

REVISTA **Processos Químicos**

Revista Científica da Faculdade de
Tecnologia SENAI Roberto Mange

Ano 9
nº 17
Jan/Jun
2015

www.rpqsenai.org.br

O Interesse Científico pelo Chocolate e pela Teobromina: um Estudo Cienciométrico



ISSN 1981-8521

REVISTA **Processos Químicos**

Revista Científica da Faculdade de
Tecnologia SENAI Roberto Mange

REG
SESI
SENAI
IEL
IICA BRASIL

== **SENAI** ==

Goiânia, v.9, n.17, ano 9, jan/jun 2015.

Pedro Alves de Oliveira

Presidente do Conselho Regional do SENAI

Paulo Vargas

Diretor Regional do SENAI

Ivone Maria Elias Moreyra

Diretora de Educação e Tecnologia

Jorge Quirino Pereira Sobrinho

Gerente de Educação Profissional

Aroldo dos Reis Nogueira

Diretor da Faculdade de Tecnologia SENAI Roberto Mange

Wilson de Paula e Silva

Gerente de Educação e Tecnologia

Joana Darc Silva Borges

Coordenadora da Área de Química

Corpo Editorial

Ademir João Camargo

Anselmo Eucana de Oliveira

Carlito Lariucci

Eurípedes de Almeida Ribeiro Júnior

Gilberto Lúcio Benedito Aquino

Guilherme Roberto de Oliveira

Hamilton Barbosa Napolitano

Kleber Carlos Mundim

Maria Assima Bittar Gonçalves

Roberta Signini

Solemar Silva Oliveira

Valter Henrique Carvalho Silva

Revista Processos Químicos / SENAI.

Departamento Regional de Goiás - v.9,
n.17 (jan/jun 2015). Goiânia: SENAI/
DR. Gerência de Educação Profissional /
Faculdade de Tecnologia SENAI Roberto
Mange, 2015.
v.: il.

Semestral

Núcleo de Material Didático da Gerência
de Educação Profissional do SENAI/DR/GO
Capa e Diagramação: Juliano Rodrigues
Revisão Linguística: Fernanda Marques

ISSN 1981-8521

1. Educação Profissional - Periódicos. 2.
Processos Químicos.

I. SENAI. Departamento Regional de
Goiás

CDD - 540

Tiragem: 1.500 exemplares

Faculdade de Tecnologia SENAI Roberto Mange
Av. Engenheiro Roberto Mange, nº 239
Bairro Jundiá - CEP 75113-630 - Anápolis-GO
Fone: (62) 3902-6200 - Fax: (62) 3902-6226
e-mail: revistapq.senai@sistemapq.org.br

ARTIGO CONVIDADO

- 09 *A Evolução do Interesse Científico pelo Chocolate e pela Teobromina: Um Estudo Cienciométrico*
Lauriane G. Santin, Ricardo Gargano & Solemar Silva Oliveira

ARTIGOS GERAIS

- 23 *Assessing Curcumin Solubility in Food-Grade Solvents*
Deivis M. Carvalho, Katiuchia P. Takeuchi, Robson M. Geraldine, Celso J. de Moura, Julie E. S. Carneiro & Anna Paula M. Santos
- 27 *Calor em Coordenadas Cilíndricas: Cálculo da Difusividade Térmica*
Mônica F. de Sousa, José S. Sales & Orlene S. da Costa
- 33 *Gênero Psidium: Aspectos Botânicos, Composição Química e Potencial Farmacológico*
Brito-Durães, E. R.; Paula, J. A. M. & Naves, P. L. F.
- 41 *Avaliação da Atividade Citotóxica dos Extratos das Folhas de Erythroxylum Campestre (Erythroxylaceae) Frente às Células Sarcoma 180*
Adriana G. Pereira, Antônio Carlos S. Menezes, Mirley L. dos Santos, Tamires S. Vieira, Renato G. Santos & Elisângela P. S. Lacerda
- 49 *Caracterização Farmacobotânica das Folhas de Eugenia Uniflora L. (Myrtaceae) Coletadas em Anápolis – GO, Brasil*
Paulo I. D. Assunção, José R. de Paula & Joelma A. M. de Paula
- 55 *Determinação de Inibidores de Degradação em Polietileno de Alta Densidade (PEAD) Através da Extração por Micro-Ondas e Análise via HPLC*
Augusto O. Cardoso

65

Nanotecnologia Biomédica de Nanopartículas Magnéticas de Óxido de Ferro: Considerações e Perspectivas
Joyce F. L. Sousa & Luciana R. Guilherme

RESUMO ESTENDIDO

71

Determinação dos Índices Químicos e Atividade Antioxidante para Controle de Qualidade do Óleo de Gergelim
Liz P. do Rosário, Paulo V. L. de Sousa, Ellen Nayara M. B. Fernandes & Giuliana M. V. Verde.

OPINIÃO

79

Os Fungos e a Glicosilação de Proteínas
Stéphanie Naoum & Valdirene N. Monteiro

Apresentação

Recentemente, em um artigo de opinião escrito para o jornal O Popular (Goiânia-GO), indicaram-se aspectos importantes da inovação tecnológica, bem como a inconcebibilidade de pensar o desenvolvimento do mundo contemporâneo sem a presença da tecnologia e dos seus impactos. Também foi pontuado que importantes instituições transnacionais, como o Conselho Econômico e Social das Nações Unidas, têm discutido ciência, tecnologia e inovação e seus impactos na economia do século 21. No Brasil, várias ações envolvendo diversas instituições têm sido realizadas nessa direção. Dentre elas, destacam-se o Plano Brasil Maior do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior e a criação da Empresa Brasileira de Pesquisa e Inovação Industrial (Embrapii). A inovação tecnológica pode ser definida de diversas maneiras, mas certamente inclui a apropriação de um novo produto ou processo pelo mercado. Pode ser vista como sinônimo de geração de riqueza, especialmente, para os segmentos produtivos. Contudo, cabe destacar que a inovação não exclui uma relação de busca com o conhecimento consolidado e não se dá fora da compreensão e da construção do estado da arte do conhecimento específico.

Não se chega à inovação, sem elementos essenciais, como sensibilidade e competência acadêmica, e sem trilhar etapas como pesquisa básica e pesquisa aplicada. Na busca desses elementos essenciais e dessas etapas, está a Revista Processos Químicos, agora no seu décimo sétimo volume. Entre os artigos, destaca-se o estudo cienciométrico da Teobromina e do chocolate, indicando um excelente caminho de correlação entre a pesquisa básica e a inovação tecnológica.

Hamilton B. Napolitano

Editor da Revista Processos Químicos

A Evolução do Interesse Científico pelo Chocolate e pela Teobromina: um Estudo Cienciométrico

Lauriane G. Santin, Ricardo Gargano & Solemar Silva Oliveira

Em função do crescente aumento no consumo de chocolate pela população mundial, torna-se evidente a necessidade de atentar-se para as consequências da ingestão desse alimento. Essas consequências são avaliadas por pesquisadores especializados e divulgadas por meio de artigos científicos publicados em revistas indexadas. A Teobromina é a principal metilxantina presente no cacau e, portanto, é um dos principais componentes ativos encontrados no chocolate. Uma consequência direta do aumento no interesse pelos prováveis benefícios que esse “alimento dos deuses” (*Theobroma*) pode trazer aos organismos a ele expostos é o aumento do número de artigos científicos publicados a seu respeito. Para avaliar o interesse da comunidade científica no chocolate e na Teobromina, foi feito um estudo cienciométrico avaliando indicadores como número de publicações, país de origem dos pesquisadores, número de citações, dentre outros. Mostrou-se como o interesse pelo chocolate e pela teobromina evoluiu nos últimos anos; quais os países possuem maior interesse nessas pesquisas; bem como a qualidade das publicações avaliadas.

Palavras-chave: *Teobromina; chocolate; ciencimetria.*

Due to the increasing consumption of chocolate by the global population becomes evident the need to pay attention to the consequences of eating this food. These consequences are assessed by expert researchers and published through scientific papers published in refereed journals. The theobromine is the main methylxanthine present in cocoa and therefore is one of the main active components found in chocolate. A direct consequence of the increase in interest in the likely benefits that this “food of the gods” (*Theobroma*) can to bring to organisms exposed to it is the increase the number of scientific articles published about this subject. To assess the interest of the scientific community in the theobromine and chocolate, we made a scientometric study, evaluating indicators such as number of publications, country of the researchers, number of citations, and others. We show the progress and interest in the chocolate and the theobromine in the last years and present the countries with greater interest in such research, and the quality of the evaluated publications.

Keywords: *Theobromine; chocolate; scientometrics.*

Introdução

O chocolate, bebida feita da semente do cacau (*Theobroma Cacao*), teve sua origem na América Central. Estudos apontam, a partir de vestígios de cacau encontrado em vasilhas usadas na época, que já era consumida há 600 anos antes de Cristo pelos povos maias¹. O nome *Theobroma* vem do latim e significa alimento dos deuses. O cacau foi inicialmente cultivado nas regiões tropicais da América Central e do Sul. A bebida feita da semente dessa árvore era consumida pela elite dos povos das civilizações pré-colombianas, que a tomavam na forma de uma bebida fria e amarga. Com a vinda dos colonizadores europeus, a bebida se popularizou entre a nobreza europeia e passou a ser consumida também com açúcar, leite e na forma de barras. As sementes de cacau eram tão populares que chegaram a ser o dinheiro na antiga Mesoamérica (entende-se por Mesoamérica a região que abrigou as civilizações indígenas dos maias, dos astecas e de seus antecessores, que é basicamente o centro e o sul do México e a América Central). Como muitas pessoas já sonharam, eles tinham o privilégio de dizer: “aqui o dinheiro cresce em árvores”. Foi em função da prática comercial de usar as sementes de cacau como moeda que hoje, em algumas culturas, criou-se o hábito de se referir ao dinheiro, informalmente, como “cacau”^{2,3}.

O cacau é cultivado no Brasil, principalmente no estado da Bahia. Na figura abaixo, podemos ver a árvore, o fruto e as sementes do cacau.

A teobromina é a principal metilxantina presente no cacau e, em menores proporções, podem-se encontrar cafeína e teofilina, como foi mostrado por Brunetto⁴ e pode ser visto na Figura 2. O estudo foi feito com sete variedades de cacau por cromatografia líquida de alta performance. As metilxantinas são derivados metílicos das xantinas e os três tipos mais comuns são a teobromina, a cafeína e a teofilina.

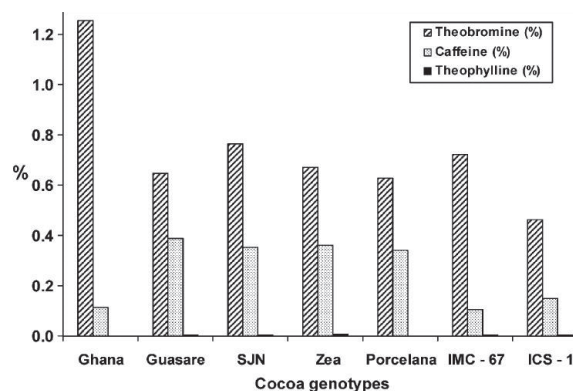


Figura 2. Concentração de teobromina, cafeína e teofilina em diferentes variedades de cacau.

A teobromina ($C_7H_8N_4O_2$ - 3,7-dimetilxantina ou 3,7-diidro-3,7-dimetil-1H-purina-2,6-diona) cuja estrutura molecular pode ser vista na Figura 3, é um dos principais metabólitos da cafeína⁵ e também pode ser encontrada naturalmente, em maiores proporções, na noz-de-cola, uma semente que é encontrada na



Figura 1. Árvore, fruto e semente do cacau.

África Ocidental e no chá verde⁶. Da mesma forma que acontece nas sementes de cacau, como visto na Figura 2, normalmente essas metilxantinas são encontradas juntas na natureza, o que difere é a quantidade em que elas se apresentam.

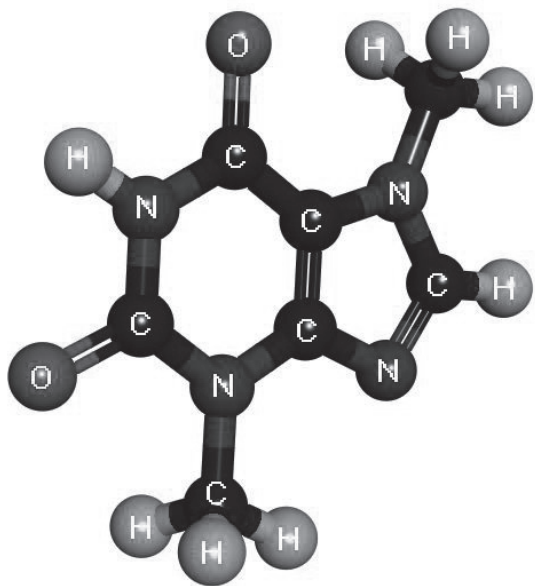


Figura 3. Estrutura molecular teobromina.

Inúmeros benefícios para saúde humana relacionados à teobromina são relatados na literatura. Em estudos desenvolvidos na Universidade Kanazawa, no Japão, pesquisadores mostraram que a teobromina tem atividade antitumoral e pode ser muito eficiente na prevenção do aparecimento de glioblastomas, tipo mais comum de tumor cerebral maligno, por possuir as propriedades de inibir a proliferação celular e induzir a apoptose. Ela aumenta os níveis de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) intracelular, inibe a enzima fosfodiesterase 4 e inibe o crescimento do glioblastoma. Eles também mostraram que a teobromina inibe algumas

vias de sinalização em células de glioblastoma humano e concluem que dietas que contenham alimentos derivados da semente do cacau podem ser extremamente eficazes, principalmente, na prevenção desse tipo de câncer⁷.

A teobromina também possui efeito antitussígeno, diurético⁸, inibe a cristalização do ácido úrico⁹, possui atividade anti-inflamatória¹⁰, antioxidante, pró-oxidante e quimiopreventiva¹¹. Estudos que avaliam a afinidade de ligação das metilxantinas com DNA (*deoxyribonucleic acid*) mostram que as metilxantinas, principalmente, a teobromina e a teofilina, possuem uma capacidade de se ligarem ao DNA e, portanto, podem ser agentes envolvidos no desenvolvimento de processos de entrega específica de drogas¹².

O consumo de chocolate é frequentemente relacionado com sintomas de felicidade e melhoras no humor. Embora não seja possível confirmar essas hipóteses, cientistas propuseram que a teobromina ou a combinação peculiar de teobromina e cafeína são os responsáveis pelo apelo ao chocolate¹³. Diferente da cafeína, que atua no Sistema Nervoso Central (SNC) que, dentre outros sintomas, aumenta a atenção e a pressão sanguínea, a teobromina atua principalmente no Sistema Nervoso Periférico (SNP) aumentando a tensão, a atividade motora e diminuindo a pressão sanguínea¹⁴.

O consumo de teobromina apresenta baixa toxicidade em humanos, mas pode ser letal, pela alta toxicidade, a mamíferos como cães e gatos, provocando, entre outros efeitos, nervosismo, convulsões, vômito e alterações degenerativas¹⁵. Estudos relacionam o consumo de cacau durante a infância e pré-natal com o risco de câncer testicular e *hypospadias* (condição masculina congênita em que a abertura da uretra se dá na parte inferior do pênis). Discute-se a associação entre a ingestão do cacau e a prevalência de doenças reprodutivas masculinas¹⁶.

Em um artigo publicado em 2012 pelo *The new england journal of medicine*, foi divulgado um estudo curioso sobre a correlação entre a quantidade de chocolate consumida por pessoa e a quantidade de prêmios Nobel recebidos em diversos países. O resultado pode ser visto na Figura 4¹⁷.

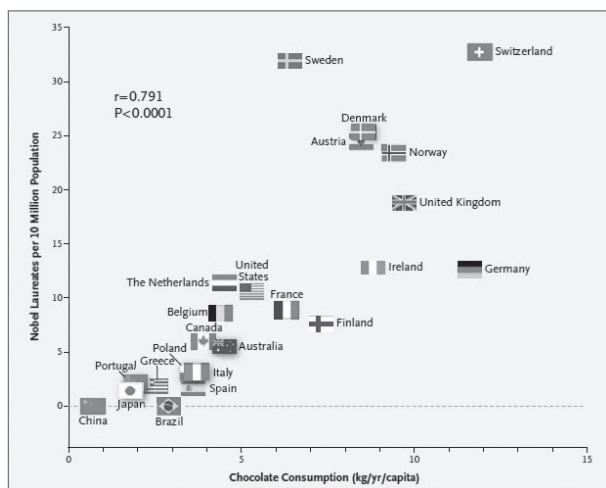


Figura 4. Correlação entre o consumo de chocolate por ano, por pessoa, e o número de premiados com o Nobel por cada 10 milhões de pessoas.

Para justificar o interesse em estudar o principal constituinte ativo do chocolate, a teobromina, analisou-se a evolução do interesse científico nesse agente terapêutico. Para avaliar aspectos quantitativos da produção científica, relacionada ao chocolate e à teobromina, foi feito um estudo cienciométrico simplificado, que se propõe a identificar os momentos de maior interesse e mostrar a evolução da produção científica de ambos os temas ao longo de um determinado tempo. Assim, avalia-se o número de trabalhos publicados sobre o chocolate e a teobromina em revistas indexadas, por ano, por quinquênio e por década, utilizando o serviço de busca da *Thomson Reuters*, o *Web of Science*, que dá acesso a vários bancos de dados, para fazer o estudo cienciométrico. Foi utilizada a assinatura online da Universidade de Brasília e a da Universidade Estadual de Goiás para realizar as buscas por meio do *Web of Science*.

