ANGERHOFER, A.; CAO, Y.C. Synthesis of water-soluble 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl nanoparticles: A new standard for electron paramagnetic resonance spectroscopy. **J. Am. Chem. Soc.** 2009, 131, 12542–12543.

DACOME, A. S.; SILVA C. C.; DA COSTA C. E. M.; FONTANA, J.; ADELMANN, J.; DA COSTA, S. C. Sweet diterpenic glycosides balance of a new Cultivar of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Berton: Isolation and quantitative distribution by chromatographic, spectroscopic and electrophoretic methods. **Process Biochemistry**, v. 40, i. 11, p. 3587 -3594, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.035>

DESAI, A. G.; QAZI, G. N.; GANJU, R. K.; EL-TAMER, M.; SINGH, J.; SAXENA, A. K.; BEDI, Y. S.; TANEJA, S. C.; BHAT, H. K. Medicinal plants and cancer chemoprevention. **Current Drug Metabolism**, s. 9 (7), p. 581-591, 2008. doi: 10.2174/138920008785821657

DIZDAAR, M.; VIDIC, D.; ZELJKOVIC, S. C.; MAKSIMOVIC, M. *In vitro* Antioxidant activity of 5-caffeoylquinic acid and ester analogues. **Bentham Science**, 2024.

DURMIC, Z.; BLACHE, D. Bioactive plants and plant products: Effects on animal function, health and welfare. **Animal Feed Science Technology**, v. 176, p. 150-162, 2012.

EMBRAPA. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em

frutas pela captura do radical livre ABTS+. Fortaleza, CE: EMBRAPA Comunicado Técnico, 2007. 4p.

FORMIGONI, M.; MILANI, P. G.; AVÍNCOLA, A. S.; SANTOS, V. J.; BENOSSI, L.; DACOME, A. S.; PILAU, E. J.; COSTA, S. C. Pretreatment with ethanol as an alternative to improve steviol glycosides extraction and purification from a new variety of stevia. **Food Chemistry**. 241: 452-459, 2017.

GOUTHAMCHANDRA, K., SUDEEP, H. V., VENKATESH, B. J., & SHYAN PRASAD, K. Chlorogenic acid complex (CGA7), standardized extract from green coffee beans exerts anticancer effects against cultured human colon cancer HCT-116 cells. **Food Science and Human Wellness**, 6(3), 147–153 2017.

ILYASOV, I. R.; BELOBORODOV, V. L.; SELIVANOVA, I. A.; TEREKHOV, R. ABTS/PP Decolorization assay of antioxidant capacity reaction pathways. **International Journal of Molecular Science**, 2020, <https://doi.org/10.3390/ijms21031131>

IUPAC GOLDBOOK. Disponível em <<https://www.iupac.org/goldbook/G02661.pdf>> Acessado em 24 de julho de 2024.

JEEVANANDAM, J.; GONÇALVES, M.; CASTRO, R.; GALLO, J.; BAÑOBRE-LÓPEZ, M.; RODRIGUES, J. Enhanced alpha-amylase inhibition activity of amine-terminated PAMAM dendrimer stabilized pure copper-doped magnesium oxide nanoparticles. **Biomaterials advances**, 2023 <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213535>.

KAWAI, A.; SHIBUYA, K. Energy separation between quartet and doublet spin states of radical-triplet encounter pairs; unusual ferromagnetic interaction in a 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl and triplet coronene pair. **J. Phys. Chem. A** 2002, 106, 12305–12314.

- KLIMCZAK, I.; GLISZCZYNSKA, A. W.; Comparison of UPLC and HPLC methods for determination of vitamin C. **Food Chemistry**, 2015.
- Koblitz, M. G. B. Bioquímica de Alimentos teoria e aplicações práticas. **Guanabara Koogan LTDA**, 2008.
- KUREK, J. M.; MIKOLAJCZYK-STECYNA, J.; KREJPCIO, Z. Steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* Bertoni mitigate lipid metabolism abnormalities in diabetes by modulating selected gene expression- An in vivo study. **Biomedicine e Pharmacotherapy**, 2023.
- KOUBA, M.; ROSELLO-SOTO, E.; ŠIČ ŽLABUR, J.; JAMBRAK, A.R.; BRNCIC, M.; GRIMI, N. Boussetta N & Barba FJ (2015) Current and New Insights in the Sustainable and Green Recovery of Nutritionally Valuable Compounds from *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 63 (31), 6835-6846 <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01994>
- KUMAR, A.; SAINI, G.; NAIR, A.; SHARMA, R. Review UPLC: a preeminent technique in pharmaceutical analysis. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, 2012.
- KUT, K.; CIENIEK, B.; STEFANIUK, I.; BARTOSZ, G.; SADOWSKA-BARTOSZ, I. A Modification of the ABTS• Decolorization Method and an Insight into Its Mechanism. **Processes** 2022, 10, 1288.
- LEE, J. I.; KIL, J. H.; YU, G. H.; KARADENIZ, F.; OH, J. H.; SEO, Y.; KONG, C. S. 3,5-Dicaffeoyl-epi-quinic acid inhibits the PMA-stimulated activation and expression of MMP-9 but not MMP-2 via downregulation of MAPK pathway. **Zeitschrift fur naturforschung C**, 2019.
- LEMUS-MONDACA, R., VEGA-GALVEZ, A., ROJAS, P., STUCKEN, K., DELPORTE, C., VALENZUELA-BARRA, G., ... PASTEN, A. Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory potential of *Stevia rebaudiana* leaves: Effect of different drying methods. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 11, 37–46 2018.
- LIANG, N., & KITTS, D. D. Role of chlorogenic acids in controlling oxidative and inflammatory stress conditions. **Nutrients**, 8(1), 16–36, 2016.
- MAGALHÃES P.M.; DE MARTÍNEZ, A.J.V.; YESID, B.H.; CÁCERES, A. Agrotecnología para el cultivo de estévia o hierba dulce. **Fundamentos de agrotecnología de cultivo de plantas medicinales iberoamericanas**, Colômbia, p. 441-450, 2000.
- Mancarz, G. F. F.; Prado, M. R. M.; Pazzim, M. S. Studies in Natural Products Chemistry. **Bioactive Natural Products**, 2023. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91294-5.00002-6>
- MILANI, P.G.; FORMIGONI, M.; DACOME, A.S.; BENOSSI, L.; COSTA, C.E.M.; COSTA, S.C. New seminal variety of *Stevia rebaudiana*: obtaining fractions with high antioxidant potential of leaves. **Anais Da Academia Brasileira de Ciências**, v.89,n.3,p.1841 1850, 2017a.<https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170174>
- MILANI, P.G.; FORMIGONI, M.; LIMA, Y.C., et al. Fortification of the whey protein isolate antioxidante and antidiabetic activity with fraction rich in phenolic compounds obtained from *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni leaves. **Journal Food Science Technol**,v.54, n.7, p.2020-2029, 2017b.
- MILANI, P.G.; PIOVAN, S.; LIMA, Y.C.; ZORZENON, M.R.T.; ROSA, C.V.D.; PEIXOTO, G.M.L.; MATHIAS, P.C.F.; NATALI, M.R.M.; COSTA, S.C.; COSTA, C.E.M. Whey protein enriched with *Stevia rebaudiana* fraction restores the pancreatic function of streptozotocin induced diabetic rats. **Journal Food Science Technol**, 58(2): 805-810, 2021. doi: 10.1007/s13197-020-04799-3

Ministério da Saúde. O impacto da obesidade. Disponível em <O impacto da obesidade — Ministério da Saúde (www.gov.br) > Acesso 30 de maio de 2024

MYNT, K. Z.; WU, K.; XIA, Y.; FAN, Y.; SHEN, J.; ZHANG, P.; GU, J. Polyphenols from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) leaves and their functional properties. **Journal of Food Science**, 2020. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15017>

NAGAR, S.; DAEY, S.; DAS, A.; BASE, S. Flavonoids: Recent advances and applications in Crop Breeding. **IntechOpen**, 2022. DOI: 10.5772/intechopen.107565

NATSIR, H.; WAHAB, A. W.; LAGA, A.; ARIF, A. R. Inhibitory activities of Moringa oleifera leaf extract against alpha-glucosidase enzyme in vitro. **Journal of Physics: Conference Series**, 2018. 10.1088/1742-6596/979/1/012019

NOGUEIRA, N. C.; CABEÇA, C. L. S.; SICILIANO, P. L. M.; PEREIRA, B. C.; ZORZENON, M. R. T.; DACOME, A. S.; SOUZA, F. O.; PILAU, E. J.; ENOKIDA, M. K.; OLIVEIRA, A. R.; SILVA, P. G.; COSTA, S. C.; MILANI, P. G. Methanolic and hydroalcoholic extract of stevia stems have antihyperglycemic and antilipid activity. *Food Bioscience*, v. 58, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.103690>

OGLE, G. D.; TIAGO, S.; DABELEA, D.; PIHOKER, C.; SVENNSON, J.; MANIAM, J.; KLATMAN, E. L.; PATTERSON, C. C. Global estimates of incidence of type 1 diabetes in children and adolescents: Results from the International Diabetes Federation Atlas. **Diabetes Research and Clinical Practice**, 2022 <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109083>.

OLIVEIRA, R.; GONÇALVES, G.; INÁCIO, F.; KOEHNLEIN, E.; DE SOUZA, C.; BRACHT, A.; PERALTA, R. Inhibition of pancreatic lipase and triacylglycerol intestinal absorption by a pinhão coat (*Araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. **Nutrients**, v.7, n. 7, p. 5601-5614, 2015.

ONG, K. W., HSU, A., & TAN, B. K. H. Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by AMPK activation. **Biochemical Pharmacology**, 85(9), 1341–1351, 2013.

PACIFICO, S.; GALASSO, S.; PICCOLELLA, S.; KRETSCHMER, N.; PAN, S. P.; MARCIANO, S.; BAUER, R.; MONACO, P. Seasonal variation in phenolic composition and antioxidant and anti-inflammatory activities of *Calamintha nepeta* (L.) Savi. **Food Research International**, v. 69. p. 121-132, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.019>

PACIFICO, S.; PICCOLELLA, S.; NOCERA, P.; TRANQUILLO, E.; POGGETTO, F. D.; CATAURO, M. New insights into phenol and polyphenol composition of *Stevia rebaudiana* leaves. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 163, p. 45-57, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.09.046>

PIOVAN, S.; PAVANELLO, A.; PEIXOTO, G.M.L.; MATIUSSO, C.C.I. de MORAES, A.M.P.; MARTINS, I.P.; MAREZA-COSTA, C.E. (2018) *Stevia* Non sweetener Fraction Displays an Insulinotropic Effect Involving Neurotransmission in Pancreatic Islets. **International Journal of Endocrinology**, p.1–7. doi:10.1155/2018/3189879

RAINERI, A.; CAMPAGNARI, R.; TOSO, R. D.; COPETTI, S.; GOMEZ-LIRA, M.; MENEGAZZI, M. 3,5-Dicaffeoylquinic acid lowers 3T3-L1 mitotic clonal expansion and adipocyte differentiation by enhancing heme oxygenase-1 expression. **Molecules**, 2021.

Rammohan, A. Zyryanov, G. V. Bhagath, Y. B. Manjula, K. Antioxidants. **Vitamins and Hormones**, Russian, 395-411p. 2023.

RODRIGUEZ, M. C.; CALEJA, C.; NUÑEZ-ESTEVEZ, B.; PEREIRA, E.; FRAGA-CORRAL, M.; REIS, F. S.; SIMAL-GANDARA, J.; FERREIRA I. C. F. R.; PIETRO, M. A.; BARROS, L. Flavonoids: A group of potential food additives with beneficial health effects. **IntechOpen**, 2021. DOI: 10.5772/intechopen.101466

RUIZ-RUIZ, J. C.; MOGUEL-ORDOÑES, Y. B.; MATUS-BASTO, A. J.; SEGURA-CAMPOS, M. R. Antidiabetic and antioxidant activity of *Stevia rebaudiana* extracts (Var. Morita) and the irin incorporation into a potential functional bread. **J Food Sci Technol** 52 (12): 7894-7903. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1883-3>. 2015

SADOWSKA-BARTOSZ, I.; BARTOSZ, G. Evaluation of The Antioxidant Capacity of Food Products: Methods, Applications and Limitations. **Processes** 2022, 10, 2031.

SARAVANAKUMAR, K.; SEONJU, P.; MARIADOSS, A.V.A.; SATHIYASEELAN, A.; VEERARAGHAVAN, V.P.; KIM, S.; WANG, M.H. Composição química atividades antioxidante e antidiabética da fração acetato de etila de *Stachys riederivar. japonica* (Miq.) em camundongos diabéticos tipo 2 induzidos por estrepzotocina. **Toxicologia Alimentar e Química**, v 155, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112374>

SHIM, Y. J.; DOO, H. K.; AHN, S. Y.; KIM, Y. S.; SEONG, J. K.; PARK, I. S.; MIN, B. H. Inhibitory effect of aqueous extract from the gall of *Rhus chinensis* on alpha-glucosidase activity and postprandial blood glucose. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 85, l. 2-3, p. 283-287, [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00370-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00370-7). 2003.

SICILIANO, P. L. M. ; CABEÇA, CYNTHIA LETÍCIA S. ; NOGUEIRA, NATANI C. ; PEREIRA, B. C. ; ENOKIDA, M. K. ; OLIVEIRA, A. R. ; SILVA, P. G. ; MATIUCCI, M. A. ; DACOME, ANTONIO SERGIO ; DA COSTA, SILVIO CLAUDIO ; FERNANDES, PAULA G. M. . Comparison between microcapsules of antioxidant fraction of *Stevia*: evaluation of physicochemical parameters, stability, bioaccessibility, and antidiabetic capacity. CURRENT BIOACTIVE COMPUND, 2024. Aceito na revista "Current Bioactive Compounds", aguardando publicação.

Sies, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox Biology**. 4: 180-183, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.002> .