Cienciométrica

Com o advento da tecnologia, as formas usuais de busca e compartilhamento da informação foram reconstruídas, o que possibilitou um enorme avanço na obtenção de informações, especialmente as de natureza científica. As novas ferramentas de pesquisa revolucionaram o acesso à informação e a velocidade com que essas informações

chegam ao público-alvo. A comunidade científica muito se beneficiou com a facilidade no compartilhamento e no acesso ao conteúdo proporcionado pela utilização da internet. A informação, hoje, está ao alcance das mãos, sendo separada do leitor por alguns “cliques” de distância. Esses avanços tecnológicos nos deram a possibilidade de acessar a produção científica, que antes era restrita às bibliotecas em conteúdos físicos e cada vez mais é publicada em formato eletrônico, por meio de inúmeras bases de dados online que armazenam o conteúdo científico publicado em revistas indexadas e disponibilizam ao pesquisador quase que em tempo real.

Considerando o avanço científico atual, o grande número de artigos científicos publicados em revistas internacionais e indexadas e a produção intelectual sobre diversos assuntos, nas diversas áreas do conhecimento humano, tornou-se relevante, para um melhor e mais eficiente progresso da ciência, o estudo de técnicas que permitam a medição das taxas de produtividade, tanto dos grandes centros de pesquisa (universidades, laboratórios, empresas, etc.) quanto dos pesquisadores individualmente. Estudos dessa natureza possibilitam uma compreensão atual de um determinado objeto de pesquisa, apresentando um mapa de importância que traça rumos para a pesquisa futura, possibilitando a otimização das técnicas a serem usadas no desenvolvimento da pesquisa e direcionando a formação de grupos e colaborações levando a uma melhor aplicação dos recursos financeiros.

As subdisciplinas que possibilitam o estudo da quantificação do fluxo da informação, a compreensão acadêmica dos tópicos de interesse, sob enfoques diversos, a difusão do conhecimento científico e o direcionamento da pesquisa científica são classificadas como técnicas quantitativas de avaliação e podem ser a bibliometria, a cienciométrica, a informetria e a webometria¹⁸.

Desde que a proposta de *E. Garfield* deu origem à criação do *Science Citation Index (SCI)*, do Institute for Scientific Information, a comunidade científica conta com uma formidável ferramenta para avaliar artigos, periódicos e cientistas em diversas áreas do conhecimento.

Sobre a importância da avaliação do conhecimento produzido em determinada área, Oliveira diz que, no mínimo, esse entendimento, relacionado a um estudo, justifica o seu desenvolvimento e deve apontar caminhos para a sua continuidade. Também reflete sobre a

necessidade desta avaliação ser feita de forma contínua, ou seja, durante o desenvolvimento do estudo, sobretudo, quando um projeto de pesquisa é a motivação do trabalho. O mesmo pesquisador enumera a relevância da medição da produção bibliográfica sobre dois aspectos que são a importância para a alocação de recursos humanos e matérias e a avaliação da produtividade científica. Tudo isso levando em consideração o fortalecimento e consolidação de uma política nacional de ensino e pesquisa que pretendem primar por qualidade²¹.

O termo cienciometria surgiu primeiro na extinta URSS e na Europa Oriental e foi muito empregado na Hungria, onde, no final da década de 1970, foi criada a importante revista *Scientometrics*, atualmente uma revista Holandesa¹⁸. Os primeiros pesquisadores que fizeram uso da cienciometria para medições de produção foram os húngaros G. M. Dobrov e A. A. Karennoi, em uma publicação do *All-Union Institut for Scientific and Technical Information (VINITI)* de 1969. Em 1977, o termo cienciometria alcançou popularidade com a primeira publicação da revista *Scientometrics*, e a comunidade científica atentou-se para a cienciometria apenas na década de 1980, quando surgiu o banco de dados fornecidos para as universidades pelo antigo *Institute for Scientific Information (ISI)* hoje conhecido como *Thompson ISI*, que fornece informações atuais sobre os mais diversos periódicos mundiais, nas mais diferentes áreas do conhecimento e com rico material informativo²².

Na cienciometria, os objetos de estudos podem ser disciplinas, assuntos, áreas e campos com variáveis diversas, tais como: revistas, autores, documentos. Utilizando como método a análise do conjunto e da sua correspondência, podem-se identificar domínios interesse, verificar tendências e compreender como e quanto os cientistas se comunicam²³.

Segundo a tradução de Macias-Chapula²³, do texto Tague-Sutcliffe²⁴, a cienciometria pode ser definida como: “o estudo dos aspectos quantitativos da ciência enquanto uma disciplina ou atividade econômica. A cienciometria é um segmento da sociologia da ciência, sendo aplicada no desenvolvimento de políticas científicas. Envolve estudos quantitativos das atividades científicas, incluindo a publicação e, portanto, sobrepondo-se à bibliometria”. Estes autores apontam que a cienciometria avalia os vários indicadores quantitativos fornecidos pela produção científica (artigos, patentes, livros, etc.) nas diversas áreas

do conhecimento e transfere essas informações para o desenvolvimento da própria área. Com a cienciometria, pode-se estabelecer um entendimento de uma área, mapear o que os pesquisadores estão propondo e direcionar o futuro da pesquisa para obter melhor desempenho e simetria com tecnologia e inovação.

Resultados

Em um primeiro momento, analisou-se o número de publicações em revistas indexadas, desde 1950 contendo a palavra chocolate. Curiosamente, percebeu-se que quase todos os trabalhos publicados entre 1970 e 1980 tinham uma patente relacionada. Na figura 5, apresentou-se um gráfico para o número de publicações de 5 em 5 anos desde 1970 até 2015. É possível observar o crescente interesse pelo tema, sendo que a maioria dos trabalhos foram publicados a partir do início do século XXI. Outra importante consideração a se fazer é que o crescimento, em ambas as buscas, se dá nos moldes de uma curva exponencial, como será visto nos ajustes a seguir. É importante salientar que a pesquisa relacionada ao gráfico abaixo foi feita em março de 2015, portanto, ela é apenas uma estimativa do último quinquênio, visto que este ainda não acabou e outros artigos ainda serão publicados.

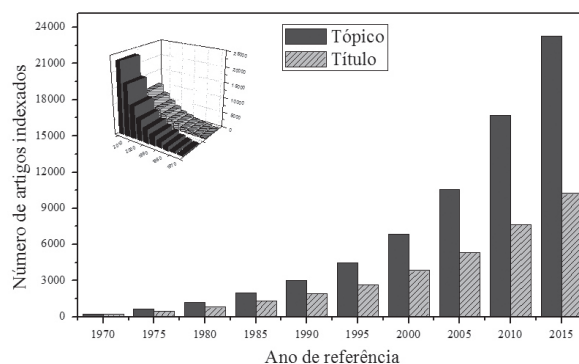


Figura 5. Evolução do número de publicações feitas nos últimos 45 anos, a partir de buscas feitas a cada quinquênio, contendo a palavra chocolate por tópicos e por títulos.

Na Figura 6, há um gráfico para o número de publicações com a palavra chocolate nos últimos 10 anos. Tanto na busca por tópicos quanto por títulos, evidencia-se o crescimento gradativo do interesse pelo tema abordado.

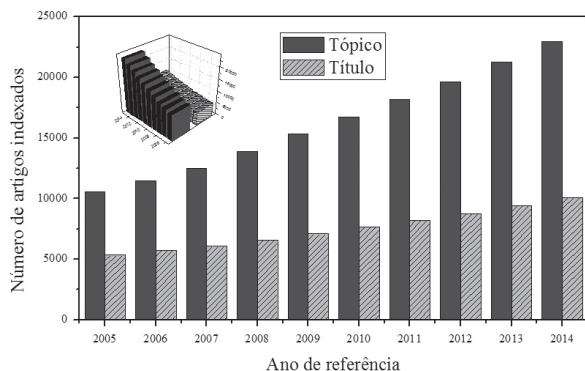


Figura 6. Evolução do número de publicações feitas nos últimos 10 anos contendo a palavra chocolate por tópicos e por títulos.

Houve também um estudo da evolução do interesse na teobromina com publicações feitas nos últimos 45 anos, que pode ser visto na Figura 7. Durante a pesquisa, foi utilizado o termo em inglês, *theobromine*, porque o maior número de publicação é feito em língua inglesa. Na figura 7, existe um gráfico para o número de publicações de 5 em 5 anos desde, 1970 até 2015 que, em conformidade com o ocorrido para o estudo do chocolate, apresentou um crescimento gradativo nas duas modalidades de pesquisa, sendo que, na pesquisa por tópicos, o crescimento é ainda mais acentuado, apresentando um comportamento exponencial

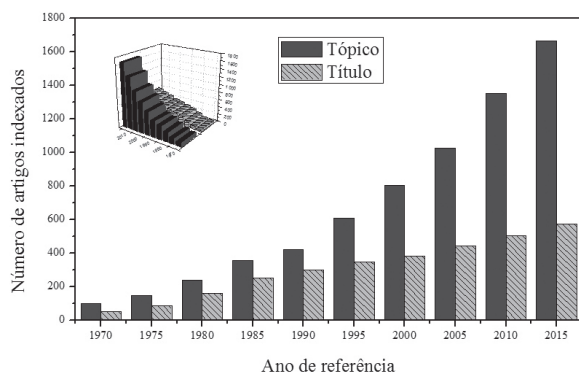


Figura 7. Evolução do número de publicações feitas nos últimos 45 anos, a partir de buscas feitas a cada quinquênio, contendo a palavra *theobromine* por tópicos e por títulos.

Na figura 8, há um gráfico para o número de publicações com a palavra teobromina nos últimos 10 anos, em que a pesquisa por título mostra um aumento muito pequeno em relação ao aumento nas publicações que citam a teobromina em tópicos.

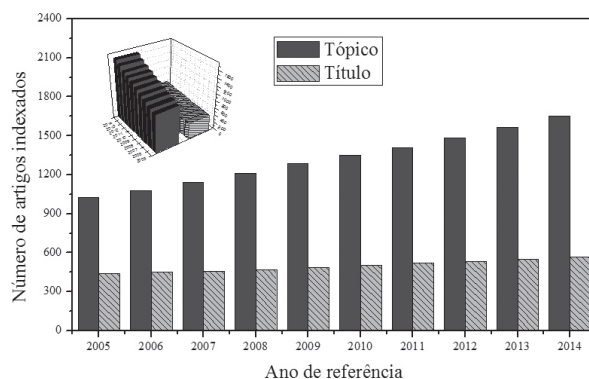


Figura 8. Evolução do número de publicações feitas nos últimos 10 anos contendo a palavra *theobromine* por tópicos e por títulos.

O resultado da pesquisa foi mostrado na Figura 9 com a palavra *theobromine* e chocolate, realizada entre os anos de 1970 e 2014 em tópico (curva sólida) e em título (curva pontilhada), em que foi feito um ajuste gráfico com funções matemáticas. Na Figura 9 (a) e na linha sólida da Figura 9 (b), as curvas são exponenciais, descritas por uma expressão do tipo $y(x)=ae^{-\alpha x}+y_0$. Na linha pontilhada da Figura 9 (b), a curva é um polinômio de quinta ordem.

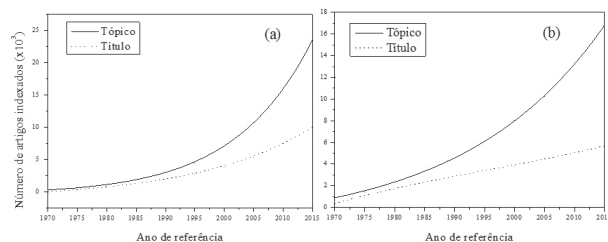


Figura 9. Ajuste matemático dos números de publicações de artigos com as palavras (a) chocolate e (b) *theobromine* nos anos entre 1970 e 2014.

Foi analisada a quantidade de periódicos publicados sobre a teobromina nas últimas décadas. Percebe-se que a maior quantidade de artigos publicados, por tópico, sobre teobromina, deu-se na última década, como pode ser observado na Figura 10. Já na busca por título, existe o maior número de artigos entre 1975 e 1984, quando o maior número de patentes também foi registrado.

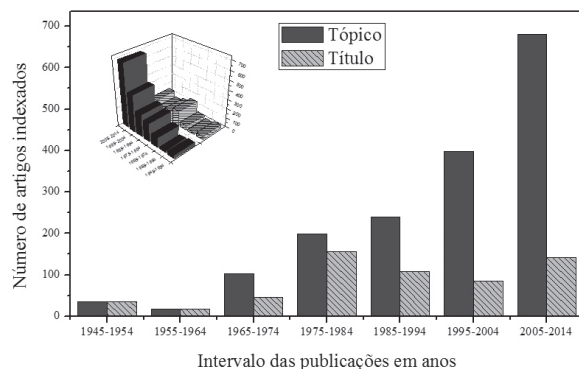


Figura 10. Evolução do número de publicações realizadas, nas últimas décadas, contendo a palavra *theobromine* por tópicos e por títulos.

De um modo geral, o interesse pela teobromina aumentou exponencialmente durante as últimas décadas, e tende a continuar aumentando, visto que em algumas áreas, pouquíssimos periódicos são encontrados. Por exemplo, em uma busca por mais tópicos, cruzando os termos *theobromine* e *ab initio*, há apenas 7 resultados, de 1945 a 2015. Em outra busca, cruzando os termos *theobromine* e *dft*, há apenas 6 artigos publicados. Se forem cruzados cruzamos *theobromine* e Car-Parrinello 0 (zero), resultados são encontrados.

A Figura 11 mostra, para pesquisas realizadas em tópico e título, o resultado para publicações de artigos entre 1975 e 2014, usando as palavras (a) *theobromine* mais chocolate e (b) *theobromine* mais *methylxanthine*. No primeiro gráfico, pode-se perceber um considerável aumento nas publicações com a palavra chocolate simultaneamente usada com *theobromine* surgindo em tópico, mas seu uso nos títulos é bem reduzido. Para palavra teobromina juntamente com a palavra *methylxanthine* ocorre um pico do seu uso em tópico entre os anos de 1995 e 2000 e praticamente não surge nos títulos dos artigos.

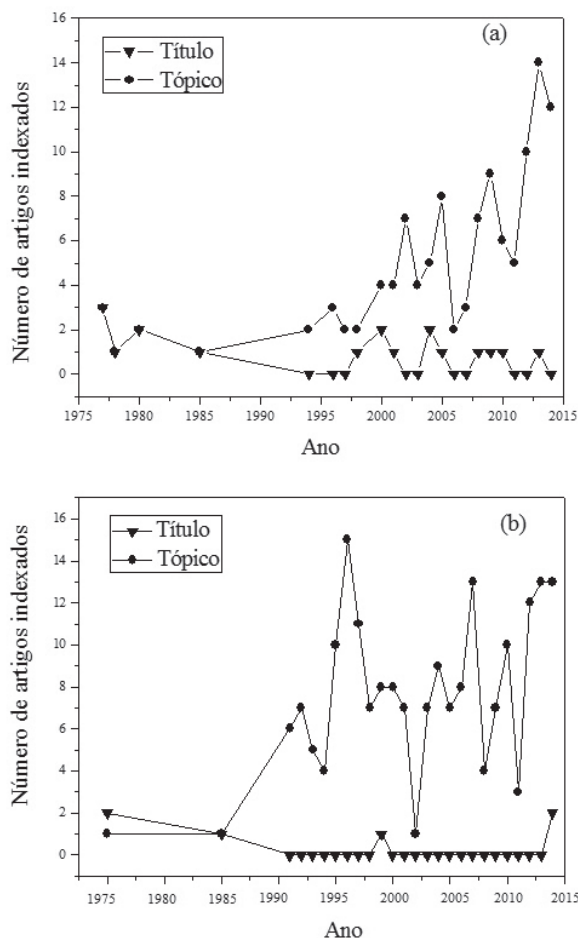


Figura 11. Números de publicações de artigos com as palavras mais (a) “theobromine” mais “chocolate” e (b) “theobromine” mais “methylxanthine” em tópico e título nos anos entre 1975 e 2014.

A Figura 12 mostra o resultado para uma busca na *Web of science* para artigos com as palavras *theobromine* e *health* (usando a ferramenta *and*) no título nos anos entre 2005 e 2014, ou seja, na última década. Pode-se observar um aumento representativo no número de artigos publicados com essas palavras no título, especialmente nos dois últimos anos. Nos anos de 2011 até 2014, depois de um decaimento neste tipo de publicação, o aumento é praticamente exponencial.

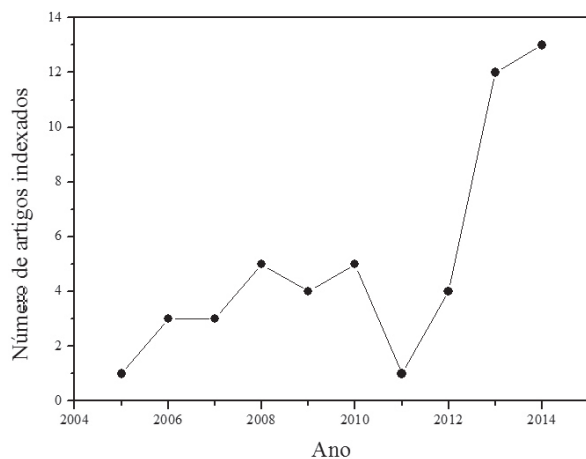


Figura 12. Números de publicações de artigos com as palavras *theobromine* e *health* no título nos últimos 10 anos.

A Figura 13 (círculos) mostra o resultado para artigos com as palavras *theobromine* mais *caffeine* no título das publicações entre 1990 e 2014. O gráfico apresenta uma busca por um período de 25 anos devido à alta frequência da ocorrência palavra cafeína. O número de artigos por ano, nos dois casos, oscila muito. O maior valor surge no ano de 2005, com oito publicações, e o menor valor nos anos de 1990, 2006 e 2012, com apenas uma publicação.

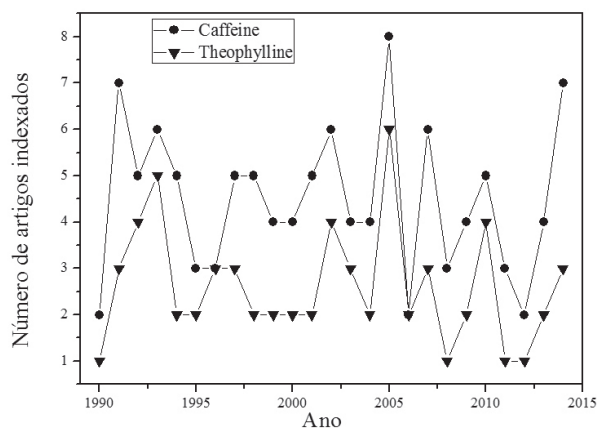


Figura 13. Números de publicações de artigos com as palavras *theobromine* e *caffeine* no título nos últimos 25 anos (círculos). Números de publicações de artigos com as palavras *theobromine* e *theophylline* no título nos últimos 25 anos (triângulos).