SIMOENS, C.; WUYTS, C.; KHODAPARAST, L.; KHODAPARAST, L.; GOSCINNY, S.; HOEK, E. V.; LOCO, J. V.; PHILIPPAERT, K.; SCHUEREN, B. V.; VENNEKENS, R. Steviol, the aglycon of steviol glycosides, does not reduce hyperglycemia in mice with type 2 diabetes. **Phytomedicine Plus**, 2022.

SINGLA, R., SINGLA, N., & JAITAK, V. (2019). *Stevia rebaudiana* visando α -amilase: Um estudo mecanístico in vitro e in silico. *Natural Product Research* , 33, 548 - 552. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1395433> .

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**. 299: 152-178, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

SUBRAMANIAN, R.; ASMAWI, M. Z.; SADIKUN, A. In vitro alpha-glucosidase and alpha-amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. **Acta Biochimica Polônia**, 55(2), pp 391-398, 2008.

SUGANUMA, T.; HATORI, S.; CHEN, C. K.; HORI, S.; KANUKA, M.; LIU, C. Y.; TATSUZAWA, C.; YANAGISAWA, M.; HAYASHI, Y. Caffeoylquinic acid mitigates neuronal loss and cognitive decline in 5XFAD mice without reducing the amyloid-beta plaque burden. **IOS PRESS**, 2024.

TALEUZZAMAN, M.; ALI, S.; GILANI, S. J.; IMAN, S. S.; HAFEEZ, A. Ultra performance liquid chromatography (UPLC). **Journal of Analytical and Pharmaceutical Chemistry**, 2015.

TIJANI, H.; MOHAMMED, A.; MUKTAR, S.; MUSA, S.; ABUBAKAR, Y.; ADEGUNLOYE, A.P.; ISHOLA, A.A.; JOEL, E.B.; LUKA, C.D.; ALHASSAN, A.J. Antioxidant and antihyperlipidemic effects of aqueous seed extract of *Daucus carota L.* in triton x100-induced hyperlipidemic mice. **Journal of Applied Biology e Biotechnology**, v. 8, l 1, 2020. doi: 10.7324/JABB.2020.80113

VOLLHARDT, P.; SCHORE, N. Organic Chemistry. **Bookman**, ed. 5, p. 987-989, 2007.

XIE, J.; SCHAICH, K.M. Re-evaluation of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) assay for antioxidant activity. **J. Agric. Food Chem.** 2014, 62, 4251–4260.

YU, H.; Yang, G.; Sato, M.; Yamaguchi, T.; Nakano, T.; Xi, Y. Antioxidant activities of aqueous extract from *Stevia rebaudiana* stem waste to inhibit fish oil oxidation and identification of its phenolic compounds, **Food Chemistry**, V. 232, P.379-386, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.004>

APLICAÇÃO DE PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS NO TRATAMENTO DE SOLUÇÕES CONTENDO UM CORANTE ORGÂNICO

Data de submissão: 06/09/2024

Data de aceite: 01/10/2024

Leonardo Araújo Martins Titericz

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Curitiba, Departamento Acadêmico de Química e Biologia Curitiba-PR

Leonardo Alcântara Sperancetta

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Curitiba, Departamento Acadêmico de Química e Biologia Curitiba-PR

Palimécio Gimenes Guerrero Júnior

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Curitiba, Departamento Acadêmico de Química e Biologia Curitiba-PR

Paulo Roberto de Oliveira

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Curitiba, Departamento Acadêmico de Química e Biologia Curitiba-PR

RESUMO: Neste trabalho, foram investigadas as melhores condições de tratamento do corante orgânico Vermelho Laca Manganês (VLM) via Processos Oxidativos Avançados (POAs). O corante foi solubilizado em solução alcalina (VLMpH).

Testes variando a condição de radiação UVA, e variando as concentrações de H_2O_2 , $K_2S_2O_8$ (KPS) e ZnO individualmente foram feitos para avaliar a concentração ótima de cada reagente, visando uma máxima degradação do corante em 60 minutos. Para os testes com VLMpH e UVA, os resultados indicaram que as concentrações ótimas para H_2O_2 , KPS e ZnO foram de 15,0; 11,0 e 2,0 mmol L⁻¹ respectivamente. Os sistemas UVA/ O_2 /ZnO e UVA/ O_2 /ZnO/KPS apresentaram taxas de degradação muito similares (97 e 96%) e maiores que a do sistema UVA/ O_2 /ZnO/ H_2O_2 (91%) para a banda em 491 nm. Com relação a banda em 314 nm pode-se observar que o processo heterogêneo que utiliza o sistema UVA/ O_2 /ZnO/KPS atingiu uma alta taxa de degradação em 30 minutos e após 60 min o sistema UVA/ O_2 /ZnO apresentou taxas de degradação (81%) semelhantes ao UVA/ O_2 /ZnO/KPS (83%). O sistema UVA/ O_2 /ZnO/ H_2O_2 apresentou taxas de degradação inferiores ao do sistema sem H_2O_2 (65%). Em geral, o estudo mostra que os POAs são eficazes no tratamento de soluções contendo corantes orgânicos.

PALAVRAS-CHAVE: POAs; KPS; Fotodegradação; UV; ZnO

APPLICATION OF ADVANCED OXIDATIVE PROCESSES IN THE TREATMENT OF SOLUTIONS CONTAINING AN ORGANIC DYE

ABSTRACT: In this work, the better conditions on treatment of the organic dye Vermelho Laca Manganês (VLM) by Advanced Oxidation Process (AOPs) were investigated. The dye was solubilized in alkaline solution (VLM_{pH}). Tests with different conditions of UVA radiation, and varying the concentrations of H₂O₂, K₂S₂O₈ (KPS) and ZnO were made individually to evaluate the optimal concentration of each reagent, seeking a maximum degradation of dye in 60 minutes. For the tests with VLM_{pH} and UVA, the results indicated that the optimal concentrations for H₂O₂, KPS and ZnO were respectively 15,0; 11,0 and 2,0 mmol L⁻¹. The UVA/O₂/ZnO and UVA/O₂/ZnO/KPS systems presented very similar degradation rates (97 and 96%) and higher than the UVA/O₂/ZnO/H₂O₂ system (91%) for the 491 nm band. Regarding the 314 nm band, it can be observed that the heterogeneous process using the UVA/O₂/ZnO/KPS system reached a high degradation rate in 30 minutes and after 60 min the UVA/O₂/ZnO system presented degradation rates (81%) similar to UVA/O₂/ZnO/KPS (83%). The UVA/O₂/ZnO/H₂O₂ system presented degradation rates lower than the system without H₂O₂ (65%). In general, the study shows that AOPs are effective by the treatment of solutions containing organic dyes.

KEYWORDS: AOPs; KPS; Photodegradation; UV; ZnO

1 | INTRODUÇÃO

O processo de industrialização no Brasil teve seu início com a indústria têxtil. Suas raízes precedem à chegada e a ocupação do País pelos portugueses porquanto os índios que aqui habitavam já exerciam atividades artesanais, utilizando-se de técnicas primitivas de entrelaçamento manual de fibras vegetais e produzindo telas grosseiras para várias finalidades, inclusive proteção corporal. Todavia, partindo-se do princípio de que tudo teria começado com a efetiva ocupação do território brasileiro, ocorrida em 1500, podem ser identificadas quatro etapas importantes para a definição da evolução histórica da indústria têxtil no país: a fase colonial, a fase de implantação, a fase de consolidação e a fase atual (RAMOS e QUADROS, 2021).

Desde então a instalação de indústrias com alto poder poluidor, tem se acentuado, e os problemas associados a elas vêm se somando. Dentre as contribuições negativas provenientes de suas atividades, destacam-se principalmente pela produção de grandes volumes de efluentes fortemente coloridos, contendo altas cargas de compostos orgânicos (VASCONCELOS et. al., 2022, PELEGRINI et. al., 1999). Um exemplo clássico se dá na própria indústria têxtil: cerca de 30% dos corantes consumidos nos processos são perdidos e não podem ser reaproveitados porque sofreram modificações químicas durante a etapa de tingimento. Vários corantes usados no processo de tingimento mostram-se altamente tóxicos à biota aquática podendo causar interferência no processo da fotossíntese natural do meio onde são descartados (SHARMA et. al., 2021). Além disso, há o agravante de ser uma atividade que gera rejeitos de composição extremamente variável em virtude da

diversidade de corantes que são processados durante o dia (GUARATINI e ZANONI, 2000).

De acordo com Guaratini e Zanoni (2000), até metade do século XIX, todos os corantes eram derivados de produtos naturais, como folhas, flores, frutos de várias plantas e substâncias extraídas de animais. Porém, em 1856, o químico inglês William Henry Perkin obteve, acidentalmente, o primeiro corante sintético, a mauveína, dando início à produção de novas matérias-primas. Imediatamente, Perkin patenteou sua descoberta, formou uma indústria e logo começou a produção de novos corantes artificiais.

A partir daí, com o desenvolvimento tecnológico, descobriu-se rotas para sintetizar e criar novos corantes sintéticos. Além disso, com a grande demanda e as novas necessidades, os químicos foram desafiados a produzir compostos com propriedades particulares tais como: estabilidade a luz e aos processos de lavagem, fixação uniforme, boa aderência na matriz, cores diferentes, etc. (ALEGBE e UTHMAN, 2024).

Geralmente os processos de tratamento de efluentes utilizados pelas indústrias consistem em tratamentos primários (físicos, químicos e físico-químicos) e secundários (tratamento biológico por sistemas de lodos ativados, lagoas aeradas, filtros biológicos) (FREIRE et. al., 2000).

Os processos físicos são caracterizados pela separação de fases (sedimentação, decantação, filtração, centrifugação e flotação), transição de fases (extração por solventes e adsorção), além de separação molecular, que utiliza membranas seletivas (hiperfiltração, ultrafiltração, osmose reversa e diálise) (SOUZA, 2006).

Dentre os processos químicos de tratamento pode-se citar a incineração e a precipitação, que são discutíveis, visto que a precipitação, assim como os métodos físicos, promove apenas uma mudança de fase do contaminante, não eliminando completamente o problema ambiental. Já a incineração, além de ser dispendiosa, pode levar a formação de compostos mais tóxicos (dioxinas e furanos) que o próprio efluente (SOUZA, 2006).

Os Processos Oxidativos Avançados (POA) (POAs) como H_2O_2/UV (HAMLAOUI et. al., 2023) e UV/ZnO (MOHAMMADI et. al., 2022) consistem em gerar, através de luz Ultravioleta (UV), radicais altamente oxidantes que tendem a degradar compostos orgânicos naturais ou sintéticos presente em solução, gerando CO_2 , H_2O e sais minerais (JAMIL, 2024). A fotocatalise heterogênea (que também pertence aos POAs) tem mostrado grande eficiência no tratamento de rejeitos industriais, promovendo a descoloração de efluentes e a descontaminação ambiental. Estes processos têm degradado compostos aromáticos coloridos e efluentes têxteis com muita eficiência (SU et. al., 2024).

2 | OBJETIVO

Verificar através dos POAs, as melhores condições para o tratamento do corante orgânico Vermelho Laca Manganês a fim de fornecer tratamentos para ajudar a reduzir a contaminação de ecossistemas aquáticos causada pelos efluentes industriais.

3 I METODOLOGIA

O Corante Vermelho Laca Manganês (VLM) é protegido por patente e foi cedido pela Indústria Nacional Pigmentos de Campina Grande do Sul-PR.

3.1 Preparo da solução alcalina de VLM (VLM_{pH})

Em um Erlenmeyer de 1000 mL, adicionou-se 50 mg de corante VLM e 800 mL de água deionizada. Em seguida adicionou-se, gota a gota, uma solução de NaOH 5 mol/L até pH 14. Deixou-se a solução sobre agitação por 40 minutos. Transferiu-se o conteúdo do béquer para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água deionizada. Filtrou-se o conteúdo do balão em um papel filtro comum e transferiu-se o filtrado para um frasco âmbar. O papel filtro foi seco em estufa à 80° C por 1 hora e mantido em dessecador antes da pesagem. Para determinar a quantidade de corante que foi solubilizado, Retirou-se do cálculo de concentração a quantidade de corante que ficou retida no papel filtro. As soluções finais apresentaram concentração de aproximadamente 30 mg/L de corante VLM.

3.2 Sistemas utilizados para a degradação do VLM

O sistema fotocatalítico consistiu em uma caixa de madeira contendo um reator de borossilicato de 250 mL com circulação externa de água para resfriamento, agitador magnético, encanamento para gás O_2 , suporte universal, garras e luz UV (lâmpada de imersão do tipo vapor de mercúrio de 125 W). A lâmpada foi isolada pelo bulbo de vidro (que simulou a radiação mais branda, UVA) (Figura 1).

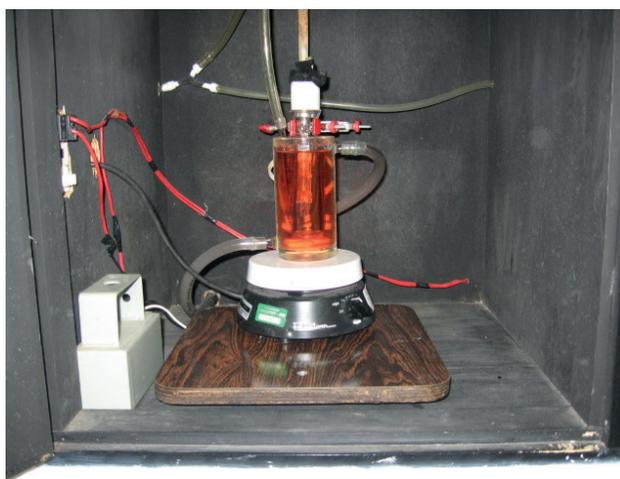


Figura 1 - Caixa de madeira com reator e luz UV submersa em solução de corante.