Pelo mesmo motivo do surgimento da palavra *caffeine* nas pesquisas, houve uma medição das publicações com as palavras *theobromine* mais *theophylline* no título dos artigos no intervalo de tempo entre os anos de 1990 e 2014 e foram mostrados os resultados na Figura 13 (triângulos). O número de artigos por ano também oscila bastante entre extremos que vão de 1 artigo publicado, nos anos de 1990, 2008, 2011 e 2012, até 6 artigos publicados no ano de 2005.

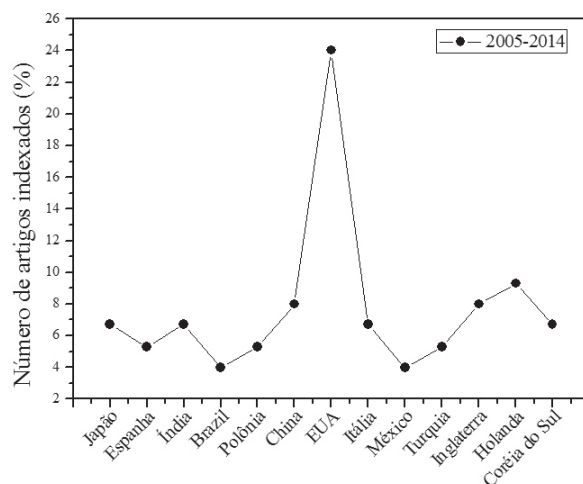


Figura 14. Números de publicações de artigos com a palavra *theobromine* no título por país de origem dos pesquisadores nos últimos 10 anos.

A Figura 15 mostra o resultado para o número de citações para artigos que apresentam a palavra *theobromina* no título para os anos entre 2005 e 2014. Pode-se observar o curioso resultado mostrado, no qual ocorre uma diminuição considerável do número de citações à medida que o tempo passa. A curva de ajuste é, na média, uma curva de decaimento exponencial. Os resultados foram obtidos no mês de março de 2015. O decaimento, em parte, pode ser justificado pelo fato de artigos publicados em anos mais distantes tiveram mais chance (e tempo) de serem lidos e citados pela comunidade científica.

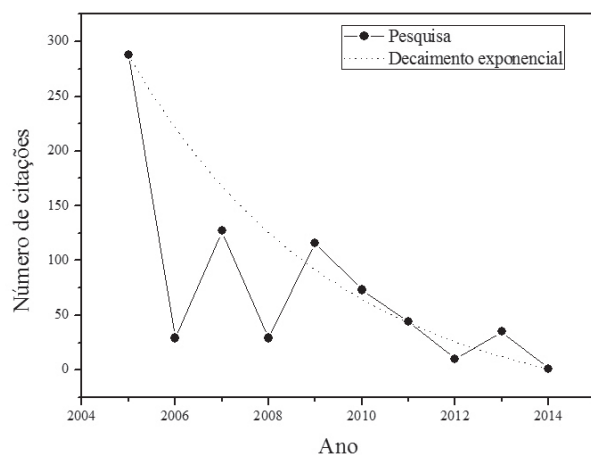


Figura 15. Número de citações para artigos com a palavra *theobromine* no título nos últimos 10 anos.

Pode-se observar na Figura 16, que apresenta o número de patentes depositadas nos últimos 10 anos, que a quantidade de patentes aumentou desde o ano de 2004, tendo seu máximo em 2011 com 14 patentes depositadas. Depois disso, esse número cai, mas volta a crescer linearmente até 2014. Os anos com o menor número de patentes depositadas são 2007 e 2010 com apenas 3 patentes.

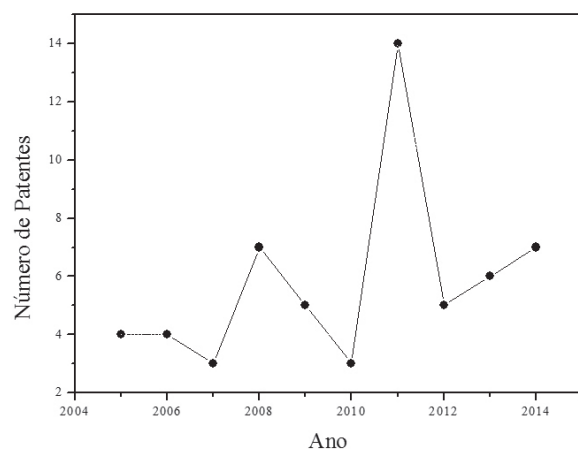


Figura 16. Número de patentes depositadas com a palavra *theobromine* no título nos últimos 10 anos.

Dos artigos mais citados, foram escolhidos aqueles com um número de citações igual ou maior do que 20 e analisadas as palavras que tiveram maior ocorrência no título. A tabela 1 mostra o resultado. Em geral, os artigos mais citados são aqueles que junto com a palavra *theobromine*, surgem também *caffeine* e *theophylline*.

Tabela 1. Palavras que mais ocorreram junto à theobromina no título dos artigos mais citados entre os anos de 2004 e 2014.

PALAVRA	OCORRÊNCIA
<i>Caffeine</i>	12
<i>Theophylline</i>	8
<i>Chromatography</i>	6
<i>Spectrometry</i>	3
<i>Human</i>	3
<i>Cocoa</i>	3
<i>Chromagaphic</i>	2
<i>HPLC</i>	2
<i>Tea</i>	2

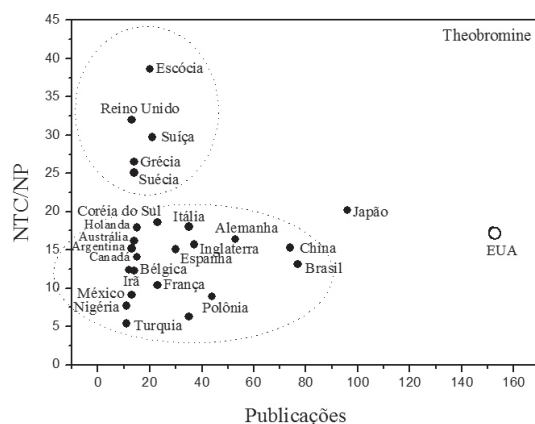
A Tabela 2 apresenta 80% do total de publicações (artigos, patentes, livros, etc.) sobre teobromina, em uma busca realizada por tópicos, para que se apresente uma visão geral do interesse nesse tema, na ferramenta de busca *Web of Science* nos últimos 20 anos (1995-2014). Nela, há o Número de Publicações (NP) feita pelos países que mais publicaram sobre teobromina, bem como o Número Total de Citações (NTC), as relações de Citações por Publicação (NTC/NP) e o Número Total de Citações por ano (NTC por ano). O indicador NTC/NP é a média de citações por artigo para cada país analisado. Apresenta-se a porcentagem com que cada país contribuiu para o total das publicações, em que 100% representa as 1080 publicações nesse período. Percebe-se que a parcela maior foi publicada pelos EUA, com 14,1% da publicação mundial, seguido pelo Japão, com 8,9%, e logo depois pelo Brasil, com 7,1%, e pela China, com 6,9%. Os países que se destacaram pelo maior número de NTC/NP, na média, foram a Escócia, com 38,6 citações por artigo, o Reino Unido, com 32,0, e a Suíça, com 29,7. Os EUA receberam o maior NTC por ano, seguido pelo Japão, pela China e pelo Brasil. Os dois últimos indicadores mostram a qualidade na pesquisa desenvolvida e a influência que esses países exercem sobre área analisada.

Tabela 2. Publicações sobre teobromina dos países mais produtivos no período de interesse.

PAÍSES	NP	%	NTC	NTC/NP	NTC POR ANO
EUA	152	14,1	2670	17,5	133,5
Japão	96	8,9	1935	20,2	96,8
Brasil	77	7,1	1011	13,1	50,6
China	74	6,9	1135	15,3	56,7
Alemanha	53	4,9	868	16,4	43,4
Índia	44	4,1	394	8,90	19,7
Inglaterra	37	3,4	583	15,7	29,1
Itália	35	3,2	629	18,0	31,4
Polônia	35	3,2	222	6,3	11,1
Espanha	30	2,8	454	15,1	22,7
Coreia do Sul	23	2,1	429	18,6	21,4
França	23	2,1	239	10,4	12,0
Suíça	21	1,9	624	29,7	31,2
Escócia	20	1,9	771	38,6	38,6
Holanda	15	1,4	268	17,9	13,4
Canadá	15	1,4	211	14,1	10,6
Grécia	14	1,3	371	26,5	18,6
Suécia	14	1,3	351	25,1	17,6
Austrália	14	1,3	227	16,2	11,4
Iran	14	1,3	172	12,3	8,6
Reino Unido	13	1,2	416	32,0	20,8
Argentina	13	1,2	198	15,2	9,9
México	13	1,2	118	9,1	5,9
Bélgica	12	1,1	149	12,4	7,4
Nigéria	11	1,0	85	7,7	4,2
Turquia	11	1,0	59	5,4	2,9

A Figura 17 mostra o NP sobre a teobromina em função da média de citações por artigo (NTC/NP) e nele é possível observar claramente quais os países que se destacam pela quantidade de publicação e de citações recebidas.

Sobre o chocolate, na base de dados *Web of Science*, nos últimos 20 anos (1995-2014), o total de publicações é de 18787 itens, sendo que apenas 6616 são artigos. Tendo em vista essa diferença, na tabela abaixo, consideram-se apenas as publicações de artigos. Como na tabela anterior, apresenta-se o Número de Artigos Publicados (NAP), feita pelos países que mais publicaram artigo sobre chocolate, bem como NTC e as relações de citações por artigo (NTC/NAP) e NTC por ano.

**Figura 17.** NTC/NP pelo número de publicações sobre teobromina no *Web of Science*.

Na Tabela 3, estão representados mais de 70% da publicação mundial total. Mais uma vez, como previsto, os EUA aparecem como primeiro colocado, com o maior número de artigos publicados, 17,4% do total de artigos. Em seguida, vem a Inglaterra, com 5,7%, o Brasil, com 4,8% e a Alemanha, com 4,3%. Os maiores valores de NTC/NP ficam com a Noruega, com 32 citações por artigo, seguida pelos EUA, com 25,7 citações por artigo, pela Finlândia com 24 e pela Inglaterra, com 23,7. Os EUA receberam o maior NTC por ANO e, na sequência, Inglaterra, Alemanha e França.

A Figura 18 mostra o NAP sobre o chocolate em função da média de citações por artigo (NTC/NAP), no qual se observa quais países se destacam pela quantidade de artigos publicados e de citações recebidas por artigo.

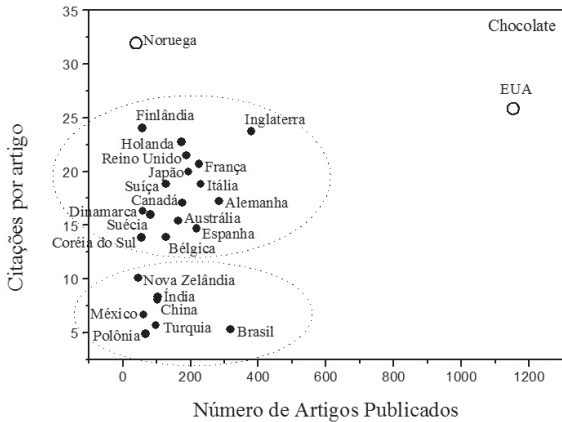


Figura 18. NTC/NAP pelo número de publicações sobre chocolate no Web of Science.

Tabela 3. Publicações de artigos sobre chocolate dos países mais produtivos no período de interesse.

PAÍSES	NAP	%	NTC	NTC/NAP	NTC POR ANO
EUA	1152	17,4	29637	25,7	1481,9
Inglaterra	380	5,7	9014	23,7	450,7
Brasil	318	4,8	1678	5,3	83,9
Alemanha	284	4,3	4894	17,2	244,7
Itália	230	3,5	4329	18,8	216,5
França	225	3,4	4655	20,7	232,8
Espanha	218	3,3	3200	14,7	160,0
Japão	194	2,9	3871	20,0	193,6
Reino Unido	188	2,8	4037	21,5	201,9
Canadá	176	2,7	3007	17,1	150,4
Holanda	173	2,6	3934	22,7	196,7
Austrália	164	2,5	2528	15,4	126,4
Suíça	128	1,9	2408	18,8	120,4
Bélgica	128	1,9	1775	13,9	88,8
Índia	103	1,6	856	8,3	42,8
China	102	1,5	822	8,1	41,1
Turquia	97	1,5	551	5,7	27,6
Suécia	82	1,2	1311	16,0	65,6
Polônia	67	1,0	325	4,9	16,3
México	61	0,9	407	6,7	20,4
Dinamarca	59	0,9	963	16,3	48,2
Finlândia	57	0,9	1370	24,0	68,5
Coreia do Sul	55	0,8	762	13,9	38,1
Nova Zelândia	45	0,7	453	10,1	22,7
Noruega	40	0,6	1279	32,0	64,0

Conclusões

Mostrou-se notório, durante o estudo cienciométrico, que o interesse da comunidade científica pela teobromina aumenta com tendência exponencial, embora, esse padrão se verifique nas curvas referentes às buscas feitas por tópicos. Nas buscas por título, o interesse pela teobromina cresce, mas de 1985 a 2015, esse crescimento é basicamente linear. Já no aumento do interesse da comunidade científica pelo chocolate, pode ser considerado que possui crescimento praticamente exponencial nas duas modalidades de pesquisa, sendo que, na busca por tópicos, evidencia-se um crescimento ainda maior, indicando um futuro promissor.

Utilizou-se a base de dados *Web of Science (Thompson ISI)* para realizar a pesquisa cienciométrica. Observa-se aumento exponencial na produção científica, na forma de artigos indexados, para o tema teobromina e chocolate. Em especial, as combinações, no título dos artigos, das palavras *theobromine* com *health*, *caffeine* e *theophylline* denotam que esses temas são comumente usados em conjunto com as pesquisa relacionadas à teobromina. Sendo que, no caso dos artigos mais citados, as palavras cafeína e teofilina são as que mais surgem no título das publicações, demonstrando que existe maior interesse da comunidade científica em pesquisas relacionadas às três substâncias simultaneamente.

Os países que se destacaram pela grande quantidade publicações sobre a teobromina foram EUA, Japão, Brasil e China, embora, a maior quantidade de citações por artigo tenha sido da Escócia, Reino Unido, Suíça e Grécia. Isso mostra que a grande quantidade de publicações sobre a teobromina não necessariamente significa qualidade de pesquisa e influência na área, já que os países com maior número de citação por artigo não são os que mais publicam.

Sobre o chocolate, a grande maioria das publicações vem dos EUA, Inglaterra, Brasil e Alemanha, mas a maior quantidade de citações por artigo é da Noruega, EUA, Finlândia e Inglaterra. No caso do chocolate, sabendo que os EUA estão no topo do *ranking* de número de publicações e ocupam o segundo lugar nas citações por artigo. Nota-se que os maiores produtores de artigos também possuem grande influência na área com um elevado número de citações por artigo. A Inglaterra também se destaca nesse sentido.

Os artigos mais antigos recebem o maior número de citações porque estão a mais tempo disponíveis e puderam assim ser mais lidos e citados. Conclui-se também que o maior número de artigos sobre teobromina não fala apenas sobre ela, mas faz um estudo em conjunto com outras metilxantinas.

Referências

- Hurst, W. J., Tarka, S. M., Powis, T. G., Valdez, F. & Hester, T. R. Cacao usage by the earliest Maya civilization. *Nature* 418, 289–290 **2002**.
- Coe, S. D. & Coe, M. D. The true history of chocolate. 280 p **1996**.
- MCNEIL, C. L. Chocolate in Mesoamerica: A cultural History of Cacao. University Press of Florida, **2009**.
- Brunetto, M. D. R. et al. Determination of theobromine, theophylline and caffeine in cocoa samples by a high-performance liquid chromatographic method with on-line sample cleanup in a switching-column system. *Food Chem.* 100, 459–467 **2007**.
- HUQ, F. Molecular Modelling Analysis of the Metabolism of Caffeine. *Asian J. Biochem.* 1, 276–286 **2006**.
- Gunasekaran, S., Sankari, G. & Ponnusamy, S. Vibrational spectral investigation on xanthine and its derivatives - Theophylline, caffeine and theobromine. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 61, 117–127 **2005**.
- Sugimoto, N., Miwa, S., Hitomi, Y. & Nakamura, H. Theobromine, the Primary Methylxanthine Found in Theobroma cacao, Prevents Malignant Glioblastoma Proliferation by Negatively Regulating Kinase, Akt / mammalian Target of Rapamycin Kinase, and Nuclear Factor-Kappa B Theobromine, the Primary Methylxan. 37–41 **2014**.
- Usmani OS, Belvisi MG, Patel HJ, Crispino N, Birrell MA, Korbonits M, Korbonits D and Barnes PJ. Theobromine Inhibits Sensory Nerve Activation and Cough. *The FASEB Journal - FJ Express* 19 (2): 231-233. **2005**.
- Grases, F., Rodriguez, A. & Costa-bauza, A. Theobromine Inhibits Uric Acid Crystallization. A Potential Application in the Treatment of Uric Acid Nephrolithiasis. 9, 1–7 **2014**.
- HOSSEINZADEH, H. and DEGHAN, R. Anti-inflammatory effects of methylxanthines in some models of acute and chronic inflammation in mice and rats. *Pharmac. Pharmacol. Lett.* 9, 18–19 **1999**.
- Azam, S., Hadi, N., Khan, N. U. & Hadi, S. M. Antioxidant and prooxidant properties of caffeine, theobromine and xanthine. *Med. Sci. Monit.* 9, BR325–R330 **2003**.
- Malathi, R. Spectral Analysis of Naturally Occurring Methylxanthines (Theophylline, Theobromine and Caffeine) Binding with DNA. 7, **2012**.
- Smit, H. J., Gaffan, E. A. & Rogers, P. J. Methylxanthines are

- the psycho-pharmacologically active constituents of chocolate. 412–419 (2004).
14. Mitchell, E. S. et al. Physiology & Behavior Differential contributions of theobromine and caffeine on mood, psychomotor performance and blood pressure. *Physiol. Behav.* 104, 816–822 **2011**.
15. Alexander, J. et al. Theobromine as undesirable substances in animal feed 1 Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain Adopted on 10 June 2008. 1–66 **2008**.
16. Giannandrea, F. Correlation analysis of cocoa consumption data with worldwide incidence rates of testicular cancer and hypospadias. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 6, 568–578 **2009**.
17. Messerli, F. H. Chocolate Consumption, Cognitive Function, and Nobel Laureates. *N. Engl. J. Med.* 367, 1562–1564 (**2012**).
18. Vanti, N. A. P. Da bibliometria à webometria: uma exploração conceitual dos mecanismos utilizados para medir o registro da informação e a difusão do conhecimento. *Ciência da Informação* 31, 369–379 **2002**.
19. Garfield, E. 'Science Citation Index' - A New Dimension in Indexing. *Science* (80-.). 144, 649–654 (1964).
20. Cawkell, A. E. *Nature*. 41–46 **1978**.
21. Oliveira, A. C. De, Dórea, J. G. & Domene, S. M. A. Bibliometria na avaliação da produção científica da área de nutrição registrada no Cibran: período de 1984-1989. *Ciência da Informação* 21, 239–242 **1992**.
22. Lima-ribeiro, S. et al. Análise cienciométrica em ecologia de populações : importância e tendências dos últimos 60 anos. **2007**.
23. Macias-Chapula, C. a. O papel da informetria e da cienciométrica e sua perspectiva nacional e internacional. *Ciência da Informação* 27, nd–nd **1998**.
24. Tague-Sutcliffe, J. An introduction to informetrics. *Inf. Process. Manag.* 28, 1–3 **1992**.

Lauriane G. Santin¹, Ricardo Gargano¹ & Solemar Silva Oliveira^{2*}

¹Instituto de Física. Universidade de Brasília. Brasília, DF.

²Ciências Exatas e Tecnológicas. Universidade Estadual de Goiás . Anápolis, GO.

*E-mail: solemar@ueg.br

Assessing Curcumin Solubility in Food-Grade Solvents

Deivis M. Carvalho, Katiuchia P. Takeuchi, Robson M. Geraldine, Celso J de Moura, Julie E. S. Carneiro & Anna Paula M. Santos

A curcumina é extraída de rizomas de açafrão (*Curcuma longa* L), usada como condimento, corante natural e tem demonstrado atividades farmacológicas. A curcumina é agente bioativo e antioxidante, mas é praticamente insolúvel em água, tendo baixa biodisponibilidade. O objetivo desse trabalho foi avaliar a solubilidade da curcumina em água, etanol, glicerol e em misturas com etanol ou glicerol em água. Para as análises de solubilidade, a curcumina em excesso foi adicionada nos solventes, homogeneizada, filtrada e, em seguida, foram determinadas as concentrações. Nos testes realizados, a curcumina apresentou maior solubilidade em glicerol e etanol do que em água e maior solubilidade em etanol do que em glicerol. As interações intermoleculares da curcumina com etanol e água e com glicerol e água proporcionaram aumento significativo da solubilidade da curcumina nas misturas dos solventes, quando comparados com a água pura. Sugere-se que soluções saturadas de curcumina em glicerol ou em etanol podem ser adicionadas em alimentos ou medicamentos de base aquosa, de modo a aumentar a concentração de curcumina solubilizada no meio.

Palavras-chave: *curcumina; solventes; solubilidade.*

Having presented pharmacological activities, curcumin is extracted from turmeric rhizomes (Curcuma longa L) and used as condiment, natural coloring. Curcumin is a bioactive agent and an antioxidant but it is practically water-insoluble, presenting thus low bioavailability. The objective of this study was to assess the curcumin solubility in water, ethanol, glycerol and mixtures with ethanol or glycerol in water. For the solubility analyses, the excess curcumin was added in the solvents, homogenized, filtered subsequently having the concentrations established. The tests conducted presented curcumin with higher solubility in glycerol and ethanol than in water and higher solubility in ethanol than in glycerol. The intermolecular interactions of curcumin with ethanol and water and with glycerol and water provided meaningful increase in curcumin solubility in the mixtures of solvents compared with pure water. Curcumin saturated solutions in glycerol or in ethanol are suggested to be added in water-based food or medicines to increase the concentration of solubilized curcumin.

Keywords: *curcumin; solvents; solubility.*

Introduction

The cultivation of saffron or turmeric (*Curcuma longa* L) has become popular in the world market, the spice is a possible alternative to synthetic colors, can be used as seasoning and presents medicinal properties¹. The curcumin extracted from turmeric rhizome is the yellow, orange compound responsible for the coloring which also presents pharmacological activity². The curcumin chemical composition in the market is commonly a mixture of three major curcuminoids (curcumin, desmethoxyl and bis-desmethoxylcurcumin) saffron-derived products in variable proportions³. The curcumin molecular formula is $C_{21}H_{20}O_6$, with molecular weight of 368.38 g.mol⁻¹. In curcumin chemical structure, the replacement of a methoxyl with a hydrogen atom originates the desmethoxylcurcumin; the replacement of both methoxyl generates the bis-desmethoxylcurcumin.

Curcumin is a powerful bioactive agent and natural antioxidant, but it is practically water-insoluble and presents low bioavailability⁴⁻⁵. It is common that a certain substance dissolves another to a limited extent. The maximum quantity of a substance at equilibrium is the substance solubility in the solvent (saturation). The reason for solubility is a natural tendency to disorder and to favor more intense forces between the substances (solute and solvent). The dissolution of a molecular substance in another is limited when molecular forces favor the state of separate substances. Similar substances are mutually soluble. Polar substances tend to solubilize polar substances, while nonpolar substances tend to solubilize nonpolar substances. Interactions such as hydrogen bounds and Van der Waals forces are also extremely important. When two substances present similar types of intermolecular forces, they tend to solubilize mutually⁶. In order to use curcumin in products and processes of both food and pharmaceutical industries, it is important to know and increase its solubility in solvents the products can receive without posing any risks to consumers' health. The objective of this study was to assess curcumin solubility in water, ethanol and glycerol as

well as the increase in solubility through mixtures in ethanol or glycerol.

Methodology

The solubility analyses were conducted in room conditioned at 25°C. The solubility was tested in 3 solvents: deionized water (pH 5.8), ethanol P.A. (99.5 %), glycerol P.A. (99.8 %) and in mixtures of water and 2.5%, 5.0% and 10.0% of ethanol or glycerol. The quantity of standard curcumin (Sigma Aldrich, Reference C1386 - 65% Curcumin and 35% other curcuminoids) added was sufficient for excess content in the solvent, exceeding the saturation point. The tests were prepared in glass vials screw cap covered with aluminum foil to avoid light exposition. After curcumin was added to the solvent, the homogenization was carried out through a vibration homogenizer (Biomixer Vortex, model QL-901) for 2 to 3 minutes; subsequently the tubes were placed in a rotating homogenizer (Phoenix, model AP32, Araraquara) for 24 hours. After homogenization, the samples were filtered in filter paper (Unifil blue C42, porosity 2.0 micrometers) at atmospheric pressure⁴. The mixtures with pure glycerol were filtered in syringe filter (Millipore, porous membrane 0.22 micrometers) due to its high viscosity⁵.

The methodology applied to establish the concentrations of solubilized curcumin was based on NBR 1362, 1996⁷ altering the stage of preparing the samples and creating a standard curve (absorbance / concentration). Reading were conducted through spectrophotometer (Biospectro, model SP-220, Curitiba). Each solvent or mixture of solvents without the solute was used "white". The samples filtered were analyzed in wave-length of 425 nm to quantify the solubilized curcumin mass for each type of solvent mixture of solvents.

The samples were prepared with 3 repetitions and the spectrophotometer reading were carried out in triplicate. The Analysis of Variance and the Tukey Test ($p \leq 0.05$) were performed to assess the difference in curcumin solubilization in distinguished types and mixture of solvents.

Results and Discussion

The standard curve (Figure 1) designed to establish the concentrations of solubilized curcumin presented a r^2 of 0.9992; the equation of straight line was $y = 0.1443x - 0.0317$.

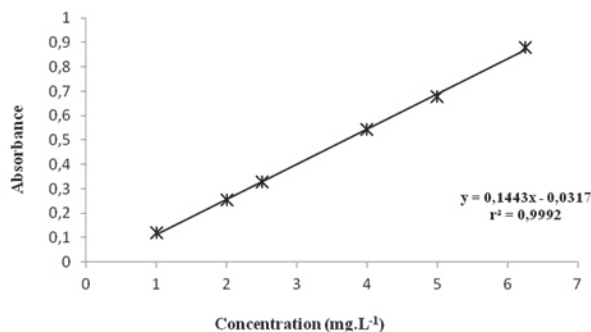


Figure 1. Curcumin standard curve, where “y” is the equation of straight line.

Meaningful difference was indicated for solubilized curcumin mass in water (1.3 mg.L⁻¹), ethanol (8895.9 mg.L⁻¹) and glycerol (45.6 mg.L⁻¹) when comparing pure solvents ($p \leq 0.05$). Pure curcumin presents a slow and low rate of dissolution in water due to its hydrophobicity generating a flowing powder in the surface dissolution area and reducing the contact area for the solvent⁵. Curcumin was 34 times more soluble in glycerol than in water, 6653 times more soluble in ethanol than in water and 195 times more soluble in ethanol than in glycerol. The use of curcumin is allowed as food additive included in the International Numbering System for Food Additives⁸⁻¹⁰ as INS 100i. We aimed at assessing curcumin solubility in solvents that can be used as food additives or ingredients, such as Glycerol (INS 422), water and ethanol. Another important factor for studies with glycerol and ethanol is that both are water-soluble. Their molecules interact with curcumin molecules and water molecules acting as dispersant due to their intermediate polarity, which enables the formation of hydrogen bonds. Probably, the presence of 3 hydrogen atoms (electronegativity) in glycerol molecule exerting intramolecular attraction on hydrogen atoms making them less available for intermolecular interactions. As the oxygen is distributed among the 3 carbon atoms,

the glycerol dipole moment is lower (0.96 Debye) than ethanol (1.69 Debye) with 1 hydrogen atom in just one extremity of the molecule, forming a more intense dipole. The more positive extremity presents hydrogen atoms probably more available to interact with other molecules. The intermolecular interactions of curcumin with ethanol and water and with glycerol and water acting as dispersant provide curcumin with increased solubility in mixtures of solvents compared with pure water (Figure 2). The mixture of water and 10% glycerol increased curcumin solubility in 72% and the mixture of water with 10% de ethanol increased curcumin solubility in 150%. The ethanol molecule has a more dipolar nature which probably provides it with better performance as curcumin dispersant in water than in glycerol.

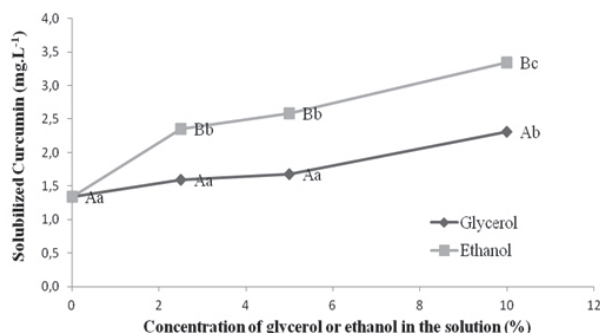


Figure 2. Concentration of solubilized curcumin in mixtures of water and glycerol or water and ethanol (mg.L⁻¹). Different letters (A, B) represent meaningful difference ($p \leq 0.05$) between glycerol and ethanol. Different letters (a, b, c) represent meaningful difference ($p \leq 0.05$) as glycerol or ethanol concentration increased.

Cretu, Dima and Bahrim also observed ethanol as most effective through studies with two groups of microemulsions with water, curcumin and vegetable oils, one group for ethanol as surfactant co-agent and another group for glycerol¹¹.

Results suggest that solutions of saturated curcumin in glycerol or ethanol can be applied in water-based food or medicines to increase the concentration of solubilized curcumin in the environment and possibly boosting its activity either as food coloring or pharmacological agent.

Conclusion

Curcumin presented higher solubility in ethanol followed by glycerol and water. The mixture of saturated curcumin and glycerol or ethanol represent meaningful increase in water solubility compared with pure curcumin in water; ethanol proved the most effective substance.

Acknowledgements

Financial support: MCT/SEBRAE/FINEP, Work Plan nº 04/2007 – cooperation ICT's/MPE's, in APL's – nº 01/2007: Potencializando o açafraão de Mara Rosa - GO.

References

1. Scartezzini, P., Speroni, E.; Journal of Ethnopharmacol **2000**, 71, 23.
2. Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U.; Current science **2004**, 87, 44.
3. Li, S., Yuan, W., Deng, G., Wang, P., Yang, P., Aggarwal, B. B.; Pharmaceutical Crops **2011**, 2, 28.
4. Modasiya, M.K., Patel, V.M. International Journal of Pharmacy & Life Sciences **2012**, 3, 1490.
5. Kaewnopparat, N., Kaewnopparat, S., Jangwang, A., Maneenaun, D., Chuchome, T., Panichayupakaranant, P.; Engineering and Technology **2009**, 31, 225.
6. Ebbing, D.D. General Chemistry. Houghton Mifflin Company: Massachusetts, **1996**. cap. 12.
7. Associação Brasileira de Normas Técnicas **1996**, NBR 1362.
8. International Food Standards **2013**, CAC/GL 36-1989.
9. International Food Standards **2013**, CAC/MISC 6-2013.
10. International Food Standards **2009**, CODEX STAN 256-2007.
11. Cretu, R., Dima, C., Bahrim, G., Dima, S.; Food Technology **2011**, 2, 46.

Deivis M. Carvalho*,
Katiuchia P. Takeuchi,
Robson M. Geraldine,
Celso J. de Moura, Julie E.
S. Carneiro, Anna Paula M.
Santos

Escola de Agronomia. Universidade Federal de Goiás. Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, GO, Brasil.

*E-mail: deivism.carvalho@gmail.com;

Aplicação da Equação do Calor em Coordenadas Cilíndricas: Cálculo da Difusividade Térmica

Mônica F. de Sousa, José S. Sales & Orlene S. da Costa

Neste trabalho, apresenta-se um método para a obtenção da difusividade térmica de um creme hidratante imerso num recipiente cilíndrico metálico com termopares colocados nas posições radiais. Para isso, foi resolvida a equação do calor em coordenadas cilíndricas, sem fonte de calor interno, considerando a propagação do calor radialmente no meio isotrópico e homogêneo, obtendo uma expressão analítica completa.

Palavras-chave: *Difusividade térmica; creme hidratante; equação do calor.*

In this paper we present a method for obtaining the thermal diffusivity of a cream moisturizer immersed in a metal cylindrical container with thermocouples placed at radial positions. For this we solve the heat equation in cylindrical coordinates without internal heat source, considering the propagation of heat radially in middle isotropic and homogeneous, obtaining a complete analytical expression.

Keywords: *thermal diffusivity; cream moisturizing; the heat equation.*

Introdução

As propriedades físico-químicas são importantes nos estudos de sólidos e líquidos que sofrem aquecimento e resfriamentos. A difusividade térmica é uma dessas propriedades que indica a velocidade com que o calor se propaga através da substância, permitindo conhecer como alguns parâmetros físico-químicos são alterados¹.

A difusividade térmica também é conhecida como a razão entre a condutividade térmica k e o produto da capacidade térmica c_p e a massa específica ρ , que mede a razão entre a capacidade da substância conduzir energia e a capacidade de acumular calor dada por²:

$$\alpha = \frac{k}{\rho \cdot c_p} \quad (1)$$

Muitos métodos são classicamente utilizados para determinação da difusividade térmica de substâncias sólidas, líquidas e pastosas, por exemplo, por meio da razão entre condutividade térmica e o produto da massa específica e calor específico reportado no artigo de SWEAT³, da fonte de calor secundária de calor, em forma de bastão acoplado a um termopar inserido no sólido e fixado em paralelo a fonte de calor principal⁴ e de observação da distribuição da temperatura no interior da amostra ou fluido durante o aquecimento ou resfriamento⁵. Citando ainda o modelo condutivo associado a um algoritmo de otimização, que calcula a soma dos quadrados residuais obtidos da comparação entre os dados experimentais e simulados⁶. Na literatura também aparece determinação da difusividade térmica de alimentos com soluções analíticas com o uso da equação do calor, por exemplo, no artigo de Markowski⁷ e no artigo de Oro⁸.

A equação da propagação do calor $U = U(r, \theta, z, t)$ em coordenadas cilíndricas é dada por⁹:

$$\frac{1}{r} \cdot \frac{\partial}{\partial r} \left(r \frac{\partial U}{\partial r} \right) + \frac{1}{r^2} \cdot \frac{\partial^2 U}{\partial \theta^2} + \frac{\partial^2 U}{\partial z^2} + \frac{\dot{q}}{K} = \frac{1}{\alpha} \cdot \frac{\partial U}{\partial t}, \quad (2)$$

sendo $\dot{q}$ a fonte de calor interna.

Detalhes Experimentais

Para o método, foi contruído artesanalmente um recipiente cilíndrico, metálico, com diâmetro de 18,30 cm, altura de 5,80 cm e espessura da parede de 0,10 cm, isolado termicamente no topo e na base, contendo creme hidratante corporal, a fim de promover a transferência de calor radialmente, regime transiente, visto na Figura 1.