3.3 Coleta das alíquotas e do Controle analítico

Nos experimentos feitos por um período de 1 hora as amostras foram coletadas nos intervalos de tempo de 0; 15; 30; 45 e 60 minutos. Cada alíquota retirada foi submetida a refrigeração para evitar reações paralelas antes da análise no UV-Vis.

3.4 Experimentos utilizando VLM_{pH}

Nos experimentos com VLM_{pH} , os reagentes utilizados foram O_2 , ZnO, H_2O_2 20% e Persulfato de Potássio (KPS). Somente foi utilizada a circulação externa de água no reator, para resfriamento, quando havia a presença de luz UV. A remoção das partículas de ZnO foi realizada por centrifugação (3000 rpm por 10 minutos). Nos casos em que se utilizou luz UV, chamou-se de Ultravioleta A (UVA) porque o bulbo que revestiu a lâmpada era de vidro.

3.5 Experimentos sem luz UVA

Os experimentos sem luz UV foram realizados em um reator de 200 mL de solução de corante sob agitação. Os experimentos com gás O_2 foram realizados da mesma forma do anterior usando fluxo de ar comprimido. Nos experimentos com ZnO (2,5 mmol/L) adicionou-se 0,04 g de ZnO. Os experimentos com H_2O_2 (15,0 mmol/L) foram realizados utilizando 195 mL de solução de corante e 5 mL de solução estoque de H_2O_2 0,59 mol/L. Para o KPS (11,1 mmol/L) foram usados 188 mL de solução de corante e 12 mL de solução 0,17 mol/L de KPS. Os experimentos com ZnO (2,5 mmol/L) e com H_2O_2 (15,0 mmol/L) (H_2O_2 /ZnO) foram realizados utilizando 195 mL de solução de corante 0,04 g de ZnO e 5 mL de solução estoque de H_2O_2 0,59 mol/L. Os experimentos com ZnO (2,5 mmol/L) e KPS (11,1 mmol/L) (KPS/ZnO) foram realizados com 188 mL de solução de corante, 0,04 g de ZnO e 12 mL de solução 0,17 mol/L de KPS. Os experimentos com gás O_2 e ZnO (2,5 mmol/L) (O_2 /ZnO) foram realizados com 200 mL de solução de corante, 0,04 g de ZnO e fluxo de ar comprimido. Os Experimentos com gás O_2 , H_2O_2 (15,0 mmol/L) ou KPS (11,1 mmol/L) (O_2 / H_2O_2 ou O_2 /KPS) foram realizados com 195 mL de solução de corante, 5 mL de solução estoque de H_2O_2 0,59 mol/L (ou 188 ml de solução de corante para 12 mL de solução 0,17 mol/L de KPS) e fluxo de ar comprimido (gás O_2). Os experimentos com gás O_2 , H_2O_2 (15,0 mmol/L) e ZnO (2,5 mmol/L) (O_2 / H_2O_2 /ZnO) foram realizados com 195 mL de solução de corante, 0,04 g de ZnO, 5 mL de solução estoque de H_2O_2 0,59 mol/L e fluxo de ar comprimido. Os experimentos com gás O_2 , KPS (11,1 mmol/L) e ZnO (2,5 mmol/L) (O_2 /KPS/ZnO) foram realizados com 188 mL de solução de corante, 0,04 g de ZnO, 12 mL de solução de KPS 0,17 mol/L e fluxo de ar comprimido.

3.6 Experimentos com luz UVA

Os experimentos com luz UVA e sem reagentes foram realizados submergindo a lâmpada emitindo UVA na solução. Os experimentos com gás O_2 (UVA/ O_2) foram realizados em fluxo de ar comprimido. Os experimentos com ZnO 2,5 mmol/L (UVA/ZnO), com H_2O_2 (15,0 mmol/L) ou KPS (11,1 mmol/L) (UVA/ H_2O_2 ou UVA/KPS), com gás O_2 e ZnO (UVA/ O_2 /ZnO), com H_2O_2 (15,0 mmol/L) e ZnO (2,5 mmol/L) (UVA/ H_2O_2 /ZnO), com KPS (11,1 mmol/L) e ZnO (2,5 mmol/L) (UVA/KPS/ZnO), com gás O_2 , H_2O_2 (15,0 mmol/L) ou KPS (11,1 mmol/L) (UVA/ O_2 / H_2O_2 e UVA/ O_2 /KPS), com gás O_2 , H_2O_2 (15,0 mmol/L) e ZnO (2,5 mmol/L) (O_2 / H_2O_2 /ZnO), com gás O_2 , KPS (11,1 mmol/L) e ZnO (2,5 mmol/L) (UVA/ O_2 /KPS/ZnO) foram realizados nas mesmas quantidades dos experimentos sem luz UV. As soluções de todos estes experimentos foram homogeneizadas inicialmente por 30 segundos e foram realizados em um tempo de 1 hora.

As melhores concentrações de ZnO foram determinadas pela análise de variação da concentração de 1,2; 2,4; 6,1 e 12,2 mmol L⁻¹. Para determinar a concentração ideal de H_2O_2 , variou-se entre 3,0; 5,9; 8,8; 11,8; 14,7; 17,6; 23,5 e 30,0 mmol L⁻¹. O mesmo fez-se para o KPS, e as concentrações variaram entre 3,7; 7,4; 11,0 e 14,8 mmol L⁻¹.

4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Descoloração e Degradação

A influência da concentração dos reagentes e a eficiência dos processos de degradação e descoloração da solução contendo o corante VLM foram avaliadas através da redução da absorbância das bandas correspondentes a cor em $I_{\max} = 491$ nm (banda DC) e a de compostos aromáticos conjugados em $I_{\max} = 314$ nm (banda DG1) obtidas a partir do espectro de UV-Vis do corante VLM (Figura 2).

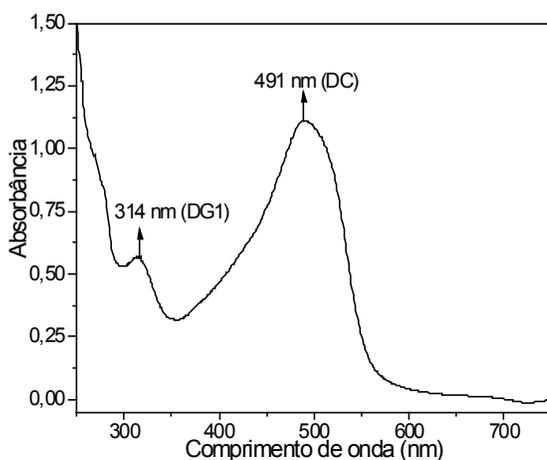


Figura 2 - Espectro na região do UV-Vis da solução VLM_{pH14} .

4.2 Resultados com luz UVA em sistemas homogêneos

A seguir são apresentados os resultados encontrados na otimização dos parâmetros ótimos para cada variável nos sistemas com pH 14 (VLM_{pH14}).

Na ausência dos agentes oxidantes H_2O_2 e KPS, o processo se mostrou ineficaz (Figura 3). As melhores taxas de degradação foram em $15,0 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figura 3A) e $11,0 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figura 3B), para H_2O_2 e KPS respectivamente.

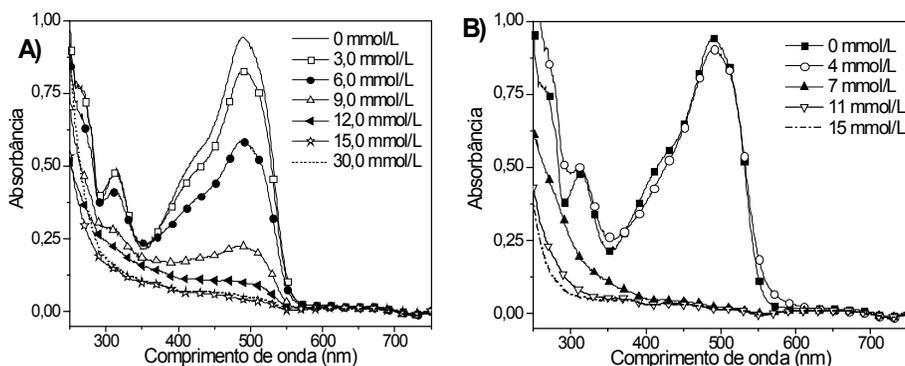


Figura 3 - Otimização das concentrações dos oxidantes H_2O_2 e KPS nos sistemas homogêneos. A) $UVA/O_2/H_2O_2$; B) $UVA/O_2/KPS$.

A Figura 4 mostra os resultados da redução das bandas DG1 e DC (Figura 2) com relação ao tempo, utilizando as melhores concentrações encontradas na Figura 3. Em 30 minutos ocorreu uma rápida redução na banda DC (Figura 4A). Após 60 minutos estas

soluções ficaram completamente incolores, ocorrendo uma maior redução da banda DC utilizando KPS como agente oxidante (97%) do que utilizando H_2O_2 (93%).

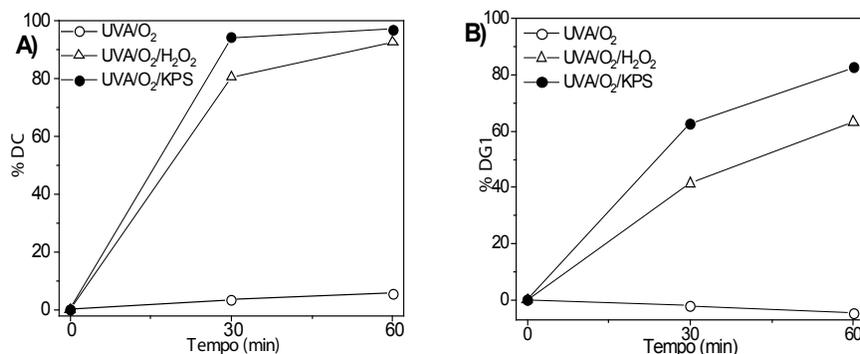


Figura 4 - Eficiência da decoloração e da mineralização nos sistemas homogêneos. A) DC e B) DG1.

O processo envolvendo o sistema UVA/O₂/H₂O₂ apresentou taxas de degradação razoáveis para as bandas DC (93%, Figura 4A) e DG1 (63%, Figura 4B). Já o sistema UVA/O₂/KPS foi o mais eficiente porque apresentou as maiores diminuições na absorbância das bandas DC (97%, Figura 4A) e DG1 (83%, Figura 4B).

Estes resultados indicam que os radicais gerados pelo processo envolvendo o KPS foram mais eficientes do que os gerados pelo H_2O_2 .

4.3 Influência da luz UV em sistemas heterogêneos

A influência da concentração do fotocatalisador nas bandas DC e DG1 (Figura 2) foi investigada variando a concentração de ZnO em 1,0; 2,0 e 6,0 mmol L⁻¹. Os resultados estão apresentados na Figura 5. O melhor resultado de degradação foi na concentração de 2,0 mmol L⁻¹, alcançando valores de 97 e 81 para DC e DG1 respectivamente.

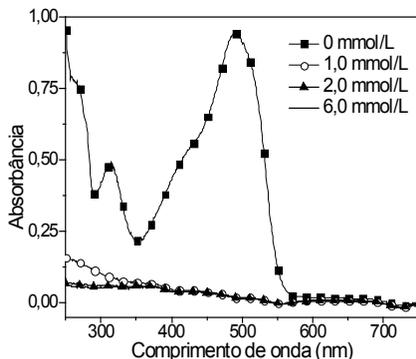


Figura 5 - Variação da concentração do semiconductor ZnO no sistema heterogêneo VLM_{pH}/UVA/O₂/ZnO.

Depois de obtido a concentração ótima de ZnO (Figura 5), realizou-se novos experimentos utilizando as condições ótimas dos oxidantes (H_2O_2 ou KPS) com ZnO. Os sistemas analisados foram UVA/ O_2 /ZnO/ H_2O_2 e UVA/ O_2 /ZnO/KPS, e os resultados estão apresentados na Figura 6.

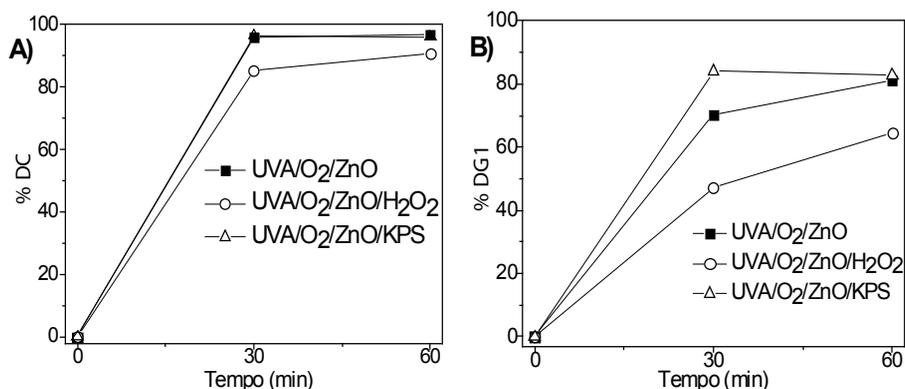


Figura 6 - Descoloração e Mineralização nos sistemas UVA/ O_2 /ZnO, UVA/ O_2 /ZnO/ H_2O_2 e UVA/ O_2 /ZnO/KPS nas bandas: A) DC e B) DG1.

De acordo com a Figura 6A, todos os procedimentos resultaram em uma rápida degradação na região do DC em 30 minutos e ainda maiores em 60 minutos. Os sistemas UVA/ O_2 /ZnO e UVA/ O_2 /ZnO/KPS apresentaram taxas de degradação muito similares (97 e 96%) e maiores que a do sistema UVA/ O_2 /ZnO/ H_2O_2 (91%). Segundo Mahmoodi et. al. (2005) o sítio responsável pela cor da molécula (ligações azo) é mais ativo frente ao ataque oxidativo, e por isso, é degradado mais facilmente.