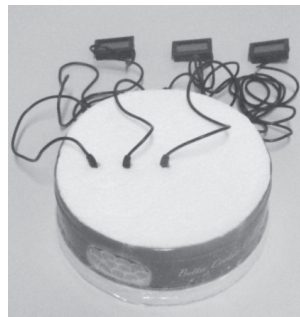


Figura 1. Recipiente metálico contendo creme hidratante corporal, isolado termicamente na base e no topo com isopor na tampa dotada de três termopares digitais na direção radial.

O conjunto metálico, creme hidratante corporal, foi colocado em um banho termostatzado, com temperatura de 40°C, mostrado na Figura 2.



Figura 2. Sistema cilíndrico de transferência radial de calor por condução, inserido em banho termostatzado, com termopares acoplados.

O binômio, tempo e temperatura, foi registrado durante 90 minutos, com intervalo de dois em dois minutos. As temperaturas foram registradas nas posições 6,10 cm, 3,05 cm e 0,00 cm, respectivamente, de acordo com a distribuição da temperatura mostrada na Figura 5.

ANÁLISE MATEMÁTICA DA TRANSFERÊNCIA DE CALOR COM CONDIÇÕES DE CONTORNO

Nesta seção, será apresentada a solução da equação do calor com as condições de contorno, de acordo com as medidas experimentais descritas, a fim de obter e apresentar um método simples para o cálculo da difusividade térmica, com a propagação do calor ocorrendo radialmente.

Considerando a substância isotrópica e homogênea, sem fonte interna de calor, e com a propagação do calor ocorrendo radialmente a equação (2), torne-se:

$$\frac{1}{r} \cdot \frac{\partial}{\partial r} \left(r \frac{\partial U}{\partial r} \right) = \frac{1}{\alpha} \cdot \frac{\partial U}{\partial t}, \quad (3)$$

Agora a distribuição de temperatura $U(r, \theta, z, t) = U(r, t)$, usando o método de separação de variáveis com $U(r, t) = R(r)T(t)$, têm-se duas equações independentes dada por:

$$\frac{1}{\alpha T(t)} \frac{\partial T(t)}{\partial t} = -\lambda^2, \quad (4)$$

cujas soluções são dadas por:

$$T(t) = A + B e^{-\lambda^2 \alpha t}, \quad (5)$$

e a outra é dada por:

$$r^2 \frac{\partial^2 R(r)}{\partial r^2} + r \frac{\partial R(r)}{\partial r} + \lambda^2 r^2 R(r) = 0, \quad (6)$$

sendo a solução em termo da série de Bessel¹⁰ dada por:

$$R(r) = J_0(\lambda r) = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n! \Gamma(n+1)} \left(\frac{\lambda r}{2} \right)^{2n}, \quad (7)$$

cujos gráficos da função de Bessel $J_0(x)$ é mostrado na Figura 3.

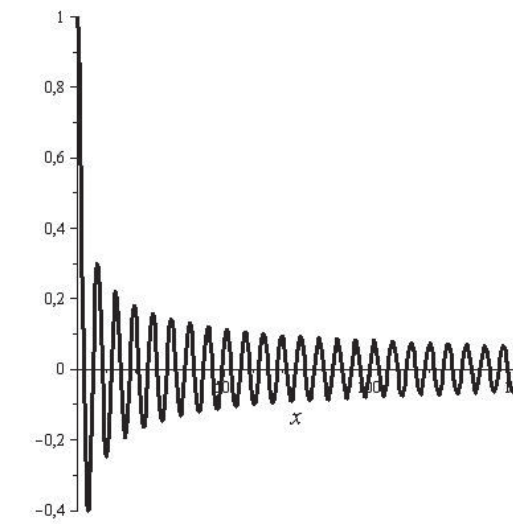


Figura 3. Gráfico da função de Bessel $J_0(x)$.

Generalizando, ou seja, fazendo $\lambda r \rightarrow \lambda_i r$, a solução geral da equação (3) pode ser escrita por:

$$U(r, t) = C_1 + \sum_{i=0}^{\infty} C_i e^{-\lambda_i^2 \alpha t} J_0(\lambda_i r), \quad (7)$$

sendo que os coeficientes C_1 e C_i foram determinados usando a condição que $t \rightarrow \infty$ a temperatura da substância é a temperatura do banho T_f ou seja,

$$U(r, \infty) = C_1 = T_f. \quad (9)$$

Mas, na condição em que a medida da temperatura na extremidade $r = a$, raio do recipiente, é também a temperatura do banho T_f para qualquer t , inclusive em $t = 0$ tem-se:

$$U(a, t) = T_f, \quad (10)$$

basta encontrar graficamente $\lambda_{1r=x_i}$, na Figura 3, as raízes da função de Bessel $J_0(\lambda_i a)$. E no instante inicial $t=0$, para qualquer posição r , tem-se que a temperatura do material é a temperatura ambiente T_m , dada por:

$$T_m - T_f = \sum_{i=0}^{\infty} C_i J_0(\lambda_i r), \quad (11)$$

usando a ortogonalidade das funções Bessel ^{11,12}, os coeficientes podem ser calculados por:

$$C_i = \frac{(T_m - T_f) \int_0^a r J_0(\lambda_i r) dr}{\int_0^a r J_0^2(\lambda_i r) dr}. \quad (12)$$

Das relações de recorrência das funções de Bessel tem-se:

$$C_i = \frac{2(T_m - T_f)}{\lambda_i a J_1(\lambda_i a)}, \quad (13)$$

portanto, a solução da equação do calor na distribuição da temperatura com a propagação radial do calor em substâncias homogêneas e isotrópicas, será dada por:

$$U(r, t) = T_f + 2(T_m - T_f) \sum_{i=0}^{\infty} \frac{e^{-\lambda_i^2 \alpha t}}{x_i J_1(\lambda_i a)} J_0(\lambda_i r), \quad (14)$$

sendo

$$J_1(\lambda r) = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n! \Gamma(n+2)} \left(\frac{\lambda r}{2}\right)^{2n+1} \quad (15)$$

Para a posição $r = 6,10$ cm, nos instantes 16 min (sólida), 30 min (pontilhada), 40 min (tracejada) e 70 min (traço-ponto), traça-se o gráfico da distribuição da temperatura $U(r, t)$ em função da difusividade α , Figura 4. Neste gráfico, com o auxílio do gráfico da distribuição de temperatura, da Figura 5, com as respectivas temperaturas, encontra-se a difusividade térmica média $\alpha_m = 1.49 \times 10^{-5} \text{ m}^2/\text{min} = 2.48 \times 10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$ do creme hidratante corporal.

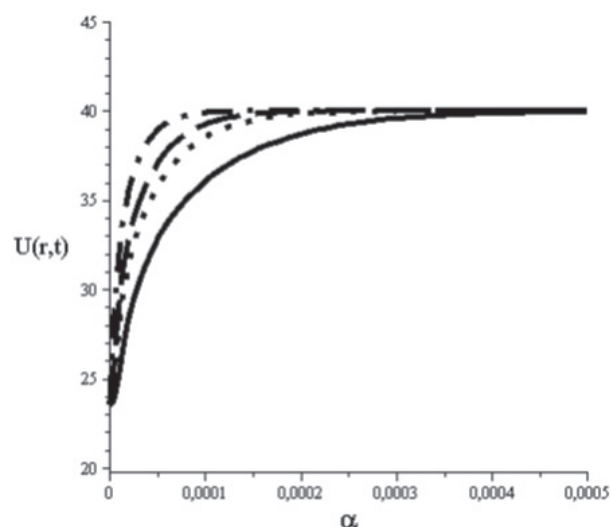


Figura 4. Distribuição da temperatura em função da difusividade para $r = 6,10$ cm nos instantes 16 min (sólida), 30 min (pontilhada), 40 min (tracejada) e 70 min (traço-ponto).

Para as posições $r = 3,10$ cm e $r = 0,0$ cm, em vários instantes, simulados os gráficos, apresentaram o mesmo comportamento.

No gráfico mostrado na Figura 5, apresenta-se também o resultado teórico (curvas sólidas), a partir da solução $U(r, t)$ da equação do calor, dada pela Equação (15), para a posição $r = 6,10$ cm (asterisco), $r = 3,05$ (cruz) cm e $r = 0,0$ cm (quadrada).

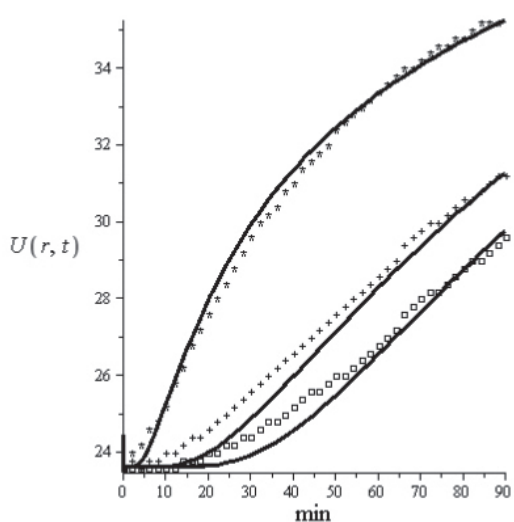


Figura 5. Distribuição da temperatura em função do tempo para $r = 6,10$ cm (asterisco), $r = 3,05$ cm (cruz), $r = 0$ (quadrada).

Conforme esperado, a difusividade térmica do creme hidratante corporal é menor que, por exemplo, a difusividade térmica do cobre, dada por $\alpha = 1153 \times 10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$, uma vez que o cobre é um melhor condutor de calor do que o creme hidratante.

Conclusão

A grande vantagem do método apresentado é a sua simplicidade de realização experimental. Medindo a temperatura em um dado instante, numa determinada posição radial da substância, colocada num cilindro imerso num banho termostatzado, considerando a substância homogênea e isotrópica, e com o auxílio da Equação (15), encontrou-se a difusividade térmica diretamente no gráfico da temperatura em função difusividade térmica. Neste, foi encontrado um valor médio da difusividade térmica de um creme hidratante corporal menor do que a difusividade térmica do cobre, como esperado, pois se considerada a mesma área e a mesma espessura, uma parede do creme aquecido, este se aquecerá mais lentamente do que o cobre na mesma condição. O desvio das curvas das distribuições das temperaturas experimentais com as curvas teóricas, na Figura 5, classicamente, é, com certeza, devido aos erros de medidas, bem como a suposição do creme utilizado ser uma substância homogênea e uma substância isotrópica.

Agradecimentos

A acadêmica, Mônica Ferreira de Sousa, agradece o suporte financeiro concedida pela Universidade Estadual de Goiás por meio do programa de bolsa de iniciação científica na modalidade PBIC/UEG.

Referências

1. Tillmann, A. R.; Ghimarães, G.; Silva, S. M. M. L.; Determinação simultânea da condutividade térmica e da difusividade térmica variando com a temperatura. In: 15° POSMEC – Simpósio do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, MG: FEMEC, **2005**.
2. Özışık, M. N.; Transferência de calor. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, **1990**.
3. Sweat, V. E. Experimental values of thermal conductivities of selected fruits and vegetables. *Journal of Food Science*, Chicago, n.39, p.1081-3, **1974**.
4. Choi, Y.; Okos, M. R. The thermal properties of liquid foods-review. II. Paper N.83-6516, **1983b**. In Proceedings of the Winter Meeting of the American Society of Agricultural Engineers. Chicago.
5. Ball, C. O. Olson, F. C. W. Sterilization in food technology. Theory, Practice and Calculation., Mc Graw Hill Book Co., New York, **1957**.
6. Carciofi, B. A. M.; Faistel J.; Aragão G. M. F.; Laurindo, J. B. J. of Food Engineering, v.55, p. 89-94, **2002**.
7. M. Markowski, I. Bialobrzewski, M. Cierachb, A. Paulo, J. B. J. of Food Engineering 65, 591–598, **2004**.
8. Oro, A. C. P., Borges B. S., Igreja, G., Moreira, M. F. P. Analise da Influencia da temperatura e da umidade na difusividade térmica efetiva da soja, In Anais do XVIII EAIC, Londrina-PR, **2009**.
9. Incropera F. P. e Witt D. P.; Fundamentos da Transferência de Calor e de Massa; Rio de Janeiro; Guanabara Koogan, **1992**.
10. E. Butkov, Física Matemática, Guanabara Dois, RJ, **1978**.
11. Pinsky, M. A., Partial Differential Equations and Boundary-Value Problems with Applications, Mc. Graw-Hill Inc., New York, **1991**, p. 174.
12. Churchill, R. V., Brown, J. W, Fouries Series and Boundary Value Problems, McGraw-Hill Book Company, New York, **1987**.

Mônica F. de Sousa, José S. Sales* & Orlene S. da Costa

Ciências Exatas e Tecnológicas. Universidade Estadual de Goiás, 75132-903, Anápolis (GO), Brasil

*E-mail: josé.sales@ueg.br

Gênero *Psidium*: Aspectos Botânicos, Composição Química e Potencial Farmacológico

Emanuelle R. B. Durães, Joelma A. M. de Paula & Plínio L. F. Naves

A família *Myrtaceae* é considerada uma das maiores famílias botânicas e o gênero *Psidium* está entre os de maior interesse econômico. Este trabalho tem como objetivo revisar aspectos botânicos, químicos e farmacológicos sobre o gênero *Psidium*. Os dados foram obtidos de artigos indexados nas bases Periódicos Capes, NCBI, Bireme e SciELO. Suas espécies podem ter folhas simples e opostas, flores solitárias, e frutos com muitas sementes. Dentre as principais propriedades farmacológicas, destacam-se as anti-inflamatórias, antimicrobianas e antioxidantes. As espécies conhecidas de maior importância econômica são: *P. guajava*, *P. cattleianum* e *P. guineense* que, por esse motivo, são as mais estudadas.

Palavras-chave: *Psidium*; composição química e atividades farmacológicas.

The *Myrtaceae* family is considered one of the largest botanical families and *Psidium* genus is among the highest economic interest. This work has as objective to review aspects botanical, chemical and pharmacological about *Psidium* genus. The data were obtained from articles indexed in databases Periodicals Capes, NCBI, Bireme and SciELO. Its species may have simple and opposite leaves, solitary flowers, and fruit with many seeds. The main pharmacological properties there are the anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant. The species among the most economically important are: *P. guajava*, *P. cattleianum* and *P. guineense* for this reason it is the most studied.

Keywords: *Psidium*; chemical composition and pharmacological activities.

Introdução

As plantas medicinais têm sido utilizadas na prevenção e cura de doenças há muitos anos. A descoberta de novos fármacos, a partir de produtos naturais, oriundos de plantas, tem papel relevante no arsenal de medicamentos utilizados no tratamento de várias doenças como, por exemplo, o câncer (KAUR et al., 2011)¹.

No Brasil, estão presentes os biomas mais ricos em diversidade vegetal do planeta, com mais de 55.000 espécies distribuídas nos seus principais biomas, incluindo um de grande diversidade, o Cerrado. No entanto, apesar desse grande potencial brasileiro, o número de espécies nativas utilizadas para produção de frutos e seus derivados ainda é limitado. Dificuldades com a domesticação, incluindo a propagação e adaptação para cultivo comercial, a natureza altamente perecível do fruto, e a falta de informação quanto a suas características físico-químicas e biológicas têm sido apontados como fatores limitantes que impedem a ampla utilização e consumo de frutas potencialmente relevantes (MEDINA et al., 2011)².

A família *Myrtaceae* é considerada mundialmente uma das maiores famílias botânicas e, de acordo com Franzon et al. (2009), ela agrupa mais de 3.600 espécies em cerca de 140 gêneros, distribuídos em todo o mundo. Na flora brasileira, representa umas das maiores famílias, a qual engloba 23 gêneros e aproximadamente 1000 espécies (SOUZA & LORENZI, 2005)⁴. Dentre todos os gêneros dessa família que englobam frutíferas, atualmente, quatro têm importância econômica: *Eugenia*, *Acca*, *Myrciaria* e *Psidium*. Esse último, portanto, ocorre em áreas sob condições de estresse abióticos constantes, incluindo água e temperaturas extremas (COELHO et al., 2004)⁵.

Essas plantas estão adaptadas a condições de estresse abiótico, fato que, dentre outras coisas, requer que seus frutos sejam potencialmente ricos em metabólitos secundários, e consequentemente possuam diversas propriedades funcionais. Espécies ricas em compostos fenólicos, ácido ascórbico e carotenos são geralmente associada com propriedades biológicas importantes, tais como o aumento da proteção contra a oxidação celular, atividade antimicrobiana e anticancerígena (MEDINA et al., 2011)².

A família *Myrtaceae* representa, portanto, uma fonte potencial em metabólitos secundários, pois muitos de seus representantes possuem frutos altamente apreciados, aplicações medicinais validadas por pesquisas científicas e são grandes produtores de óleos essenciais (SUÁREZ; ULATE; CICCIO, 2000; FERNÁNDEZ et al., 2001; GARCÍA et al., 2004; PAULA et al., 2012)^{6,8}.

Essa família apresenta uma enorme distribuição tropical, embora possua dois grandes centros de dispersão, um nas Américas e outro na Austrália (SOUZA; LORENZI, 2005)⁴. Como já citado, um dos gêneros dessa família, que apresenta grande interesse comercial e alta ocorrência no bioma Cerrado, é o *Psidium*, onde se encontram as goiabeiras (*Psidium guajava* L.) e os araçazeiros (*Psidium* spp.), espécies apreciadas por seus frutos e, cujas folhas, ricas em compostos fenólicos e óleos essenciais, são utilizadas na medicina popular para o tratamento de diarreia, dentre outras enfermidades (CAMPOS, 2010)¹⁰.

De acordo com sua distribuição nativa, o gênero *Psidium* é considerado neotropical, o qual ocorre do sul do México até a província de Buenos Aires, na Argentina, incluindo ainda o Oeste das Índias, Ilhas do Caribe, e dois arquipélagos no Pacífico, o de Galápagos e as Ilhas Revillagigedo (FRANZON et al., 2009; VIEIRA et al., 2006)^{3,11}.