Para a Figura 6B pode-se observar que o processo heterogêneo que utiliza o sistema UVA/ O_2 /ZnO/KPS atingiu uma alta taxa de degradação em 30 minutos e após 60 min o sistema UVA/ O_2 /ZnO apresentou taxas de degradação (81%) semelhantes ao UVA/ O_2 /ZnO/KPS (83%). O sistema UVA/ O_2 /ZnO/ H_2O_2 apresentou taxas de degradação inferiores ao do sistema sem H_2O_2 (65%) indicando que a adição deste agente oxidante interfere negativamente na degradação da solução contendo o corante orgânico.

A comparação entre os sistemas homogêneos (Figura 4) e heterogêneos (Figura 6) mostrou que a mistura dos agentes oxidantes com o semicondutor não apresentou mudanças significativas nas taxas de degradação da banda DG1 e apresentou resultados inferiores aos sistemas que utilizam os reagentes isoladamente. Portanto, os resultados apresentados nas Figuras 4 e 6 indicam que o sistema UVA/ O_2 /ZnO é mais eficiente que os demais sistemas homogêneos e heterogêneos.

4.4 Processos sem O₂

Neste estudo analisou-se a influência do gás O₂ no processo de degradação da solução de corante. A ausência do gás O₂ resultou em um decréscimo na degradação e descoloração em 12 e 18% respectivamente, na qual o experimento com UV/O₂/H₂O₂, resultou em 90 e 56% de degradação para as bandas DC e DG1 respectivamente e o experimento com UV/H₂O₂ resultando em 78 e 38% para DC e DG1 respectivamente (Figura 7A).

No processo com UVA/KPS, observou-se que a presença do gás O₂ interfere negativamente no processo de degradação. A remoção do gás O₂ resultou em uma boa diminuição da banda DG1 em 45 minutos. Porém, na análise da amostra em 60 minutos observou-se a formação de uma coloração amarela indicando a formação de algum subproduto intermediário que coloriu novamente a solução. O mesmo não ocorre quando o gás O₂ está presente (Figura 7B).

No processo com UVA/ZnO, a retirada do gás O₂ resultou em experimentos ligeiramente menos eficientes, diminuindo a descoloração e degradação em 3% e 17% respectivamente, sendo que o experimento com UVA/ZnO resultou em 94% para descoloração e 63% para degradação (Figura 7C).

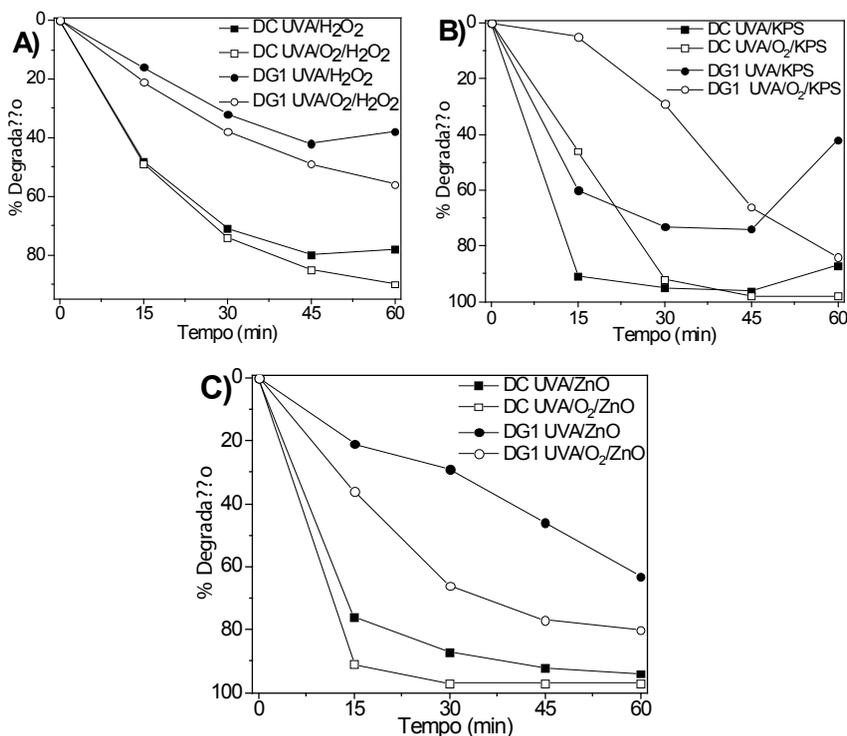


Figura 7 - Fotocatálise com e sem gás O₂ utilizando as concentrações ótimas de: (A) H₂O₂; (B) KPS e (C) ZnO.

Em todos os testes realizados, percebeu-se que ocorre uma maior diminuição da banda DC quando comparado com a banda DG1. Este resultado já é esperado, visto que a quebra das ligações azo são mais fáceis do que a quebra das ligações C-C de compostos aromáticos.

As altas taxas de degradação apresentadas nas Figuras 6 e 7, quando se utiliza ZnO, podem estar relacionadas com o fato que ao se adicionar ZnO no sistema, ocorre a formação de cargas negativas em volta do semiconductor, devido a adsorção dos íons OH⁻ na superfície do fotocatalisador. A adsorção destes íons favorece a formação de radicais •OH. Estes radicais sendo extremamente oxidantes, ajudavam na degradação do corante (MARTO et. al., 2009).

5 | CONCLUSÕES

Pode-se constatar que é necessária a presença do gás O₂ e da luz UV para se obter a máxima eficácia no tratamento.

Pode-se observar a necessidade da utilização de reagentes oxidantes e de semicondutores para a degradação da solução de VLM_{pH} quando se utilizou o bulbo de vidro (UVA).

Pode-se concluir que a eficiência dos sistemas quando se utilizou VLM_{pH} seguiu a seguinte ordem: UVA/O₂/ZnO > UVA/O₂/KPS ≈ UVA/O₂/ZnO/KPS > UVA/O₂/H₂O₂ ≈ UVA/O₂/ZnO/H₂O₂.

AGRADECIMENTOS

LAMAQ e UTFPR/DAQBI.

REFERÊNCIAS

ALEGBE, E. O.; UTHMAN, T. O. A review of history, properties, classification, applications and challenges of natural and synthetic dyes. **Heliyon**, v. 10, n. 3, p. e33646, 2024.

FREIRE, R. S.; PELEGRINI, R.; KUBOTA, L. T.; DURÁN, N.; ZAMORA, P. P. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. **Quim. Nova**. n. 23, v.4, p. 504-511, 2000.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. Corantes têxteis. **Quim. Nova**. n. 23, v.1, p. 71-75, 2000.

HAMLAOUI, M.; SAHRAOUI, A.; BOULEBD, H.; ZERTAL, A. Kinetics of three commercial textile dyes decomposition by UV/H₂O₂ and UV/acetone processes: An experimental study and DFT calculations. **J. Mol. Liq.** v. 383, p. 122212, 2023.

JAMIL, T. Role of advance oxidation processes (AOPs) in textile wastewater treatment: A critical review. **Desalin. Water Treat.**, v. 318, p. 100387, 2024.

MAHMOODI, N. M.; ARAMI, M.; LIMAEE N. Y.; TABRIZI, N. S. Decolorization and aromatic ring degradation kinetics of Direct Red 80 by UV oxidation in the presence of hydrogen peroxide utilizing TiO₂ as a photocatalyst. **Chem. Eng. J.**, v. 112, n. 1-3, p. 191-196, 2005.

MARTO, J.; MARCOS, P. S.; TRINDADE, T.; LABRINCHA, J. A. Photocatalytic decolouration of Orange II by ZnO active layers screen-printed on ceramic tiles. **J. Haz. Mat.**, v. 163, n. 1, p. 36-42, abr. 2009.

MOHAMMADI, M. J.; FADAEI, A.; JALALI, S.; SHEKOOHMANDI, H.; KHANIABADI, Y. O.; KIANIZADEH, M. Benzo[a]pyrene Decomposition by UV/ZnO Process: Treatment Condition Optimization by Design of Experiments. *Polycyclic Aromat. Compd.*, v. 42, 6, p. 3253-3263, 2022.

PELEGRINI, R.; PERALTA-ZAMORA, P.; ANDRADE, A. R.; REYES, J.; DURAN, N. Electrochemically assisted photocatalytic degradation of reactive dyes. **Appl. Catal. B: Environ** n. 22, p. 83-90, 1999.

RAMOS, L. P. S.; QUADROS, T. S. Processo de Industrialização no Brasil: Uma abordagem histórica, **Administração: Princípios de Administração e suas Tendências**. v. 3, cap. 12, Editora Científica Digital Ltda, 2021.

SHARMA, J.; SHARMA, S.; SONI, V. Classification and impact of synthetic textile dyes on Aquatic Flora: A review. **Reg. Stud. Mar. Sci.** v. 45, p. 101802, 2021.

SOUZA, C. R. L. **Degradação de corantes reativos e remediação de efluentes têxteis por processos avançados envolvendo ferro metálico**. Dissertação (Mestrado em Química Analítica), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

SU, R.; ZHU, Y.; GAO, B.; LI, Q. Progress on mechanism and efficacy of heterogeneous photocatalysis coupled oxidant activation as an advanced oxidation process for water decontamination. **Water Res.**, v. 251, p. 121119, 2024.

VASCONCELOS, M. W.; GONÇALVES, S.; OLIVEIRA, E. C.; RUBERT, S.; GHISI, N. C. Textile effluent toxicity trend: A scientometric review. **J. Cleaner Prod.** v.366, p. 132756, 2022.

MEJORA DE LA TRANSMISIÓN DE POTENCIA EN UN FÓRMULA SAE: DISEÑO Y ANÁLISIS DE UN SISTEMA DE ALTA PERFORMANCE

Data de submissão: //2024

Data de aceite: 01/10/2024

Siro Tagliaferro

Ingeniero de Producción (2012)
Universidad Metropolitana de Caracas,
MBA (2016)
IESA, Ciencia de Datos (2022) UCV,
profesor de tiempo completo en la
Universidad Metropolitana de Caracas
con más de 5 años de experiencia en
Ingeniería de Producción.
0000-0001-7501-3568

Nelson Menezes

Ingeniero Mecánico (2024) Universidad
Metropolitana de Caracas

Jesús Vásquez

Ingeniero Mecánico (2024) Universidad
Metropolitana de Caracas

cadena, Diferencial LSD

ABSTRACT: This research focuses on the design of a power transmission system for a Formula SAE prototype to improve the vehicle's performance in endurance tests. The objective is to reduce braking times and improve design results, using flight simulation software, piston-crown ratio and shaft analysis.

KEYWORDS: Sprocket, Crown, Formula SAE, chain power transmission, LSD Differential

RESUMEN: Esta investigación se centra en el diseño de un sistema de transmisión de potencia para un prototipo de Fórmula SAE con el fin de mejorar el rendimiento del vehículo en pruebas de resistencia. El objetivo es reducir los tiempos de frenado y mejorar los resultados del diseño, utilizando software de simulación de vuelo, relación pistón-corona y análisis de ejes.

PALABRAS CLAVE: Piñón, Corona, Formula SAE, transmisión de potencia por

1 | INTRODUCCIÓN

El artículo tiene como objetivo mejorar el sistema de transmisión de potencia del prototipo Fórmula SAE de la Universidad Metropolitana, el cual ha logrado avances importantes desde 2015, pero que ha provocado una disminución en el rendimiento y los tiempos de retorno en circuitos de resistencia, debido principalmente a diseños obsoletos.

2 I DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

2.1 Fase I: Recopilación de datos y análisis de la información

Se realizó una revisión bibliográfica para recopilar datos y parámetros sobre el motor, la transmisión y otros aspectos del prototipo, utilizando el manual del fabricante y artículos de investigación

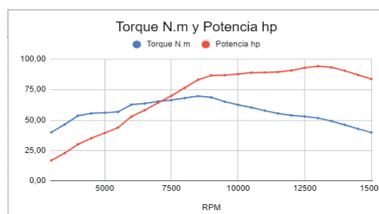


Figura 1. Curvas torque y potencia obtenidos de Ricardo Wave ©

Fuente: “Diseño de un Sistema de Admisión Variable para un Vehículo de Fórmula SAE” (Baumgartner, 2023)

2.2 Fase II: Simulación y desempeño teórico del vehículo

La simulación se centró en analizar el rendimiento de un prototipo utilizando datos de rendimiento del motor del software Ricardo Wave y Excel. Luego, los datos se ajustaron utilizando el software Optimum Lap, lo que dio como resultado cuatro simulaciones para seleccionar la relación pistón-corona óptima.

Piñón	Corona	Relación
14	48	3,4286
14	52	3,7143
17	48	2,8235
13	52	4,0000

Tabla 1. Diferentes configuraciones Piñón-corona

Durante este análisis se calcularon las relaciones de transmisión total de la caja en cada marcha. Para ello se utilizó lo siguiente:

$$RT = Rt_{marcha} * RT_{primario} * RT_{final} \quad (1)$$

Donde:

Rt_{marcha} = Relación de transmisión de cada marcha

$RT_{primario}$ = Relación de transmisión de cada marcha

RT_{final} = Relación de transmisión de cada marcha

Una vez conocidas las relaciones de transmisión total, se procedió a calcular la velocidad teórica del vehículo en cada marcha para cada rpm.

$$V = \frac{rpm * 60 * p_{caucho}}{RT} \quad (2)$$

Donde:

$rpm = rpm$ del motor

$pcaucho =$ Perímetro de la rueda Rin 13 (Km)

Así como se desarrolló la velocidad, también se procedió a calcular el torque del vehículo en las ruedas en cada marcha para cada rpm. Cabe destacar que se supuso un rendimiento 1:1 para toda la transmisión, es decir que el torque de salida del motor será igual al torque de salida del piñón y el de entrada de la corona.

$$Trueda = T * RTprimario * RTmarcha * RTfinal \quad (3)$$

Donde:

$Trueda =$ Torque en las ruedas (Nm)

$T =$ Torque del motor para el rpm especificado (Nm)

Por otro lado, fue necesario conocer la velocidad angular en el punto de torque máximo del motor, mediante la siguiente fórmula:

$$W = \frac{2\pi * rpm_{max}}{60} \quad (4)$$

Donde:

$rpm_{max} =$ rpm en el punto donde el torque es máximo

2.3 Fase III: Realización de los cálculos y selección de los componentes

Durante esta etapa se realizaron cálculos utilizando teorías como teoría de fallas y fórmulas de diseño de sistemas de transmisión, enfocándose en la selección precisa de cadena, piñón, corona, ejes y diferenciales con base en los resultados de simulación.