No que diz respeito ao potencial medicinal dos araçás do Cerrado, recente levantamento etnobotânico aponta a utilização das folhas e dos brotos por moradores de áreas urbanas, de assentamentos e de comunidades quilombolas do Cerrado goiano para o tratamento de disenterias (CAMPOS, 2010)¹⁰.

Dados da literatura científica reforçam o potencial farmacológico de espécies de araçás, pois são registradas importantes atividades biológicas atribuídas aos frutos e folhas destas espécies, tais como: antioxidante, antimicrobiana, antiproliferativa sobre células tumorais humanas e aumento do sono induzido por cetamina em camundongos (CORRÊA et al., 2011; FAUTH et al., 2002; MEDINA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012; PATEL, 2012; VOSS-RECH et al., 2011)^{2, 12, 13, 14, 16}.

Tendo em vista a importância da etnobotânica de espécies do gênero *Psidium*, em especial ao que se refere à etnofarmacologia, o presente trabalho teve como objetivo revisar os principais aspectos botânicos,

químicos e farmacológicos descritos na literatura. Esses dados poderão subsidiar estudos multidisciplinares futuros, envolvendo espécies desse gênero e contribuirão para análise crítica da utilização pela população, com vistas à preservação dos valores culturais, à preservação das espécies vegetais nos respectivos biomas e à promoção do uso racional de espécies vegetais como recurso terapêutico.

Fontes dos Dados

Para a realização desse trabalho, buscaram-se artigos originais e revisões indexados nas bases Periódicos Capes, NCBI, Bireme e Scielo. Utilizaram-se as palavras-chave *Myrtaceae* e *Psidium*. Buscaram-se ainda dados relevantes contidos em livros nacionais e internacionais que tratam de assuntos, tais como botânica, química de produtos naturais, fitoterapia e farmacognosia. Não houve restrição no que se refere ao ano de publicação.

ASPECTOS BOTÂNICOS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO GÊNERO *PSIDIUM*

Esse gênero se caracteriza por apresentar em suas espécies: folhas simples e opostas com típica venação broquidódroma e flores solitárias, axilares ou em pequenos racemos, dicásio ou botrioides. Além disso, as flores são pentâmeras e os botões maduros variam de 4-15mm; o cálice possui morfologia variável, oscilando de cupuliforme até caliptrato e raramente apendiculado. As pétalas são livres e alternadas de cor branca ou creme, com vários estames, variando de 60 até 320, arranjados de 3 a 12 verticilos, o ovário é ínfero com 2 a 5 lóculos, com placentação intrusiva. Os frutos normalmente se desenvolvem com muitas sementes, as quais apresentam testa óssea e embrião coclear com cotilédones apicais (FRANZON et al., 2009; SOARES-SILVA, PROENÇA, 2008)^{3, 17}.

Dentre as 100 espécies desse gênero, merecem destaque os araçazeiros pela característica de seus frutos com sabor exótico e elevado teor de vitamina C. Recentemente, em pesquisa realizada na Universidade de Brasília, foi encontrada em uma das espécies de araçás (*Psidium myrsinites* DC.), uma substância usada na composição de perfumes, o linalol (FRANZON et al., 2009; PRESTES et al., 2011)^{3, 18}.

P. myrsinites, popularmente conhecido como

araçazeiro, é uma fruteira nativa do Brasil, podendo ser encontrada desde o Estado do Rio Grande do Sul, passando por Minas Gerais, até a região Amazônica. Atualmente, essa espécie está sendo muito estudada, principalmente, pelas excelentes características de seus frutos, que podem apresentar entre quatro a sete vezes mais vitamina C que as frutas cítricas. Essas características dos frutos, juntamente com a vantagem de sua precocidade de produção, começando a produzir, já no segundo ano após o plantio da muda, e sua regular resistência às doenças e pragas, tornam o araçazeiro uma nova e promissora opção de cultivo, especialmente, para os pequenos produtores rurais (WILLE et al., 2004)¹⁹.

A presença do linalol no óleo essencial de *P. myrsinites* é relevante, visto a importância desse composto como fixador para a indústria de perfumes e a possibilidade de se ter novas fontes desse produto pode vir a contribuir com o setor de óleos essenciais. O óleo essencial analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS) demonstrou a presença principalmente de sesquiterpenos como o óxido de cariofileno, β -cariofileno, β -guaiano, humuleno e viridiflorol, além de monoterpenos como o mirceno. Os presentes compostos, portanto, emprestam a essa espécie um grande potencial para ser usado em diversos setores que necessitem de aromas como na indústria de perfumes, devido à presença de compostos aromatizantes em sua composição (CASTELO et al., 2010, CASTELO et al., 2012)²⁰.

No trabalho de Medina et al (2011)²¹, ele se concentrou em determinar a composição química e o potencial funcional de acessos vermelho e amarelo de *Psidium cattleianum* Sabine (araçá ou goiaba morango) cultivadas no Sul do Brasil. No seu levantamento, os frutos de *P. cattleianum* apresentaram um teor de fenólicos totais maior do que o morango (*Fragaria ananassa* Duch.) e a uva (*Vitis vinifera* L.), e na mesma faixa da pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e da amora-preta (*Rubus* L.). Em comparação com a pitangueira ou amora, araçá é mais ácida e tem menor teor de ácido L-ascórbico, caroteno e antocianinas. Já no estudo de Moon et al (2011)³² os principais constituintes fitoquímicos, identificados na fração clorofórmica do extrato das folhas dessa espécie foram: ácido ferúlico, genisteína, 3',4',5' trimetoxi flavona, floridizina e ácido oleanólico.

O estudo demonstrou que as antocianinas totais encontradas em *P. cattleianum* vermelho foram relativamente baixas em relação à maioria das frutas vermelhas como a pitangueira. Epicatequina, seguido de ácido gálico, foram os principais compostos fenólicos presentes em todos os genótipos investigados para ambos *P. cattleianum* amarelo e vermelho.

Os frutos de *P. cattleianum* não são utilizados industrialmente, mas é comumente usado em suco ou geleia, devido a sua polpa succulenta e um sabor agradável. Eles medem entre 1,5 e 2,5 cm, de diâmetro, e têm uma grande quantidade de sementes, das quais se extrai o ácido linoleico. Este óleo é de grande interesse porque pode ser utilizado tanto para consumo humano quanto para fins industriais, como na produção de cosméticos e vernizes (KOBELNIC et al., 2012)²³.

No entanto, a pesquisa de Chalannavar et al. (2012) mostra que o *Psidium cattleianum* var. *lucidum*, espécie encontrada no Sul da África, apresentou, dentre vários outros compostos no seu óleo essencial, óxido de cariofileno, um sesquiterpeno oxigenado, o qual é considerado componente importante na maioria das espécies de *Psidium*. Este composto é considerado ainda um dos principais constituintes do óleo essencial, a partir de folhas de goiabeira de vários países como China, Cuba, Nigéria, além de ser encontrada em outras espécies levantadas pelo autor: *P. myrsinites*, *P. salutare*, *P. striatulum* e *P. guajava*.

No estudo de Yanéz et al. (2002) com a espécie *Psidium caudatum* McVaugh também foram encontrados por análise de CG, monoterpenos como componente principal da amostra de óleo essencial.

De acordo com o trabalho de Wille et al. (2004), o *Psidium acutangulum* D.C., araçá-pera, ou goiaba selvagem, como é conhecido na região do Paraná, está sendo cultivado pela Estação Experimental do IAPAR, Instituto Agrônômico do Paraná, localizada na cidade de Morretes visando ao aproveitamento comercial dos frutos no litoral paranaense e possibilitando novas oportunidades de sustento para os habitantes da região. Seu estudo baseou-se no desenvolvimento de formulações que facilitassem o processamento desse fruto.

Por ser a espécie mais estudada desse gênero, existem vários trabalhos relatando a composição química e atividade biológica de *Psidium Guajava* L.,

popularmente conhecida como goiabeira. Essa espécie apresenta grande quantidade de compostos fenólicos, carotenoides e triterpenoides (GUTIERREZ et al., 2008)²⁶, principalmente, da série ursano e oleanano, tais como: uvaol, lletatfol D, além dos ácidos oleanólico, ursólico e cratególico, 2- α -hidroxiursólico, guavanólico, ácido guavacumárico, entre outros. A espécie *P. guajava* apresenta, também, altas concentrações de flavonoides; entre eles, uma série de derivados glicosídicos de quercetina e alguns de miricetina, morina, além das agliconas leucocianidina, canferol e catequina (MORESCO, 2014)²⁷.

Recentemente, foi isolado um novo composto dessa espécie, *P. guajava*, o (+)-*Guajadial B*, um meroterpenoide isolado a partir das folhas dessa espécie colhidas no Vietnã (GAO, 2012)²⁸.

Ao analisar a fração acetato de etila da goiaba em Costa Rica (*Psidium friedrichsthalianum*), identificaram-se compostos com significativas atividades biológicas como 1-O-trans-cinamoil-BD-glucopiranosose, ácido elágico, miricetina, quercitrina, e quercetina, além de Citrato de 1,5-dimetil, o aldeído sinápico 4-O- β -D-glucopiranosose, 3,3',4-tri-O-ácido metilelágico-4'-O-D-glucopiranosídeo, e 1,3-O-diferuloilglicerol (FLORES et al., 2013)³².

Por um processo de hidrodestilação, quatro espécies de *Psidium* tiveram seus óleos extraídos e identificados em GC/MS, *Psidium acutangulum*, *P. striatulum* Mart. Ex DC, *P. guineense* Sw e *P. guajava*. Dentre tantos constituintes identificados, os principais foram: no óleo de *P. acutangulum*, α -pineno (14,8%), 1,8-cineol (12,9%) e β -pineno (10,1%); no óleo de *P. striatulum*, β -cariofileno (28,6%), α -selineno (7,7%), óxido de cariofileno (7,6%), β -selineno (7,4%) e selin-11-en-4 α -ol (6,0%); no óleo de *P. guineense* foram β -bisabolol (17,4%), limoneno (6,8%) e epi- α -bisabolol (6,7%) e no óleo de goiaba foram encontrados α -pineno (23,9%), 1,8-cineol (21,4%) e β -bisabolol (9,2%) (SILVA et al., 2003)³⁰.

Potencial Farmacológico

De acordo com Franzon et al (2009)¹¹, dentre as espécies conhecidas de *Psidium*, a de maior expressão é a *P. guajava*, a goiabeira, provavelmente pelo aproveitamento de seus frutos na fabricação de doces, geleias, sucos, consumo *in natura* e pela utilização

de suas folhas no combate a problemas de natureza gastrointestinal, como, por exemplo, para o tratamento de disenteria na infância e inflamações de boca e de garganta. Já, com menor expressão, foi destaque a *P. cattleianum* e *P. guineense*, uma vez que as duas não apresentam exploração econômica em plantios comerciais (PRESTES et al., 2011)¹⁸.

Gonçalves et al. (2008)¹⁴ demonstrou, através da técnica de difusão de disco, que o óleo essencial e o extrato metanólico de *P. guajava* apresentam importante atividade antimicrobiana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp, o que faz dessa espécie uma importante fonte de antimicrobiano.

Essa espécie foi ainda avaliada quanto a sua atividade antioxidante. Três cultivares de *P. guajava*: branco, rosa e vermelho, após avaliação, sugeriram que os extratos dos frutos de *P. guajava* são potentes varredores de radicais livres e podem ser utilizados como uma boa fonte de antioxidantes naturais para alimentos, produtos farmacêuticos, médicos e utilizações comerciais. No entanto, a atividade antioxidante e a composição química variam significativamente, de acordo com a coloração da polpa (FLORES et al., 2015)³².

Em uma outra pesquisa, porém, com a síntese de nanopartículas de prata usando extrato das folhas de *P. guajava*, essa espécie apresentou atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas, bactérias patogênicas humanas Gram-negativas, e fungos. As nanopartículas mostraram ainda habilidade proeminente para inibir os biofilmes formados por *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* o que sugere promissoras aplicações de constituintes dessa espécie em materiais de revestimentos anti-microbianos, especialmente em dispositivos cirúrgicos e implantes sintéticos (GUPTA et al., 2014)³³.

Com o intuito de avaliar a toxicidade do extrato etanólico de *P. guajava* e *P. guineense*, Sánchez & Neira (2005) realizaram testes com *Artemia salina* com a fração acetato de etila obtida do extrato etanólico dos frutos dessas duas espécies de *Psidium*, e verificaram concentrações letais moderadamente tóxicas, podendo assim ser um indicador para se orientar investigações futuras em busca de novos bioativos.

O óxido de cariofileno, identificado em várias espécies de *Psidium*, tem sido associado ainda à

atividade antimicrobiana, analgésica, anti-inflamatória e antifúngica contra dermatófitos, e ainda atividade anticâncer em ratos, além de ser bastante conhecido como um conservante em alimentos, medicamentos e cosméticos. Como os óleos essenciais são amplamente utilizados como ingrediente de sabor em uma ampla variedade de alimentos, bebidas e confeitaria, verificou-se ainda que a presença de óxido de cariofileno dominante em óleos essenciais os tornam potenciais conservantes naturais na indústria de alimentos (CHALANNAVAR et al., 2012)²⁴.

De acordo com os estudos de Moon et al (2011), a fração clorofórmica do extrato das folhas de *P. cattleianum* Sabine, ao ser avaliada com várias linhagens celulares do cancro, revelou um potencial significativo para o tratamento do câncer gástrico humano, uma vez que induziram positivamente a apoptose nas células cancerígenas testadas. *P. cattleianum* vermelho e amarelo foram testados por Medina et al. (2011) devido a sua possível atividade antioxidante, antimicrobiana e efeito antiproliferativo contra células humanas cancerígenas atribuídas à presença de compostos fenólicos.

A presença de epicatequina em alimentos, como no *P. cattleianum* pode contribuir para a redução dos riscos de desenvolver doenças cardiovasculares, devido ao seu papel na vasodilatação, diminuindo a pressão sanguínea e como um componente na atividade antioxidante, além do seu potencial antimicrobiano (KATALINIC et al., 2010; SCHROETER et al., 2005)^{35, 36}. Além disso, os polifenóis podem desempenhar um papel importante na prevenção do câncer por mecanismos genéticos, principalmente, por metilação do DNA, impedindo a modificação das histonas e regulação da expressão mRNA (LINK et al., 2010)³⁷.

Este estudo demonstrou, portanto, atividade antioxidante, antimicrobiana e antiproliferativa dos extratos dos frutos de *P. cattleianum* Sabine vermelho e amarelo. Extratos acetônicos mostraram maior atividade antioxidante, o que foi correlacionado a níveis elevados de compostos fenólicos. Os extratos aquosos e acetona demonstraram eficiência em ensaios antioxidante frente ao *Saccharomyces cerevisiae*, fornecendo proteção contra o peróxido de hidrogênio e levando à célula taxas de sobrevivência acima de 80%. Extratos de *P. cattleianum* também exibiram atividade antimicrobiana

contra bactérias patogênicas *Salmonella enteritidis*. Esses resultados revelam *P. cattleianum* como fonte de antioxidantes naturais, efeito antimicrobiano e anti-proliferativo com aplicação tanto em alimentos como na indústria farmacêutica (MEDINA et al., 2011)².

Na medicina popular, a espécie *P. myrsinites* é utilizada para cicatrização, devido a suas propriedades adstringentes e contra diarreia. No entanto, existem poucos estudos que validem suas atividades farmacológicas e elucidem a composição química dessa espécie (FRANZON et al., 2009)³. No estudo de Pereira (2010), a espécie *P. myrsinites* é relatada com três possíveis quimiotipos, ou seja, a mesma espécie apresentando óleos essenciais com variações qualitativas e quantitativas, indicando que essas espécies podem apresentar atividades distintas, bem como diferenças morfológicas. Os resultados obtidos no referido estudo indicaram que os óleos essenciais das espécies do gênero *Psidium* apresentam atividade antimicrobiana, principalmente contra as linhagens Gram-positivas.

Os efeitos terapêuticos potenciais de uma espécie de goiaba da Costa Rica (*Psidium friedrichsthalianum*) sobre doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) também foi avaliado. Em comparação com as frações hexano, clorofórmio e n-butanol, além do próprio extrato bruto dos frutos dessa espécie, a fração acetato de etila apresentou-se com maior atividade antioxidante e melhor efeito anti-inflamatório contra interleucina-8 (IL-8) e inibição de metaloproteinase de matriz-1 (MMP-1). Sendo assim, os constituintes presentes nessa fração, além de apresentarem atividade antioxidante, mostram-se como um grande potencial para o tratamento da DPOC, devido a sua capacidade em reduzir a inflamação causada pela exposição a fumaça de cigarro (FLORES et al., 2013)²⁹.

Oliveira et al. (2012) ao buscar dados de plantas nativas brasileiras, relatou importantes informações dos potenciais que esses vegetais apresentam à população consumidora. Dentre várias citadas pelo autor, as do gênero *Psidium* foram *P. cattleianum*, *P. guajava*, *Psidium guineense* Sw. e *Psidium rufum* DC (araçás). Estudos identificaram ainda atividades farmacológicas da *P. guajava* no tratamento de diabetes, uma vez que seu extrato reduziu significativamente os níveis de glicemia e o acúmulo de gordura no fígado (OWEN et al., 2008)³⁹.

Além do potencial antioxidante demonstrado pelos araçás (OLIVEIRA et al., 2012)¹⁴.

Corrêa et al. (2011) demonstraram atividade farmacológica de espécies de *Psidium*, na qual resultaram em atividade antioxidante. Sendo assim, os autores identificaram compostos presentes na goiabeira (*P. guajava*) e nos araçás (*Psidium ssp.*) responsáveis por essa atividade, tais como os compostos fenólicos, além da presença de carotenoides, como o licopeno, β -caroteno e ácido ascórbico livre.

Conclusão

As características botânicas macroscópicas descritas neste trabalho, como as referentes à disposição das folhas opostas, são facilmente visíveis presença de flores solitárias, pentâmeras, de cor branca ou creme e frutos repletos de sementes, corroboram a classificação desse gênero dentro da família Myrtaceae.