2.3.1 Cadena

La cadena se seleccionó en el catálogo de RK Takasago Chains para determinar el paso y ancho de la cadena, y la distancia entre centros se obtuvo mediante medidas de posición del piñón y la corona.

Posteriormente, se pudo determinar la longitud de la cadena mediante el uso de la siguiente ecuación, de acuerdo con la normativa *ASME/ANSI B29.1 M-1986*:

$$L = 2C + \frac{N}{2} + \frac{n}{2} + \left(\frac{N-n}{2\pi}\right)^2 * \frac{1}{C} \quad (5)$$

Donde:

$L =$ longitud de la cadena en pitches

$C =$ distancia entre centros en pitches

$N =$ Número de dientes de la corona

$n =$ Número de dientes del piñón

Luego, se calculó la velocidad lineal de la cadena, de acuerdo con lo establecido por el autor Budynas, R. en su libro "Diseño en Ingeniería Mecánica", mediante la siguiente ecuación:

$$v = \left(\frac{Dp}{1000}\right) * (Vp * \left(\frac{2\pi}{60}\right) * \frac{l}{2}) \quad (6)$$

Donde:

v = Velocidad lineal de la cadena (m/s)

Dp = Diámetro de paso de la cadena (mm)

Vp = Velocidad del piñón a máximo torque (rpm)

Una vez obtenido la velocidad de la cadena, se procede a calcular el esfuerzo útil de la cadena, fuerza centrífuga de la cadena y el esfuerzo total que soporta la misma, a partir de las siguientes ecuaciones:

$$Fu = \frac{P}{v} \quad (7)$$

Donde:

Fu = Esfuerzo útil de la cadena (N)

P = Potencia transmitida sobre la cadena (W)

$$Fc = M * v^2 \quad (8)$$

Donde:

Fc = Fuerza centrífuga de la cadena (N)

M = Masa unitaria de la cadena (Kg/m)

$$F0 = Fu + Fc \quad (9)$$

Por último, se calcula la potencia de diseño de la cadena, el cual nos indica el valor máximo para el que este sistema está diseñado, de acuerdo con lo establecido por el autor Richard Budynas, en el libro “Diseño en Ingeniería Mecánica”:

$$Pd = hp * k1 * k2 * k3 \quad (10)$$

Donde:

Pd = Potencia de diseño (hp)

hp = Potencia del motor en caballos de fuerza

$k1$ = Factor de corrección de dientes

$k2$ = Factor de hileras múltiples

$k3$ = Factor de servicio

2.3.2 Piñón

El piñón se diseñó considerando el rpm en el punto de mayor torque para garantizar un diseño óptimo y resistente a los esfuerzos, y se determinaron las dimensiones del piñón. Con las siguientes fórmulas y consideraciones, siguiendo la normativa ANSI/ASME B29.1M-1993:

$$Di = Dp - Dr \quad (11)$$

Donde:

Di = Diámetro interno (mm)

Dp = Diámetro de paso de la cadena (mm)

Dr = Diámetro del rodillo de la cadena (mm)

$$D_s = 1.005 * D_r + 0.076 \quad (12)$$

Donde:

D_s = Diámetro círculo (mm)

$$R1 = \frac{D_s}{2} \quad (13)$$

Donde:

$R1$ = Radio curvatura pie del diente (mm)

$$\alpha = 35^\circ + (60^\circ \div N) \quad (14)$$

$$\beta = 18^\circ + (56^\circ \div N) \quad (15)$$

$$Y = 180^\circ \div N \quad (16)$$

Donde:

Y = Ángulo entre dientes y vano

$$R2 = 0.8 * D_r + R1 \quad (17)$$

$$W = 1.4 * D_r * \text{Cos}(Y) \quad (18)$$

Una vez conocidos los valores de construcción geométricos del piñón, se calcularon las fuerzas a la que este estará sometido, la siguiente fórmula la calcula:

$$F_p = \frac{T}{D_p/2} \quad (19)$$

Donde:

F_p = Fuerza en el piñón (N)

T = Torque en el piñón (N*m)

D_p = Diámetro de paso del piñón (mm)

2.3.3 Corona

La corona diseña el mismo proceso como el piñón, involucrando parámetros constructivos y valores geométricos, y calculando fuerzas acuerdo a fórmulas y normativa ANSI/ASME B29.1M-1993.

$$F_G = \frac{T}{D_G/2} \quad (20)$$

Donde:

F_G = Fuerza en la corona (N)

T = Torque en la corona (Nm)

D_G = Diámetro de paso de la corona (mm)

2.3.4 Diseño de ejes

El diseño de los ejes considera factores como material tipo, eje diámetro, triceta dimensiones y ancho entre ejes del prototipo actual de Formula SAE UNIMET. Primero se calcularon los esfuerzos del material,

$$\Gamma_y = \frac{\sigma}{\sqrt{3}} \quad (21)$$

Donde:

Γ_y = Esfuerzo cortante (MPa)

σ = Esfuerzo de fluencia a tensión (Mpa)

Posteriormente, se calculó el radio mínimo que deberían tener los ejes, en base a este esfuerzo:

$$R = \sqrt[3]{\frac{2*(T/2)}{\pi * \Gamma y}} \quad (22)$$

Donde:

R = Radio mínimo de los ejes (mm)

$T/2$ = Torque de diseño en primera marcha dividido entre ambas ruedas (N*mm)

$$D_{min} = 2R \quad (23)$$

Donde:

D_{min} = Diámetro mínimo de los ejes (mm)

El eje acoplado a las tricetas y el diferencial requiere estriadas puntas, utilizando fórmulas para fines constructivos en la normativa ANSI B92.1-1970, R1993.

$$\phi = \arctan\left(\frac{2+E}{t1-t2}\right) \quad (24)$$

$$E = \left(\frac{D_{ri}-D_i}{2}\right) \quad (25)$$

Donde:

ϕ = Ángulo de presión en grados

E = Profundidad del diente (mm)

$t1$ = Espesor mayor del diente (mm)

$t2$ = Espesor menor del diente (mm)

D_{ri} = Diámetro mayor interno (mm)

D_i = Diámetro menor interno (mm)

$$P = \frac{N+1.4}{D_{ri}} \quad (26)$$

Donde:

N = Número de estrías de la triceta (20)

P = Paso

$$P_s = 2P \quad (27)$$

Donde:

P_s = Stub Pitch

$$D = \frac{N}{P} \quad (28)$$

Donde:

D = Diámetro (in)

$$D_b = D * \cos(\phi) \quad (29)$$

$$p = \frac{\pi}{P} \quad (30)$$

Donde:

p = Círculo de paso

$$S_v = \frac{0.5\pi+0.2}{P} \quad (31)$$

Donde:

$$Sv = \text{Ancho de espacio efectivo mínimo}$$

$$Do = \frac{N+1}{P} \quad (32)$$

Donde:

$$Do = \text{Diámetro externo mayor (in)}$$

$$Dre = \frac{N-1}{P} \quad (33)$$

Donde:

$$Dre = \text{Diámetro externo menor (in)}$$

$$Dfi = \frac{N+1}{P} + (2 * (0.001D)) \quad (34)$$

Donde:

$$Dfi = \text{Diámetro de forma interno (in)}$$

$$Dfe = \frac{N-0.6}{P} - (2 * (0.001D)) \quad (35)$$

Donde:

$$Dfe = \text{Diámetro de forma externo (in)}$$

$$Ss = \frac{16 * T * ka}{\pi * Dre^3 * kf} \quad (36)$$

Donde:

Ss = Esfuerzo Cortante bajo las raíces de los dientes externos (Psi)

ka = Factor de aplicación de la ranura

kf = Factor de fatiga de la ranura

$$t = \frac{\pi}{2P} \quad (37)$$

Donde:

t = Espesor de los dientes (in)

$$Sc = \frac{2 * T * ka * km}{9 * D * N * Le * h * kf} \quad (38)$$

Donde:

Sc = Tensión de compresión en los laterales de las estrías (Psi)

km = Factor de distribución de carga

Le = Longitud efectiva de las estrías

h = Profundidad de engranaje de los dientes 1/P

$$Ss = \frac{4 * T * ka * km}{D * N * Le * t * kf} \quad (39)$$

Donde:

Sc = Esfuerzo cortante en el diámetro de paso de los dientes (Psi)

Por último, una vez calculados los parámetros de diseño de los estriados, se calculó el factor de seguridad de estas.

$$FS = \frac{\sigma_c}{Sc} \quad (40)$$

Donde:

FS = Factor de seguridad

σ_c = Esfuerzo de compresión (12000 Psi)

El estudio calculó las dimensiones de los ejes y sus factores de seguridad utilizando

diversos criterios, examinando sus vigas mediante el software SkyCiv ©.

$$ka = aSutb \quad (41)$$

Donde:

ka = Factor de modificación de condición superficial

a = Factor a

Sut = Resistencia última a la tensión (MPa)

$$Se' = 0.5Sut \quad (42)$$

Donde:

Se' = Límite de resistencia a la fatiga rotatoria (MPa)

$$Se = ka * kb * kc * kd * ke * kf * Se' \quad (43)$$

Donde:

Se = Límite de resistencia a fatiga (MPa)

kb = Factor de modificación de tamaño

kc = Factor de modificación de carga

kd = Factor de modificación de temperatura

ke = Factor de confiabilidad

$$d = \left(\frac{16n}{\pi} \left\{ \frac{1}{Se} [4(kfMa)^2]^{\frac{1}{2}} + \frac{1}{Sut} [3(kfsTm)^2]^{\frac{1}{2}} \right\} \right)^{\frac{1}{3}} \quad (44)$$

Donde:

d = Diámetro según el Criterio de Goodman (mm)

Ma = Momento flector (N*mm)

Tm = Torsión media (N*mm)

n = Factor de seguridad

$$A = \sqrt{4(kfMa)^2} \quad (45)$$

$$B = \sqrt{3(kfsTm)^2} \quad (46)$$

Donde:

A=Variable Factor A

B=Variable Factor B

$$d = \left(\frac{8nA}{\pi Se} \left\{ 1 + \left[1 + \left(\frac{2BSe}{ASut} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \right\} \right)^{\frac{1}{3}} \quad (47)$$

Donde:

d = Diámetro según el Criterio de Gerber (mm)

$$d = \left\{ \frac{16n}{\pi} \left[4 \left(\frac{kfMa}{Se} \right)^2 + 3 \left(\frac{kfsTm}{Sy} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \right\}^{\frac{1}{3}} \quad (48)$$

Donde:

d = Diámetro según el Criterio de ASME (mm)

Sy =Esfuerzo último fluencia (MPa)

$$\sigma'max = \left[\left(\frac{32kfMa}{\pi d^3} \right)^2 + 3 \left(\frac{16kfsTm}{\pi d^3} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (49)$$

Donde:

σ·max= Sigma Prima Máximo (MPa)

$$n_y = \frac{S_y}{\sigma'_{max}} \quad (50)$$

Donde:

n_y = Factor de seguridad de los ejes

El análisis y cálculos de las ranuras se enfocan en el restrinimiento axial de las tricetas en los extremos de los ejes, además basadas en la normativa ANSI B27.7 M-1977, R 1983.

$$\tau_{nom} = \frac{16T}{\pi d^3} \quad (51)$$

Donde:

τ_{nom} = Esfuerzo cortante nominal (N/m²)

$$\tau_{nom} = Kts \frac{16T}{\pi d^3} \quad (52)$$

Donde:

Kts = Factor de corrección

$$FS = \frac{S_y}{\tau_{nom}} \quad (53)$$

Donde:

FS = Factor de seguridad en las ranuras

2.3.5 Selección del diferencial LSD

El cálculo del diferencial es un sistema y criterios clave para vehículos de Formula SAE, como Taylors Racing y Drexler, que produce diferenciales torsen y diferencial LSD.

Criterios de Selección	Taylors Racing (actual)	Drexler
Costo (USD)	2800-2900	1900-2000
Mantenimiento	Mantenimiento complicado, efectuado por la misma empresa en su sede	Fácil mantenimiento, se puede abrir y viene con instrucciones
Fiabilidad	Excelente	Excelente, usado por casi todos los equipos en la actualidad
Peso Aproximado (Kg)	5	2.6
Tiempo de uso	8 años en el equipo	Nuevo

Tabla 2 Comparación de ambos diferenciales

Debido al precio, la facilidad de mantenimiento, el bajo peso y por supuesto la necesidad de implementar un sistema nuevo se optó por seleccionar el Drexler, por lo que se contactó con la empresa fabricante, y esta nos pudo proveer los CAD y diseños del diferencial para su posterior ensamblaje, así como el plano de estos.



Figura 2. Diferencial Drexler LSD

Fuente: CM Engineering. Drexler standard FS Differential.

2.3.6 *Porta-corona*

Para el Porta-corona no se efectuó ningún tipo de cálculo dado que Drexler, la empresa, envía un bloque de aluminio 7075-T6 de 220 x 40 mm con estriado para acoplar el diferencial, ayudando a equipos a fabricar sus coronas de manera directa.



Figura 3. Bloque de aluminio de Drexler

Fuente: Autotech. FSAE Sprocket Adapter Blank

2.3.7 *Bases del diferencial y selección de los rodamientos*

La empresa Drexler responsable de la fabricación, el diseño y la producción de diferenciales, no realizó ningún cálculo en relación con las diferencias, sino que optó por mantener el diseño actual con algunas modificaciones. Sin embargo, se realizaron cálculos para los respectivos componentes y cargas.

$$\Sigma(Mi) = Fr1 * d1 - Fr2 * d2 = 0 \quad (54)$$

Donde:

$Fr1$ = Fuerza en el punto 1 (N)

$Fr2$ = Fuerza en el punto 2 (N)

$d1$ = Distancia hasta el punto 1 (mm)

$d2$ = Distancia hasta el punto 2 (mm)

$$\Sigma(Fi) = Fr1 - Fr2 - Fc = 0 \quad (55)$$

Donde:

Fc = Fuerza de la cadena en la corona (N)

2.3.8 *Partes generales del ensamblaje*

Para el ensamblaje de los ejes con el diferencial es necesario el uso de 2 tripodes y 4 tricetas. Tomando en cuenta que estas piezas son universales y sus diseños ya están hechos, serán adquiridas por medio de los proveedores, en este caso *RCV Parts* ©.



Figura 4. Triceta

Fuente: RCV Parts



Figura 5. Trípode

Fuente: RCV Parts

2.4 Fase IV: Diseño y estudio de los componentes

El objetivo de esta fase es diseñar el sistema de transmisión de potencia final en un programa de elementos finitos, evaluando cálculos y diseños en etapas previas para integrar un sistema óptimo y eficiente.

2.5 Fase V: Estimación de costos

Se realizó una estimación detallada de costos para el sistema de transmisión de potencia final utilizando catálogos de proveedores y Solidworks © para las piezas diseñadas.

3 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

ANÁLISIS DEL RENDIMIENTO DEL MOTOR

Con los datos obtenidos de la Fase I, el pico de torque ocurre al 8500 rpm teniendo un valor de 69.66 N.m, mientras que el pico de potencia se encuentra al 13000 rpm con un valor máximo de 94,30 hp.

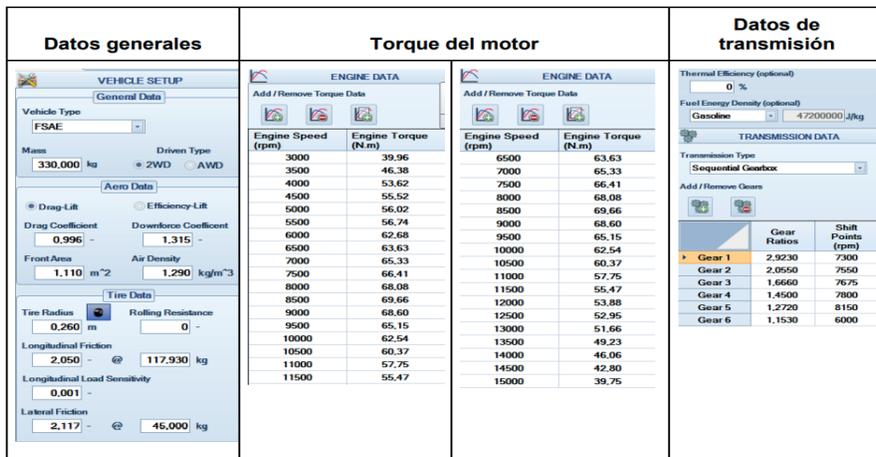


Figura 6. Datos de torque y potencia según rpm

De acuerdo con los resultados obtenidos, se seleccionó la relación (13/52), debido a que mostró una reducción de tiempo significativa frente a la mayoría de las simulaciones, así como también mayor torque y aceleración. Por otro lado, se sabe que el mejor resultado del equipo en esta prueba fue de 50,5 segundos con una relación 14/46 durante el año 2021, por lo que estaríamos frente a una disminución de hasta 5,5 segundos.

El tiempo de vuelta depende del rendimiento del prototipo en pista, aumentando en resultados y puntajes finales si considera penalizaciones a la conducción, combustible consumo y tumbar conos.

Una vez definido la relación a utilizar, se estudió la relación de transmisión total de la caja en cada marcha aplicando la ecuación (1) y los datos de la tabla 5.

Marcha	Relación Caja	Reducción primario	Relación piñón-corona	Relación de transmisión total (RT)
1era	2,923	1,891	4,000	22,109572
2da	2,055	1,891	4,000	15,5440200
3ra	1,666	1,891	4,000	12,6016240
4ta	1,450	1,891	4,000	10,9678000
5ta	1,272	1,891	4,000	9,6214080
6ta	1,153	1,891	4,000	8,7212920

Tabla 4. Relaciones de transmisión total para cada marcha

Conociendo la relación de transmisión total de la caja en cada marcha, se calculó la velocidad teórica del vehículo en cada marcha para cada rpm mediante la ecuación (2). Dando como resultado lo mostrado en la tabla 18. Así como también el torque del vehículo para cada rpm en cada marcha, mostrado en la tabla 4, de los cuales se seleccionaron los torques de diseño más altos.

Marcha	Torque diseño transmisión (N.m)
1	1540,17
2	1082,81
3	877,84
4	764,03
5	670,24
6	607,53

Tabla 5. Torques de diseño de la transmisión para cada marcha

A partir de este punto se obtuvo la velocidad angular (rad/s) a la que gira el motor en el punto de mayor torque, que mostrado anteriormente es 8500 rpm.

W (rad/s)	890,1210
n (rpm a torque máximo)	8500
60	constante

Tabla 6. Velocidad angular del motor a torque máximo

3.1 Realización de los cálculos y selección de los componentes

3.1.1 Cadena

Teniendo en cuenta el pico de potencia mostrado en la figura 6, se procedió a elegir mediante el catálogo de *RK Takasago Chains* de la tabla 24, la cadena 530MAXO, debido a que esta puede soportar hasta 150 hp, cumpliendo con las necesidades de nuestro diseño. Por lo que se procedió a calcular la longitud de la cadena a partir de la ecuación (5), utilizando una distancia entre centros medido directamente desde el CAD actual del vehículo.

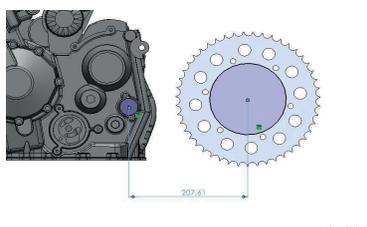


Figura 7. Distancia entre centros Piñon-corona

Longitud Cadena pitch	61,59
Longitud Cadena (mm)	978,04

Tabla 7. Longitud de la cadena

Luego, se calculó la velocidad lineal de la cadena mediante la ecuación (6), dando

como resultado una velocidad lineal de 29,5297 m/s. Se calculó el esfuerzo útil de la cadena, fuerza centrífuga de la cadena y el esfuerzo total que soporta la misma, a partir de las ecuaciones (7), (8) y (9), tomando en cuenta la velocidad lineal de esta. Dando como resultado:

Esfuerzo útil cadena (F_u)	2381,3119	N
Fuerza centrífuga cadena (F_c)	1360,3278	N
Esfuerzo total que soporta la cadena (F_o)	3741,6397	N

Tabla 8. Esfuerzo útil de la cadena, fuerza centrífuga de la cadena y esfuerzo total

Por último, se calcula la potencia de diseño de la cadena, el cual nos indica el valor máximo para el que este sistema está diseñado, mediante la ecuación (10) y tomando en cuenta los factores $k_1 = 0.75$, $k_2 = 1$ y $k_3 = 1.4$, estos de las tablas 29, 30 y 31 respectivamente, dando como resultado una potencia de diseño de 99.02 hp.

3.1.2 Piñón

Para el diseño del piñón, se determinaron los valores de las dimensiones del piñón para su posterior diseño, es decir los parámetros de construcción del engranaje, de acuerdo a lo establecido en las tablas 25, 26, 27 y 28, teniendo en cuenta el paso de la cadena el cual es de 0.625 in y usando las ecuaciones (11), (12), (13), (14), (15), (16), (17), (18). Dando como resultado:

Parámetros de construcción	Piñón
Diámetro Pitch D_p (mm)	66,35
Ángulo contacto con cadena	123,46°
Diámetro rodillo D_r (mm)	10,16
Diámetro interno D_i (mm)	56,19
Diámetro círculo D_s (mm)	10,2868
R1 radio curva pie diente (mm)	5,1434
Diámetro exterior D_e (mm)	73,95
Alfa	39,62°
Beta	13,69°
Espesor diente t (mm)	8,71
Chamfer longitud diente (h) (mm)	7,92
Chamfer ancho diente (g) (mm)	1,9812
Y (Ángulo entre dientes y vano)	13,8462
R2 (mm)	13,2714
W (mm)	13,81

Tabla 9. Dimensiones del piñón

Se calcularon los parámetros geométricos de construcción del pistón, obteniéndose un valor de 2099 N. Se eligió un acero normalizado AISI 4340 por su bajo costo, alta resistencia a la fatiga y al desgaste y mayor durabilidad, siendo la mejor opción frente a otros aceros AISI 4140.

3.1.3 Corona

Para el diseño de la corona, se procedió de la misma manera que con el piñón, es decir los parámetros de construcción de la corona, usando las mismas ecuaciones y tomando en cuenta los mismos parámetros de las tablas anteriores, dando como resultado:

Parámetros de construcción	Corona
Diámetro Pitch Dp (mm)	263
Ángulo contacto con cadena	236,54°
Diámetro rodillo Dr (mm)	10,16
Diámetro interno Di (mm)	252,84
Diámetro círculo Ds (mm)	10,2868
R1 radio curva pie diente (mm)	5,1434
Diámetro exterior De (mm)	272,055
Alfa	36,15°
Beta	16,92°
Chamfer longitud diente (h) (mm)	7,92
Chamfer ancho diente (g) (mm)	1,9812
Y (Ángulo entre dientes y vano)	3,4615
R2 (mm)	13,2714
W (mm)	14,20

Tabla 10. Dimensiones de la Corona

Se calcularon por medio de la ecuación (20) los parámetros geométricos de construcción de la corona, dando como resultado un torque de 1300 N.m. para la transmisión en la 1a y 2a marcha, con una fuerza de 9886 N, debido al alto torque y sus limitaciones. Resultado que tiene sentido tomando en cuenta que estamos frente a una relación 4:1, donde la fuerza se multiplica. Para este elemento se optó por seleccionar una aleación de aluminio 7075-T6, debido a su ligereza, alta resistencia a la fatiga, durabilidad y facilidad de manejo adicionalmente es un material ya trabajado y conocido por el equipo.

3.1.4 Diseño de ejes

Los ejes se basan en el acero AISI 4340 laminado al frío, dado a su resistencia al desgaste, dureza y su acceso en el mercado, y los ejes miden 440 mm.

Posteriormente se calcularon los esfuerzos cortantes a los que será sometido el material, mediante la ecuación (21) y tomando en cuenta la tabla 32, dando como resultado 848,7049 MPa, a lo que se continuó calculando el radio y diámetro mínimo que deberían tener los ejes tomando en cuenta la ecuación (22) y (23), dando como resultado un radio de 9,63 mm y un diámetro de aproximadamente 20 mm. Por otro lado, para el diseño del estriado de los ejes se tomaron diferentes mediciones directamente desde el CAD de las tricetas, ayudándonos del software *Solidworks* ©.



Figura 8. Triceta radio externo

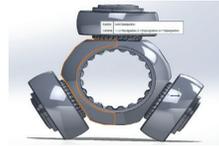


Figura 9. Triceta radio interno

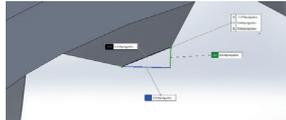


Figura 10. Triceta ancho diente interno

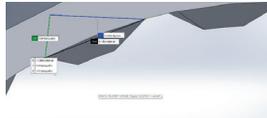


Figura 11. Triceta ancho diente externo

De aquí, tomando los valores anteriormente medidos como D_{ri} , D_i , t_1 y t_2 y aplicando de la ecuación (24) a la (35), se obtuvieron los siguientes valores para la construcción de los dientes:

Ejes Estriados	
Paso P (mm)	24,3875
Número de dientes estriado	20
D_{ri} (in)	0,8775
Ps (stub pitch)	48,7749
D_i (in)	0,8201
D_b (Dia base) in	0,5799
p (círculo de paso)	0,1288
S_v (Ancho de espacio efectivo min) (in)	0,0726
D_o (Dia mayor externo) in	0,8611
D_{re} (Dia menor externo) in	0,7791
D_{fi} (Dia forma interna) in	0,8627
D_{fe} (Dia forma externo) in	0,7939

Tabla 11. Dimensiones del estriado

Por otro lado, era necesario conocer los esfuerzos a los que estarán sometidos estos dientes en sus raíces, para posteriormente obtener el valor del factor de seguridad de estos. Usando la ecuación (36), y aplicando los factores de seguridad $k_a = 2.2$ y $k_f = 1.8$, de

la tabla 36 y 38, se obtuvo como resultado:

Esfuerzos en dientes	
Ss (raíces de los dientes) Psi	89717,1467
Torque (Ruedas) lb.in	6815,8032
Factor Ka	2,2000
Factor Kf	1,8000
Dre ³	0,4729

Tabla 12. Esfuerzo cortante en las raíces de los dientes del estriado

Dando así un factor de seguridad de $1,5 > 1$ por lo cual se asegura que esta pieza no fallará en las raíces de sus dientes debido a la carga aplicada.

Siguiendo el mismo procedimiento anterior se calcularon los esfuerzos ahora en el diámetro de paso de los dientes, aplicando la ecuación (37), (38), (39) y (40), y aplicando los factores de corrección de la tabla 37, se obtuvo:

Esfuerzo cortante en el diámetro de paso de los dientes	
Ss (Psi)	33380,5718
t (espesor de dientes)	0,0644
Factor Km	1,0000
le (longitud efectiva de las estrías) in	0,9449
Factor de seguridad	4,0
Tensiones de compresión en los lados de los dientes de las estrías.	
h (in)	0,0410
Sc (Psi)	2913,0112

Tabla 13. Esfuerzo cortante en el diámetro de paso de los dientes

Dándonos un factor de seguridad de $4 > 1$ en ambos puntos, por lo que se asegura que el sistema tampoco fallará en este caso.