Estudos científicos respaldaram a maioria dos usos medicinais que pessoas, de diversas partes do mundo, fazem das plantas do gênero *Psidium*. Além disso, propriedades farmacológicas não referidas pela população foram também observadas em modelos experimentais. Muitas dessas ações foram atribuídas aos componentes majoritários dos óleos essenciais, na maioria, presentes nas folhas. No entanto, outros metabólitos secundários também podem contribuir para essas atividades.

As espécies mais estudadas são a *P. guajava*, *P. cattleianum* e a *P. guineense*. A composição química dos óleos essenciais dessas plantas é fundamental para determinar a atividade delas e, como muitas têm componentes em comum, também podem ter ações semelhantes. Por isso, as demais espécies, provavelmente, têm importantes ações farmacológicas que merecem ser investigadas.

Referências

1. Campos, L.Z.O. Etnobotânica do gênero *Psidium* L. (Myrtaceae) no Cerrado brasileiro. 2010. 71f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2010.
2. Castelo, A. V. M.; Del Menezzi, C. H. S.; Resck, I. S. Seasonal Variation in the Yield and the Chemical Composition of Essential Oils from two Brazilian Native Arbustive Species. *Journal of Applied Sciences*. v. 12 n. 8, p. 753-760, 2012.

3. Castelo, A. V. M.; Menezzi, C. H. S.D, Resck, I. S. Rendimento e Análises Espectroscópica (RMN ¹H, ¹³C; IV) da composição química dos óleos essenciais de quatro plantas do cerrado. CERNE, vol 16 n° 4, outubro – dezembro, **2010**, pp. 573 – 584, Universidade Federal de Lavras.
4. Chalannavar, R. K.; Narayanaswamy, V. K.; Baijnath, H.; Odhav, B. Chemical composition of essential oil of *Psidium cattleianum* var. *lucidum* (Myrtaceae). African Journal of Biotechnology. v. 11 n.33, p. 8341-8347, April, **2012**.
5. Coelho, S. G.; Hass, A. P. S.; Poser, G. L.; Schapoval, E. E. S.; Elisabetsky, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in South of Brazil. Journal of Ethnopharmacology, v. 90, p. 135-143, **2004**.
6. Corrêa, L.C.; Santos, C.A.F.; Vianello, F.; Lima, G.P.P. Antioxidant content in guava (*Psidium guajava*) and araçá (*Psidium* spp.) germplasm from different Brazilian regions. Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization, v. 9, n. 3, p. 384 - 391, **2011**.
7. Fauth, S.; Campos, A.R.; Silveira, E.R.; Rao, V.S. Efeitos de óleos essenciais de plantas no tempo de sono induzido por cetamina em camundongos. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 12, supl., p. 112-113, **2002**.
8. Fernández, A. Alvarez, A., Garcia, M. D., Saenz, M. T. Anti-inflammatory effect of *Pimenta racemosa* var. *ozua* and isolation of the triterpene lupeol. II Fármaco, v.56, p.335-338, **2001**.
9. Flores, G., Dastmalchi, K., WU, S., Whalen, K., Dabo, A. J., Reynertson, K. A., Foronjy, R. F. D'Armiento, J. M., Kennelly, E. J. Phenolic-rich extract from the Costa Rican guava (*Psidium friedrichsthalianum*) pulp with antioxidant and anti-inflammatory activity. Potential for COPD therapy. Food Chemistry. v. 141, p. 889–895, **2013**.
10. Flores, G., WU, S., Negrin, A., Kennelly, E. J. Chemical composition and antioxidant activity of seven cultivars of guava (*Psidium guajava*) fruits. Food Chemistry. v. 170, p. 327–335, **2015**.
11. Franzon, R.C.; Campos, L.Z.O.; Proença, C.E.B.; Sousa-Silva, J.C. Araças do gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrência, descrição e usos. Planaltina/DF: Embrapa Cerrados, **2009**.
12. Gao, Y., Wang, G., Wei, K., Hai, P., Wang, F., Liu, J. Isolation and Biomimetic Synthesis of (()-Guajadial B, a Novel Meroterpenoid from *Psidium guajava*. Organic Letters. v. 14, n. 23, p. 5936–5939, **2012**.
13. García, M. D., Fernández, A. Alvarez, A., Saenz, M. T. Antinociceptive and anti-inflammatory effect of the aqueous extract from leaves of *Pimenta racemosa* var. *ozua* (Mirtaceae). Journal of Ethnopharmacology. v. 91, p. 69-73, **2004**.
14. Gonçalves, F. A.; Andrade, N. M.; Bezerra, J. N. S.; Macrae, A.; Sousa, O. V.; Fonteles-Filho, A. A. Antibacterial activity of GUAVA, *Psidium guajava* Linnaeus, leaf extracts on diarrhea-causing enteric bacteria isolated from Seabob shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller). Rev Inst Med Trop S Paulo. v. 50, n. 1, p. 5-11, **2008**.
15. Gupta, K., Hazarica, S. N., Saikia, D., Namsa, N. D., Mandal, M. One step green synthesis and anti-microbial and anti-biofilm properties of *Psidium guajava* L. leaf extract-mediated silver nanoparticles. Materials Letters. v. 125, p. 67–70, **2014**.
16. Gutierrez, R. M., Mitchell, S., Solis, R. V. *Psidium guajava*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. Journal of Ethnopharmacology, v. 117 n.1, p. 1-27, **2008**.
17. Katalinic, V., Mozina, S. S., Skroza, D., Generalic, I., Abramovic, H., Milos, M., Ljubenkovic, I., Piskernik, S., Pezo, I., Terpine, P., Boban, M. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). Food Chemistry. v. 119, n. 2, p. 715–723, **2010**.
18. Kaur, R.; Kapoor, K.; Kaur, H. Plants as a source of anticancer agents. Journal Natural Product and Plant Resource, v. 1 n. 1, p. 119-124, **2011**.
19. Kobelnik, M., Cassimiro, D. L., Dias, D. S., Ribeiro, C. A., Crespi, M. S. Thermal behavior of araçá oil (*Psidium cattleianum* Sabine). J Therm Anal Calorim. V. 108. p. 1281-1286, **2012**.
20. Link, A., Balaguer, F., Goel, A. Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: Promising role for epigenetics. Biochemical Pharmacology. v. 80. p. 1771 – 1792, **2010**.
21. Medina, A.L.; Haas, L.I.R.; Chaves, F.C.; Salvador, M.; Zambiasi, R.C.; Silva, W.P.; Nora, L.; Rombaldi, C.V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial and antiproliferative effect on human cancer cells. Food Chemistry, v. 128, p. 916-922, **2011**.
22. Moon, J. Y., Mosaddik, A., Kim, H., Cho, M., Choi, H. K., Kim, Y. S., ChO, S. K. The chloroform fraction of guava (*Psidium cattleianum* sabine) leaf extract inhibits human gastric cancer cell proliferation via induction of apoptosis. Food Chemistry. v. 125, p. 369–375, **2011**.
23. Moresco, H. H. Estudo fitoquímico e biológico de quatro espécies da família Myrtaceae. **2014**. 190p. Dissertação (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
24. Oliveira, V. B., Yamada, L. T., Fagg, C. W., Brandão, M. G. L. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. Food Research International. v. 48, p. 170–179, **2012**.
25. Owen, P. L., Martineau, L. C., Caves, D., Hsddad, P. S., Matainaho, T. Consumption of guava (*Psidium guajava* L.) and noni (*Morinda citrifolia* L.) may protect betel quid-chewing Papua New Guineans against diabetes. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition. v. 17, p. 635–643, **2008**.
26. Patel, S. Exotic tropical plant *Psidium cattleianum*: a review on prospects and threats. Rev. Environ. Sci. Biotechnol., v. 11, p. 243-248, **2012**.
27. Paula, J.A.M.; Silva, M.R.R.; Costa, M.P.; Diniz, D.G.A.; Sá, F.A.S.; Alves, S.F.; Costa, E.A.; Lino, R.C.; Paula, J.R. Phytochemical analysis and antimicrobial, antinociceptive, and anti-inflammatory activities of two chemotypes of

- Pimenta pseudocaryophyllus* (Myrtaceae). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, p. 1-15, **2012**.
28. Pereira, C. K. B. Estudo químico e atividades microbiológicas de espécies do gênero *Psidium* (Myrtaceae). **2010**. 120p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular, Universidade Regional de Cariri, Cariri.
 29. Prestes, L. S.; Schuch, L. F. D.; Alves, G. H.; Santos, M. A. Z.; Rodrigues, M. R. A.; Meireles, M. C. A.; Evaluación de la actividad bactericida de aceites esenciales de hojas de guayabo, pitango y arazá. Revista Cubana de Plantas Medicinales. v.16, n.4, p. 324-330, **2011**.
 30. Sánchez, L., Neira, A. Bioensayo general de letalidad en *Artemia salina*, a las fracciones del extracto etanólico de *Psidium guajava* L. y *Psidium guineense* Sw. Cultura Científica. p. 40-45, octubre, **2005**.
 31. Schroeter, H., Heiss, C., BalzeR, J., Kleinbongard, P., Keen, C. L., Hollenberg, N. K., Sies, H., Kwik-Urbe, C., Schmitz, H., Kelm, M. (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. v. 103, n. 4, p. 1024-1029, **2005**.
 32. Silva, J. D., Luz, A. I. R., Silva, M. H. L., Andrade, E. H. A. Essential oils of the leaves and stems of four *Psidium* spp. Flavour Fragr. J. v. 18, p. 240-243, **2003**.
 33. Soares-Silva, L. H., Proença, C. E. B. A new species of *Psidium* L. (Myrtaceae) from southern Brazil. Botanical Journal of the Linnean Society. v. 158, p. 51-54, **2008**.
 34. Souza, V. C., Lorenzi, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. São Paulo: Ed. Nova Odessa. Instituto Plantarum, **2005**. 640 p.
 35. Suarez, A.; Ulate, G.; Ciccio, J. F. Hypotensive action of an aqueous extract of *Pimenta dioica* (Myrtaceae) in rats. Rev. biol. Trop. v.48, n.1, p. 53-58, **2000**.
 36. Vieira, R. F., Costa, T. S. A., Silva, D. B., Ferreira, F. R., Sano, S. M. Frutas Nativas da região Centro-Oeste do Brasil. Brasília: Embrapa recursos genéticos e Biotecnologia, **2006**. 320p.
 37. Voss-Rech, D.; Klein, C.S.; Techio, V.H.; Scheuermann, G.N.; Rech, G.; Fiorentin, L. Antibacterial activity of vegetal extracts against serovars of *Salmonella*. Ciência Rural, v. 41, n. 2, p. 314-320, **2011**.
 38. Wille, G. M. F. C.; Macedo, R. E. F.; Masson, M. L.; Stertz, S. C.; Neto, R. C.; Lima, J. M. Desenvolvimento de Tecnologia para a fabricação de doce em massa com araçá-pêra (*Psidium acutangulum* D. C.) para o pequeno produtor. Ciênc. agrotec. v. 28, n. 6, p. 1360-1366, nov./dez., **2004**.
 39. Yáñez, X.; Pinzón, M. L.; Solano, F.; Sánchez, L. R. Chemical Composition of the Essential Oil of *Psidium caudatum* McVaugh. Molecules. v. 7, p. 712 – 716, **2002**.

Emanuelle R. B. Durães*,
Joelma A. M. de Paula &
Plínio L. F. Naves

Universidade Estadual de Goiás, Programa Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde, Br 153, Km 98, Campus Henrique Santillo, CEP: 75001-970, Anápolis-Brasil

*E-mail: emanuelle.farma@gmail.com.

Avaliação da Atividade Citotóxica dos Extratos das Folhas de *Erythroxylum* Campestre (*Erythroxylaceae*) Frente às Células Sarcoma 180

Adriana G. Pereira, Antônio Carlos S. Menezes, Mirley L. dos Santos,
Tamires S. Vieira, Renato G. Santos & Elisângela P. S. Lacerda

O uso de plantas medicinais é descrito, desde os primórdios das civilizações, sendo ainda hoje uma importante fonte de recursos terapêuticos. A planta *Erythroxylum campestre* sp é pertencente ao gênero *Erythroxylum*. O interesse pelo gênero intensificou-se no século XIX, após a descoberta das atividades farmacológicas apresentadas pelas folhas de *Erythroxylum coca*. A ocorrência desse gênero é descrita em ambientes florestais e de Cerrado *sensu*. Este trabalho tem por objetivo a avaliação da atividade citotóxica das frações (hexânica, diclorometânica, acetato de etila e metanólica) das folhas de *Erythroxylum campestre* frente a células tumorais do Sarcoma 180.

Palavras-chave: *Atividade Citotóxica; Erythroxylum campestre* sp; *Sarcoma 180*.

The use of medicinal plant has been described since civilizations' first living, and it is still an important source of therapeutic resources nowadays. The plant *Erythroxylum campestre* sp belongs to the genus *Erythroxylum*. Interest in the genus has been intensified since the XIX century, after the discovery of pharmacological activities presented by the leaves of *Erythroxylum coca*. The occurrence of this genus is described in forest environments and *sensu* Cerrado (Savanna). This work aims at evaluating the cytotoxic activity of fractions (hexane, dichloromethane, ethyl acetate and methanol) from the leaves of *Erythroxylum campestre* sp regarding tumor cells of Sarcoma 180.

Keywords: *Cytotoxic activity; Erythroxylum campestre* sp; *Sarcoma 180*.

Introdução

O ser humano sempre buscou na natureza soluções para seus males¹. Dentre essas, destaca-se o uso de substâncias orgânicas provenientes de fontes naturais, como, por exemplo, de plantas, as quais têm representado para o ser humano, durante anos, a principal forma de recurso terapêutico². Tal inferência é reforçada pelo fato de que o uso dessas para o tratamento de inúmeras doenças é descrito por várias civilizações de mais de cinco mil anos, tais como as de origem chinesa, indiana e africana³.

Não obstante, no que diz respeito aos dias atuais, ressalta-se que, em média, 25% dos medicamentos prescritos em todo o mundo são obtidos direta ou indiretamente a partir de plantas. Com o intuito de enfatizar a importância do estudo de plantas, faz-se necessário mencionar que apenas entre os anos de 1981 a 2002, compostos provenientes de produtos naturais, análogos semissintéticos ou ainda compostos sintéticos baseados nos mesmos foram responsáveis por aproximadamente 49% de todas as drogas desenvolvidas⁴.

Em relação à importância das substâncias provenientes de plantas, como exemplo prático, destacam-se descoberta e aplicação da substância forskolina, extraída de *Coleus barbatus*, com vistas ao tratamento de várias doenças, tais como hipertensão, glaucoma, asma e alguns tipos de tumores⁵.

No que se refere aos tumores, popularmente conhecidos como câncer, cientificamente denominado pelo termo neoplasia, principalmente no que tange aos tumores malignos, trata-se de uma doença caracterizada pelo crescimento descontrolado de células doentes. O índice de mortalidade dessa doença tem sido considerado bastante alto, devido, primordialmente, à quantidade de tipos, cerca de 200, associado ao ataque de vários órgãos do corpo, além das dificuldades encontradas em seu tratamento, tais como complicações associadas à resistência ao medicamento, toxicidade e baixa especificidade^{6,7}.

No que concerne ao tratamento do câncer, vários outros estudos foram e têm sido desenvolvidos a partir de produtos naturais. Dentre as descobertas nesse ramo, destaca-se, o taxol, um isolado das cascas do *Taxus brevifolia*, especificamente um diterpeno, que, por sua vez, tem sido amplamente utilizado no tratamento de

vários tipos de câncer, como de ovários e pulmões^{8,9,10}.

Nesse interim, ressalta-se que a busca de novos medicamentos para o tratamento do câncer é de suma importância para a sociedade como um todo, devido ao fato da estimativa de que até 2020, o número de novos casos anuais em todo o mundo seja da ordem milhões, dos quais 60% ocorrerão em países em desenvolvimento¹¹.

Dada a devida importância supracitada às plantas, principalmente no tocante ao combate ao câncer, faz-se imprescindível que o Brasil, como um todo, por ser um dos países mais ricos em biodiversidade, faça uso apropriado dessa biodiversidade, principalmente, a vegetal, e invista cada vez mais em seu estudo fitoquímico e consequentemente farmacológico, o que, muitas vezes, não ocorre¹².

A família *Erythroxylaceae* Kunth é uma das mais representativas dos cerrados¹³. O gênero *Erythroxylum* é formado por cerca de 250 espécies¹⁴, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo que, para o Brasil, é descrita a ocorrência de aproximadamente 130 espécies, em ambientes florestais e de Cerrado *latu sensu*¹⁵. Várias espécies do gênero possuem propriedades medicinais, sendo as populares cocas (*E. coca* Lamk. e *E. novogranatense* (D.Morris Hieron.) e suas variedades as mais conhecidas e estudadas, devido à presença de alcaloides em suas folhas¹⁶.

Além disso, das espécies do gênero *Erythroxylum* que se tem registrado na literatura científica, apenas 63 foram estudadas, o que evidencia que o gênero tem sido pouco investigado¹⁷.

O interesse pelo gênero intensificou-se no século XIX, após a descoberta das atividades farmacológicas apresentadas pelas folhas de *Erythroxylum coca*¹⁴, que produzem um alcaloide natural, a cocaína, muito utilizada como anestésico local em pequenas cirurgias^{18,19}.

Devido à atividade biológica de *Erythroxylum campestre*, empiricamente conhecida como fruta-tucano, cabelo-de-negro ou coco do Paraguai, esta tem sido amplamente utilizada para diversos fins terapêuticos na medicina popular²⁰. Dentre suas aplicações, cita-se como exemplo seu uso na forma de infuso como laxante^{21,22}.

Em face dessas considerações, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade citotóxica em células de sarcoma 180 (S180) de diferentes frações obtidas das folhas de *Erythroxylum campestre* (*Erythroxylaceae*).