Luego de analizar el estriado, se analizó el eje y se diseñó como una viga mediante el software Sky Civ. Se aplicó una carga de 1470 KN en el centro, dando como resultado el peso promedio del prototipo distribuido entre las ruedas. Luego mediante las ecuaciones (41), (42), (43), (44), (45), (46), (47), (48), (49) y (50), tomando en cuenta los valores de las tablas 39, 40, 41 y 42. Dándonos como resultado:

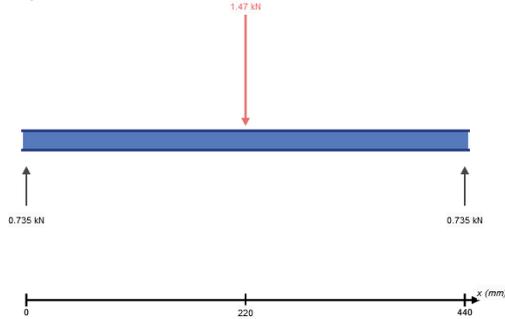


Figura 12. Reacciones en el eje como una viga

Diseño de ejes		
Momento flector	162000	N.mm
Esfuerzos cortantes	735	N
n (Factor de seguridad)	1,5	
Tm (torsión media)	770086,3421	N.mm
Sut (resistencia última a la tensión del material)	1110	MPa
Kf (Factor efectos varios)	1	No cambio de sección
Kfs	1	No cambio de sección
a	4,51	Maquinado o laminado frío
b	-0,265	Maquinado o laminado frío
Ka (Factor Modif. condición superf.)	0,7033	
Kb (Factor modif. tamaño)	0,8999	
Kc (Factor modif. carga)	1	Torsión y esfuerzo combinado
Kd (Factor modif. temperatura)	1	Temperatura ambiente 20-40 grados
Ke (Factor confiabilidad)	0,814	Confiabilidad del 99%
Se' (Limite resistencia fatiga rotatoria)	555	Mpa
Se (Limite resistencia fatiga)	285,9531	Mpa
Diámetro (Criterio de Goodman)	21,4400	mm (Aprox a 22 mm)
A	324000	N.mm
B	1333826,671	N.mm
Diámetro (Criterio Gerber)	20,6086	mm
Sy (Esfuerzo último fluencia)	951	MPa
Diámetro (Criterio de ASME)	23,9712	mm
Sigma' max	656,5245	MPa
ny (Factor de seguridad) Gerber	1,50	
ny (Factor de seguridad) Goodman	1,70	

Tabla 14. Parámetros de diseño de los ejes

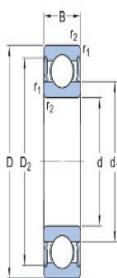
Se utilizó el criterio de Goodman para compartir resultados en materias tensión, a pesar de su eficiencia en la industria y su máximo diámetro de 22mm, lo que debería ser descartado en comparación con el criterio de ASME. Finalmente, del criterio seleccionado se obtiene un factor de seguridad de $1.7 > 1$, lo cual asegura que la pieza no va a fallar por las cargas aplicadas sobre esta.

El análisis y cálculos de las ranuras se enfocó en ejes, en los que los anillos retenedores restringen el movimiento axial de las tricetas para evitar una falla. Siendo

calculado mediante las ecuaciones (51), (52) y (53) y tomando en cuenta los valores de la tabla 43 para diámetros de ejes iguales a 22 mm, y el factor de modificación $Kts = 2.2$. Nos dio como resultado para el esfuerzo nominal cortante: 1128,5799 MPa con un factor de seguridad de $1.4 > 1$.

3.1.5 Bases del diferencial y selección de los rodamientos

Drexler, el fabricante de diferenciales, recomienda utilizar varillas atornilladas, concretamente DIN 6211-2RS1 y DIN 61910-2RS1, que se encuentran en el catálogo de SKF ©.



Dimensiones

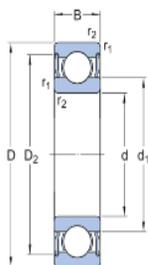
d	55 mm	Diámetro interno
D	100 mm	Diámetro exterior
B	21 mm	Ancho
d ₁	≈ 69.06 mm	Diámetro del resalte
D ₂	≈ 89.4 mm	Diámetro del rebaje
r _{1,2}	min. 1.5 mm	Dimensión del chafán

Figura 13. Dimensiones rodamiento SKF © DIN 6211-2RS1

Datos del cálculo

Clase de rendimiento SKF		SKF Explorer
Capacidad de carga dinámica básica	C	46.2 kN
Capacidad de carga estática básica	C ₀	29 kN
Carga límite de fatiga	P _u	1.25 kN
Velocidad límite		4 300 r/min
Factor de carga mínima	k _r	0.025
Factor de cálculo	f ₀	14.3

Figura 14. Especificaciones del rodamiento SKF © DIN 6211-2RS1



Dimensiones

d	50 mm	Diámetro interno
D	72 mm	Diámetro exterior
B	12 mm	Ancho
d ₁	≈ 57 mm	Diámetro del resalte
D ₂	≈ 66,9 mm	Diámetro del rebaje
r _{1,2}	min. 0.6 mm	Dimensión del chaflán

Figura 15. Dimensiones rodamiento SKF © DIN 61910-2RS1

Datos del cálculo

Capacidad de carga dinámica básica	C	14.6 kN
Capacidad de carga estática básica	C ₀	10.4 kN
Carga límite de fatiga	P _u	0.5 kN
Velocidad límite		5 600 r/min
Factor de carga mínima	k _r	0.02
Factor de cálculo	f ₀	14.3

Figura 16. Especificaciones del rodamiento SKF © DIN 61910-2RS1

Se efectuaron las respectivas comprobaciones y cargas que soportará el sistema, esto mediante las ecuaciones (54) y (55) y tomando en cuenta la figura 17, lo que resulta como:

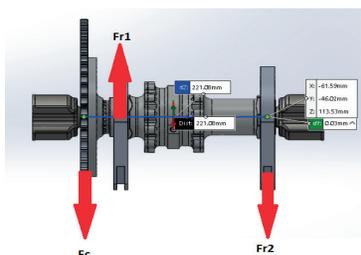


Figura 17. Reacciones en las bases del diferencial

Fr1	7421,433	N
Fr2	2464,497	N
Fc (Corona)	9885,932	N

Tabla 15. Reacciones en las bases del diferencial

Por lo tanto, se comprueba que ambos rodamientos cumplen perfectamente con las necesidades del diseño, basándonos en las cargas radiales que estos deberán soportar.

3.2 Diseño y Simulación de los componentes

El diseño y fuerzas del sistema son ejecutados en Solidworks ©, y el CAD de piezas como tricetas, rodamientos y gomas se proporciona directamente por el proveedor.

3.2.1 Piñón



Figura 18. piñón de 13 dientes. Acero AISI 4340

Una vez diseñado el piñón, se procedió a realizar la simulación de esfuerzos tomando en cuenta la fuerza obtenida de la ecuación (19), igual a 2099 N.

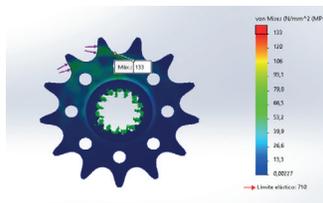


Figura 19 Simulación de esfuerzo del piñón de 13 dientes

Conocido su límite elástico de 710 MPa y su valor de esfuerzo máximo de 133 MPa, se procedió a calcular su factor de seguridad, dando como resultado $5.4 > 1$. Con un peso de 205 gr.

3.2.2 Corona



Figura 20. Corona de 52 dientes

Una vez diseñada la corona, se procedió a realizar la simulación de esfuerzos tomando en cuenta la fuerza obtenida de la ecuación (20), igual a 9886 N.



Figura 21. Simulación de esfuerzo de la corona de 52 dientes

Conocido su límite elástico de 505 MPa y su valor de esfuerzo máximo de 214 MPa, se procedió a calcular su factor de seguridad, dando como resultado $2.4 > 1$. Con un peso de 730 gr.

3.2.3 Porta corona



Figura 22. Porta corona

Una vez diseñado el porta corona, se procedió a realizar la simulación de esfuerzos tomando en cuenta el torque máximo del motor que es de 1540,17 N.m.

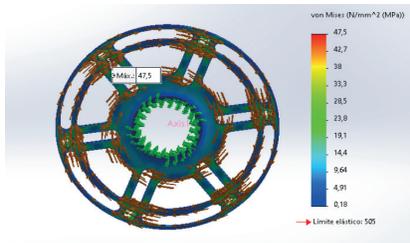


Figura 23. Simulación de esfuerzo de la porta corona

Conocido su límite elástico de 505 MPa y su valor de esfuerzo máximo de 47.5 MPa, se procedió a calcular su factor de seguridad, dando como resultado $10.6 > 1$. La pieza es sobredimensionada, lo que puede bajar el factor de seguridad mediante material o rediseño, pero el material de fabricación y la pieza pesa 290 gramos lo cual tiene sentido el cambio por ser liviana.

3.2.4 Ejes



Figura 24. Eje 440mm solitario

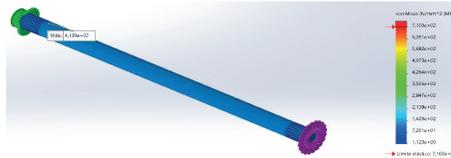


Figura 25. Simulación de esfuerzo del eje 440mm

Conocido su límite elástico de 710 MPa y su valor de esfuerzo máximo de 413.9 MPa, se procedió a calcular su factor de seguridad, dando como resultado $1.7 > 1$. Con un peso de 1301 gr.

3.2.5 Bases del diferencial



Figura 26. Base del diferencial 75 mm

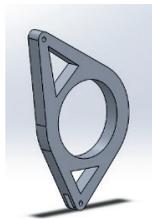


Figura 27. Base del diferencial 100 mm

3.2.6 Sistema Diferencial completo

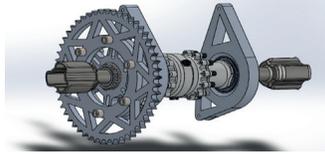


Figura 28. Sistema Diferencial- Corona- Porta corona

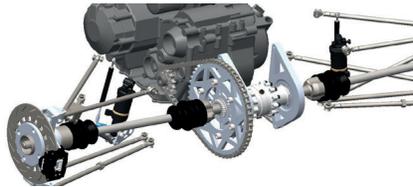


Figura 29. Sistema de Transmisión de Potencia Completo

3.3 Análisis de costos

Finalmente se realizó el análisis de costos para la completa implementación del sistema, los precios fueron obtenidos directamente del catálogo de los proveedores y las piezas fabricadas se obtuvieron a través de la herramienta *costing* de *Solidworks* ©

Análisis de costos			
Pieza y/o parte	Cantidad	Costo Unidad (USD)	Costo total (USD)
Piñon	1	163,61	163,61
Corona	1	124,58	124,58
Porta-corona	1	106	106
Diferencial	1	1904,6	1904,6
Ejes	2	247,2	494,4
DIN 6211-2RS1	1	34	34
DIN 61910-2RS1	1	65,53	65,53
DIN 28X40X7	2	11	22
DIN HK-2820	2	11,6	23,2
DIN 471 - 50	2	5	10
Base Diferencial	2	135,4	270,8
Cadena 530	1	89,01	89,01
Triceta	2	115,5	231
Goma triceta	2	12	24
Housing triceta	2	286	572
Total			4134,73

Tabla 16. Análisis de costos de implementación del sistema

4 | CONCLUSIONES

- Se logró evaluar y comparar mediante Optimum Lap © los mejores tiempos de vuelta para cada relación final: 14/52, 14/48, 13/52 y 17/48.

- Se diseñó un sistema de transmisión de potencia con una relación 13/52, que fuera capaz de mejorar los tiempos de vuelta en el *endurance* hasta en 5.5 segundos, lo cual representa bastante para los estándares de Formula SAE.
- Los cálculos y simulaciones de Solidworks permitieron evaluar y confirmar la capacidad de todas las piezas para soportar los esfuerzos esperados, utilizando como criterio el factor de seguridad.
- Este trabajo de investigación servirá como objeto de análisis y validación del sistema de transmisión de potencia para la prueba de *Design*.
- Recomendaciones y limitaciones
- Se podría realizar un estudio topológico de los componentes del sistema de transmisión de potencia, que, combinado con un proceso de fabricación aditiva, conduciría a reducciones de peso significativas para cada componente.
- Estudiar la posibilidad de elección de otras opciones para el piñón-corona en función de las necesidades futuras del equipo.

REFERENCIAS

Baumgartner, G. (2023). *Diseño de un Sistema de Admisión Variable para un Vehículo de Fórmula SAE*.

Casanova, D. (2000). On minimum time vehicle maneuvering: The theoretical optimal lap.

González Corchón, P. (2016). Diseño, Fabricación y Montaje de la transmisión de un vehículo de competición Formula Student (FSAE) (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).

Mott, R. L., Pozo, V. G., Sánchez, S. S., Fernández, Á. H., & Sánchez, J. V. (2006). Diseño de elementos de máquinas.

Nunes, S. (2023). *Propuesta de un Paquete Aerodinámico para un Vehículo de Fórmula SAE*.

Oberg, E., Jones, F. D., Horton, H. L., RYFFEL, H. H., MCCAULEY, C. J., HEALD, R., & HUSSAIN, M. I. (1914). *Machinery's Handbook* (Vol. 6). New York: Industrial Press.

SAE INTERNATIONAL (2023). FORMULA SAE RULES 2024. <https://www.fsaeonline.com/cdsweb/gen/DownloadDocument.aspx?DocumentID=369d01c0-589d-4ebe-b8d4-b07544f4a52b>

CLEISEANO EMANUEL DA SILVA PANIAGUA - Técnico em Química pelo Colégio Profissional de Uberlândia (2008), Bacharel em Química pela Universidade Federal de Uberlândia (2010), Licenciado (2011) e Bacharel em Química Industrial (2023) pela Universidade de Uberaba (UNIUBE), em Ciências Biológicas (2021) e em Física (2022) pela Faculdade Única de Ipatinga (FUNIP). Especialista em Metodologia do Ensino de Química e em Ensino Superior pela Faculdade JK Serrana em Brasília (2012), especialista em Ensino de Ciências e Matemática pelo Instituto Federal do Triângulo Mineiro (2021), especialista em Ciências Naturais e Mercado de Trabalho (2022) pela Universidade Federal do Piauí (UFPI) e especialista em Química Analítica pela Faculdade Metropolitana do Estado de São Paulo (FAMEESP) em 2024. Mestre (2015) e doutor (2018) em Química Analítica pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Realizou o primeiro estágio Pós-Doutoral (de maio de 2020 a abril de 2022) e cursou o segundo estágio (2022-2024) na UFU com ênfase na aplicação de novos agentes oxidantes utilizando radiação solar para remoção de Contaminantes de Preocupação Emergente (CPE) em efluentes de uma estação de tratamento de esgoto. Atuou como técnico em laboratório/Química pelo Instituto Federal de Goiás (2010-2022), químico e responsável técnico pelos laboratórios da Unicesumar/Polo Patrocínio e professor do SENAI de Minas Gerais e Goiás. Atualmente é professor de química do Colégio Militar do Tocantins em Araguaína/TO. Atuando nas seguintes linhas de pesquisa: (i) Desenvolvimento de novas metodologias para tratamento e recuperação de resíduos químicos gerados em laboratórios de instituições de ensino e pesquisa; (ii) estudos de acompanhamento do CPE; (iii) Desenvolvimento de novas tecnologias avançadas para remoção de CPE em diferentes matrizes aquáticas; (iv) Aplicação de processos oxidativos avançados ($H_2O_2/UV\ C$, $TiO_2/UV\ A$ e foto-Fenton e outros) para remoção de CPE em efluentes de estação de tratamento de efluentes para reuso; (v) Estudo e desenvolvimento de novos bioadsorventes para remediação ambiental de CPE em diferentes matrizes aquáticas; (vi) Educação Ambiental e; (vii) alfabetização científica e processos de alfabetização na área de Ciências Naturais, especialmente biologia e química. É membro do corpo editorial da Atena Editora desde 2021 e já organizou mais de 90 e-books e publicou 43 capítulos de livros nas diferentes áreas de Ciências da Natureza, Engenharia Química e Sanitária/Ambiental, Meio ambiente dentre outras áreas.

A

- Ácidos 2, 5, 6, 7
- Adenocarcinoma 3, 5, 6, 7, 8, 12, 13
- Aditivo alimentar 17
- Adoçante 15, 17, 18
- Angiogênese 7
- Antihiperlipidêmico 20
- Antihiperlipídico 20
- Antioxidantes 18, 19, 26, 27, 28, 29, 31, 34

B

- Biomassa 16, 19
- Biomoléculas 17
- Biota aquática 43

C

- Câncer de próstata 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 11
- Caules 15, 16, 19, 20, 21, 25, 26, 27, 28, 29, 31, 32, 35
- Comorbidades 15, 18
- Compostos fenólicos 16, 19, 22, 24, 26, 27, 28, 29, 31, 33, 34, 35
- Corantes orgânicos 42
- Corona 54, 55, 56, 58, 63, 66, 68, 74, 75, 77, 78

D

- Descontaminação ambiental 44
- Diabetes 15, 16, 17, 18, 20, 27, 30, 31, 35, 36, 38, 39, 40
- Diferencial LSD 54, 62
- Doenças crônicas 17, 36

E

- Edulcorantes 15
- Enzima 23, 30, 35
- Estévia 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 34, 35, 38
- Estroma 1, 2, 4, 6, 7, 8, 10
- Expressão gênica 8
- Extratos 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 28, 30, 31, 33, 35

F

Fibroblastos 2, 6, 7, 8, 10

Fluido seminal 1, 2

Folhas 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 27, 28, 29, 31, 32, 33, 34, 35, 44

Fotodegradação 42

G

Glândula 1, 2, 3, 4, 6, 11

Glicemia 18

Glicosídeos 15, 17, 19, 21, 25, 26

H

Hormônios 2, 3, 4, 5

I

Indústria têxtil 30, 43

L

Lâmpada 45, 46, 47

Lipase 16, 23, 31, 32, 35, 39

M

Mesênquima 1, 2, 3, 4, 5, 6

Microambiente tumoral 1, 3, 5, 6, 10

Miofibroblastos 8, 10

N

Neoplasia 5, 6

Neurogênese 7

O

Obesidade 15, 16, 17, 18, 20, 35, 39

Organização Mundial de Saúde (OMS) 18

Organogênese 1, 2, 3, 4

P

Piñón 54, 56, 57, 58, 67, 68, 74, 78

Processos Oxidativos Avançados (POAs) 42, 44, 79

Próstata 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11

R

Rebaudiosídeo A 17, 21, 25

Resíduos 15, 16, 19, 20, 35, 52, 79

S

Síndromes metabólicas 15

Sistema fotocatalítico 45

Sistema reprodutor masculino 1, 3

Solvente 18, 19, 21, 25, 32, 35

Stevia rebaudiana 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 31, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41

T

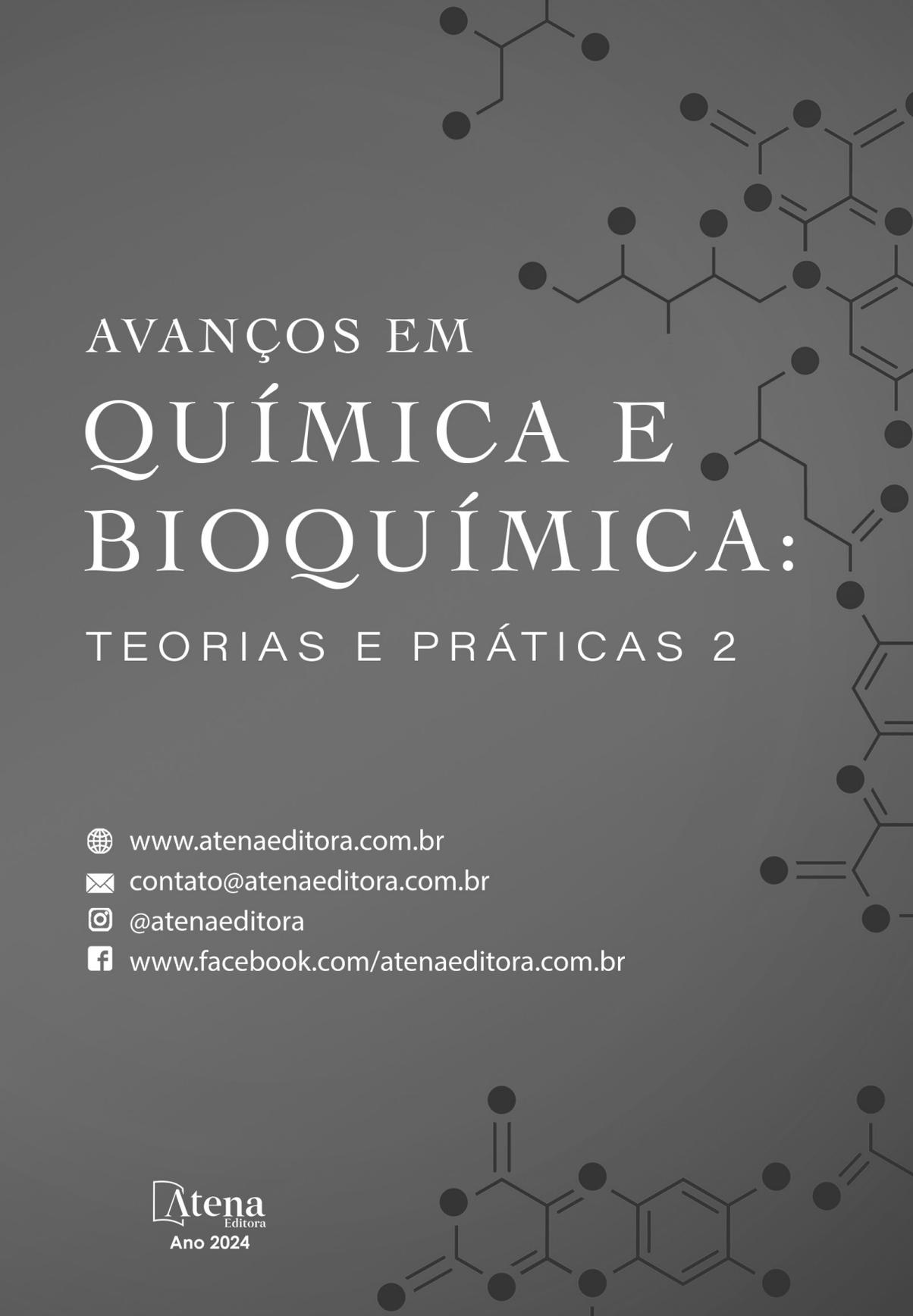
Tecido epitelial 1, 3, 4, 5, 7, 8, 10

Tratamento de efluentes 44, 79

V

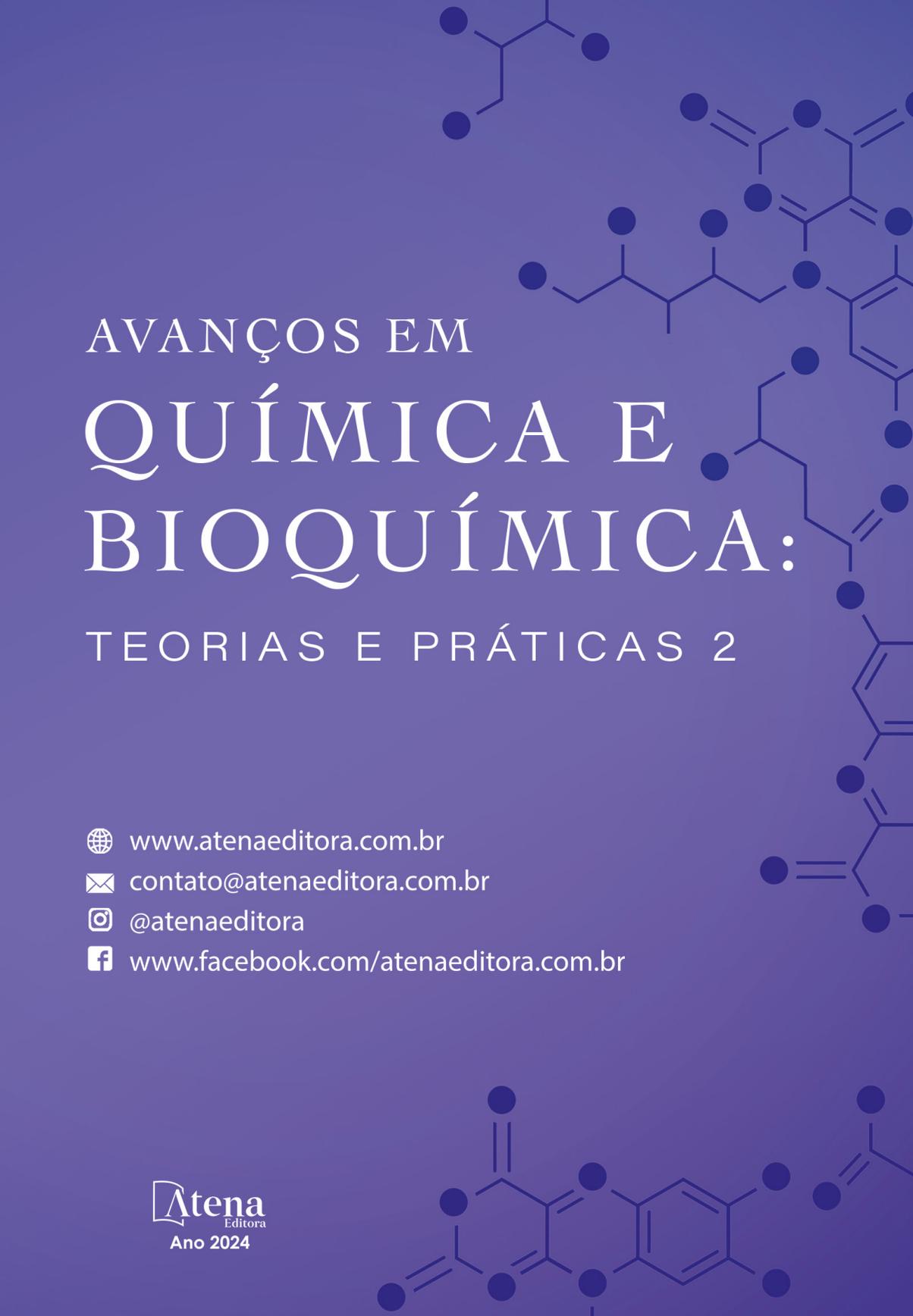
Vermelho Laca Manganês (VLM) 42, 43, 44, 45

Vesícula seminal 3

The background of the cover is a dark grey color, overlaid with various white chemical structures. These include a branched alkane chain at the top left, a complex polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) structure in the upper right, and a large, detailed structure of a porphyrin-like ring system at the bottom. The structures are rendered in a minimalist, skeletal style with black dots for atoms and white lines for bonds.

AVANÇOS EM QUÍMICA E BIOQUÍMICA: TEORIAS E PRÁTICAS 2

-  www.atenaeditora.com.br
-  contato@atenaeditora.com.br
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  www.facebook.com/atenaeditora.com.br



AVANÇOS EM
QUÍMICA E
BIOQUÍMICA:
TEORIAS E PRÁTICAS 2

-  www.atenaeditora.com.br
-  contato@atenaeditora.com.br
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  www.facebook.com/atenaeditora.com.br