Materiais e Métodos

MATERIAL VEGETAL

A parte do vegetal estudada foram as folhas. A coleta do material foi feita no Campus Henrique Santillo da Universidade Estadual de Goiás, em Anápolis, GO. A identificação da planta foi feita pela Prof^a. Dra. Mirley Luciene dos Santos e sua exsicata (nº10294) foi armazenada no herbário do departamento de Ciências Biológicas da UEG. Após a coleta, o material foi selecionado e submetido à secagem em estufa ventilada a 40 °C (MA035 – Marconi).

Após a secagem, o material vegetal foi pulverizado em moinho de facas (tipo cróton Modelo MA-580), foi pesado e colocado em contato com o solvente metanólico para que se iniciasse o processo de extração exaustiva dos constituintes. Em seguida, o filtrado resultante da extração foi recolhido e o solvente orgânico evaporado em evaporador rotativo à vácuo (TECNAL-120) em uma temperatura de aproximadamente 40°C fornecendo, portanto, o extrato bruto metanólico.

PARTIÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DO EXTRATO BRUTO

Após a evaporação do solvente, o extrato bruto metanólico das folhas (ECFM) de *Erythroxylum campestre* foi solubilizado em metanol e água (1:3), a fim de que todos os constituintes se solubilizassem por completo. Em seguida, o extrato metanólico foi fracionado por partição líquido-líquido. Sendo os solventes utilizados por ordem crescente de polaridade, a citar: hexano, diclorometano e acetato de etila. Obtendo-se, assim, as frações hexânica (ECFM-H), diclorometânica (ECFM-D) e acetato de etila (ECFM-A), conforme elucidado na Figura 1.

Para a preparação do extrato hexânico (apolar), transferiu-se a solução constituída do extrato bruto, metanol e água (1:3) para um funil de separação, no qual foi adicionado hexano, obtendo-se, assim, duas fases, separadas por polaridade, além da formação de um precipitado, denominado ECFM-ppt (58,73g), sendo este separado da fase aquosa por filtração a vácuo.

Ressalta-se que o mesmo procedimento foi realizado para os demais solventes, diclorometano e acetato de etila. Sendo que, ao término dos procedimentos supracitados, todas as soluções obtidas foram submetidas

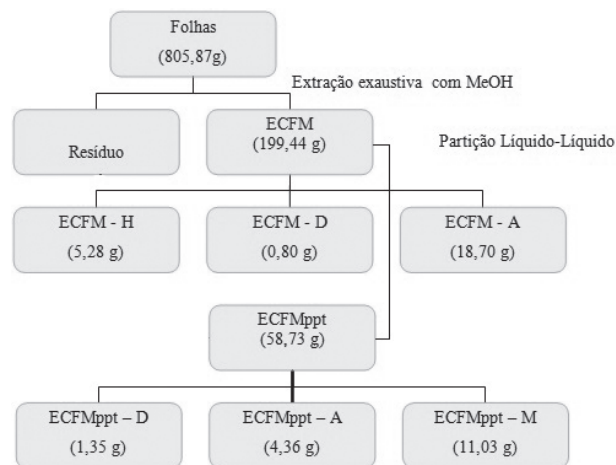


Figura 1. Obtenção das frações a partir das folhas da *Erythroxylum campestre*.

à rotoevaporação recuperando-se os solventes e obtendo-se seus respectivos extratos fracionados.

No que concerne ao precipitado obtido da solução aquosa metanólica. Este, por sua vez, foi submetido ao fracionamento por cromatografia em coluna aberta ($\varphi = 3 \text{ cm} \times h = 20 \text{ cm}$) utilizando-se celulose microcristalina D como fase estacionária e eluentes em ordem crescente de polaridade: diclorometano, acetato de etila e metanol, obtendo-se, dessa forma, as frações: diclorometânica (ECFMppt-D), acetato de etila (ECFMppt-A) e metanólica (ECFMppt-M), conforme mostrado na Figura 1.

TESTE PARA ALCALOIDES

O teste para verificação da presença de alcaloides nas frações obtidas das folhas da *Erythroxylum campestre* foi realizado por meio de cromatografia em camada delgada – CCD, utilizando-se cromatofolhas de alumínio como suporte e sílica gel 60 F254 como adsorvente. Como fase móvel, utilizou-se diclorometano / metanol 5% e o reagente Dragendorff como revelador.

PREPARAÇÃO DAS FRAÇÕES VEGETAIS E FÁRMACO CONTROLE PARA TESTE DE ATIVIDADE CITOTÓXICA *IN VITRO*

Para a avaliação da atividade citotóxica *in vitro* selecionaram-se as frações hexânica (ECFM-H) e acetato de etila (ECFM-A), bem como as frações provenientes

do precipitado (ECFMppt), sendo estas, diclorometânica (ECFMppt-D), metanólica (ECFMppt-M) e acetato de etila (ECFMppt-A). Entretanto, destaca-se que a fração diclorometânica (ECFM-D) não foi submetida a testes, devido ao seu baixo rendimento (0,8 g). Dessa forma, para cada teste, foram pesados 10 mg de cada extrato, os quais foram solubilizados em 2 mL de meio de cultura RPMI nas concentrações de 0,001 mg.mL⁻¹, 0,01 mg.mL⁻¹, 0,1 mg.mL⁻¹ e 1 mg.mL⁻¹. Como controle positivo, foi utilizado o fármaco cisplatina.

CÉLULAS DO S180

Utilizou-se a linhagem tumoral primária do S180, obtida da Coleção Americana de Cultura de Células (*ATCC, American Type Culture Collection*). As linhagens tumorais do S180 foram cedidas pelo Laboratório de Umunologia da Universidade Federal de Uberlândia ao Laboratório de Genética Molecular e Citogenética da Universidade Federal de Goiás, onde foram realizados os testes.

ENSAIO DA CITOTOXICIDADE

A atividade citotóxica das frações de *Erythroxylum campestre* foi avaliada pelo método colorimétrico MTT [3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazolium]²³, conforme descrito a seguir.

Este ensaio baseia-se na medida do dano induzido pela droga no metabolismo celular pela atividade enzimática mitocondrial das células vivas. Quando as células estão vivas, as desidrogenases mitocondriais são capazes de agir sobre substratos como o MTT levando à quebra desta molécula e à redução dela, formando, assim, o azul de formazan. Portanto, quanto maior a viabilidade celular em determinada amostra, mais azul de formazan é formado.

O azul de formazan é, então, solubilizado com dodecil sulfato de sódio (SDS) em meio ácido. Já a quantificação da inibição enzimática é realizada espectrofotometricamente, permitindo a obtenção dos valores de IC₅₀ (concentração das drogas que inibem 50% da atividade enzimática).

Para o teste de citotoxicidade, as células do S180 foram plaqueadas na quantidade de 1x10⁵, em triplicata, na microplaca de 96 poços, e incubadas por 24 e 48 horas em estufa a 37°C contendo 95% de ar e 5% CO₂. O tratamento foi feito com as frações (ECFM-H, ECFM-A, ECFMppt-A, ECFMppt-D e ECFMppt-M)

nas concentrações de 0,001 mg.mL⁻¹, 0,01 mg.mL⁻¹, 0,1 mg.mL⁻¹ e 1 mg.mL⁻¹.

Após a incubação de 24 e 48 horas, foram adicionados aos poços de cultivo celular utilizada, 10 µL de MTT na concentração de 5 mg.mL⁻¹. A placa foi novamente incubada em estufa a 37°C contendo 95% de ar e 5% CO₂ e após 3 horas foram adicionados aos poços de cultivo celular 50 µL de solução a 10% de SDS/ HCl 0,01 mol.L⁻¹ para dissolver os sais de formazan formados.

A quantificação da densidade óptica foi medida após 24h do tratamento com SDS, em espectrofotômetro (Leitor para Elisa) utilizando-se filtro de interferência de 550 nm.

Análise Estatística

A verificação das diferenças significativas entre os grupos estudados foram aplicados por meio de softwares (*GraphPad Prism* ou *SPSS*) e pela análise de variância (ANOVA).

A variabilidade ou dispersão dos dados obtidos para um determinado parâmetro foi medida através da faixa de variação ou range (diferença entre o valor máximo e o valor mínimo), desvio-padrão da média e variância. Sendo considerado como diferença estatística significativa valor de p menores que 0,05 (p<0,05).

Para o cálculo da IC₅₀, foram utilizados os dados dose-resposta (x: concentrações da droga; y: inibição de crescimento), cujos valores de y foram de 0-1. Frequentemente, a regressão linear não é um bom ajuste aos dados de dose-resposta. A resposta da curva se ajusta melhor a uma linha reta, se o eixo x é o logaritmo transformado. Esta é uma função padrão na maioria dos softwares estatísticos.

Resultados

TRATAMENTOS DE 24 HORAS

Considerando-se valores significativos percentuais acima de 30%, os dados obtidos mostraram que a fração de acetato de etila de *Erythroxylum campestre* (ECFMppt-A) testada por 24 horas não apresentou citotoxicidade significativa para as concentrações de 0,01 mg.mL⁻¹ e 0,1 mg.mL⁻¹. Já em relação à concentração de 1 mg.mL⁻¹ a citotoxicidade foi de 49,72%, conforme observado na Figura 2.

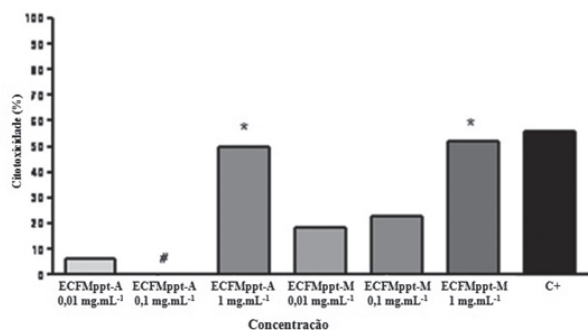


Figura 2. Atividade citotóxica da fração de acetato de etila (ECFMppt-A) e metanólica (ECFMppt-M) da folha de *Erythroxylum campestre* frente à linhagem tumoral S180 após 24 horas. C+ = cisplatina (0,05 mg mL⁻¹).

Em contrapartida, a fração metanólica de *Erythroxylum campestre* (ECFMppt-M) apresentou citotoxicidade significativa frente à linhagem de células estudadas. Os resultados mostraram um percentual de citotoxicidade de 52,21% para a concentração de 1 mg.mL⁻¹ e de 18,18% para a concentração de 0,01 mg.mL⁻¹.

Nesse sentido, infere-se, a partir das discussões dos dados obtidos, que ambas as frações com concentração de 1 mg.mL⁻¹ demonstram-se bastante promissoras, haja vista que apresentam citotoxicidade semelhante ao fármaco controle.

TRATAMENTOS DE 48 HORAS

Analisando-se os dados ilustrados na Figura 3, verificou-se que entre as frações testadas por 48 horas, a fração ECFMppt-A apresentou uma viabilidade de 56,51% para a maior concentração testada (1 mg.mL⁻¹). Contudo, tal citotoxicidade mostrou ser dose-dependente, visto que a diminuição da concentração do extrato acarretou em um aumento da viabilidade celular, sendo esta maior que o próprio controle negativo. Resultado estatisticamente significativo ($p=0,0012$), apresentando IC₅₀ de 0,301 mg.mL⁻¹. Ainda, observa-se que a menor concentração testada (0,001 mg.mL⁻¹) apresentou viabilidade de 118,9%, ou seja, evidenciando proliferação celular.

No que concerne à análise dos dados, da fração ECFMppt-M em tratamento por 48 horas, apresentados

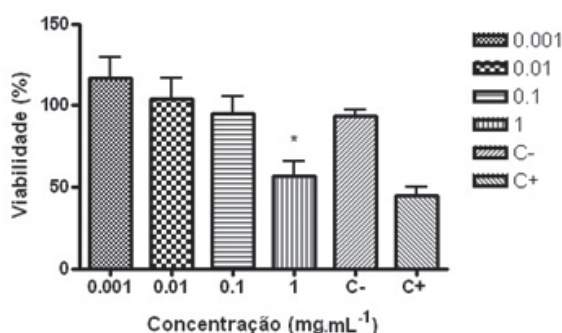


Figura 3. Percentual de Viabilidade Celular da fração de Acetato de Etila (ECFMppt-A) das folhas de *Erythroxylum campestre* frente à linhagem tumoral S180 após 48 horas.

na Figura 4, observou-se que houve viabilidade celular de 50,84% para a concentração de 1 mg.mL⁻¹ ($p=0,0003$), representando um resultado significativo quando comparado ao controle positivo, uma vez que seu percentual de inibição é equivalente ao mesmo.

Analisando-se os dados expostos na Figura 5 para a fração ECFMppt-D, verificou-se que esta apresentou viabilidade de 70,73% para a concentração de 1 mg.mL⁻¹. Entretanto, para as concentrações 0,01 e 0,001 mg.mL⁻¹ notou-se o surgimento de proliferação celular, o que remete a um resultado não significativo, ($p<0,05$).

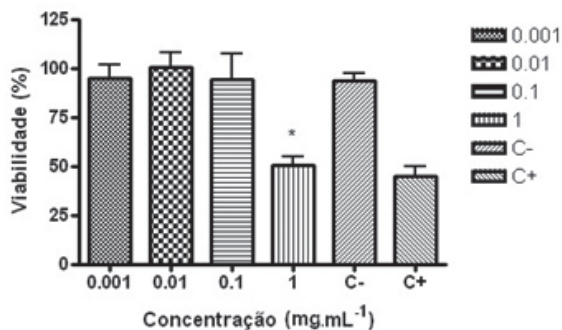


Figura 4. Percentual de Viabilidade Celular da fração ECFMppt-M das folhas de *Erythroxylum campestre* frente à linhagem tumoral S180 após 48 horas.

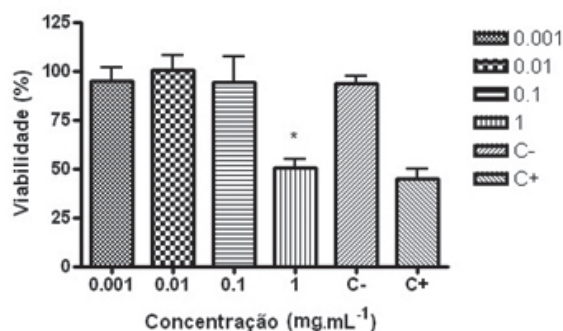


Figura 5. Percentual de Viabilidade Celular da fração ECFMppt-D das folhas de *Erythroxylum campestre* frente à linhagem tumoral S180 após 48 horas.

Em relação ao tratamento com a fração hexânica (ECFM-H), ao explorar os dados apresentados na Figura 6, observa-se que esta não mostrou atividade citotóxica para as concentrações testadas, apresentando 85,8% de viabilidade para a concentração de 1 mg.mL⁻¹ ($p < 0,05$). Resultados análogos são encontrados para as demais concentrações.

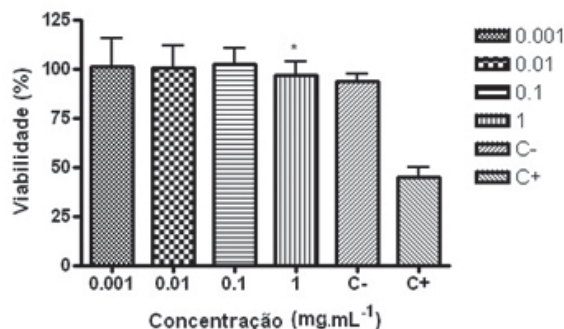


Figura 6. Percentual de Viabilidade Celular da fração ECFM-H das folhas de *Erythroxylum campestre* frente à linhagem tumoral S180 após 48 horas.

Por sua vez, a fração de acetato de etila (ECFM-A), conforme representada na Figura 7, demonstrou uma citotoxicidade mais representativa em comparação aos demais extratos na menor concentração testada (0,001 mg.mL⁻¹) ($p < 0,05$). No entanto, ao aumentar a concentração do extrato, a viabilidade também se elevou,

o que pode ser justificado pelo fato das células terem metabolizado o excesso do extrato ao perceberem sua elevada citotoxicidade, apresentando, assim, resistência. Ainda, faz-se imprescindível salientar que tais extratos apresentaram efeitos inibitórios melhores que o próprio fármaco controle.

Ademais, salienta-se que a análise dos dados supracitados também pode ser inferida a partir do estudo da Figura 8, que versa sobre a concentração inibitória dos extratos estudados. Assim como da Tabela 1, a partir da elucidação dos valores de IC₅₀. Analisando a citotoxicidade das frações *in vitro* frente ao modelo experimental utilizado, obtivemos os melhores resultados para as frações ECFMppt-A, ECFMppt-M e ECFM-A.

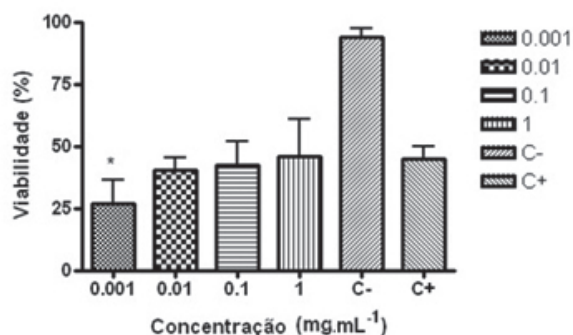


Figura 7. Percentual de Viabilidade Celular da fração de ECFM-A da folha de *Erythroxylum campestre* frente à linhagem tumoral S180 após 48 horas.

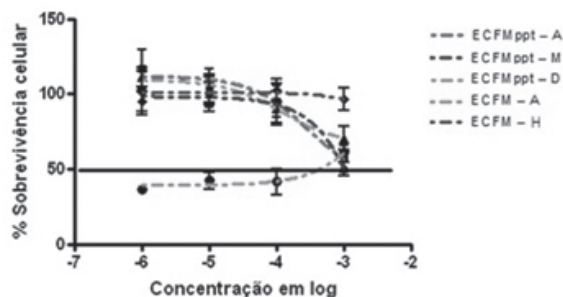


Figura 8. Curvas da IC₅₀ dos testes de 48h

Tabela 1. Atividade de citotoxicidade *in vitro* de extratos da folha de *Erythroxylum campestre* em célula tumoral S180, determinada pelo teste de MTT após 48 horas de exposição. Os valores de IC₅₀ expressão a média das triplicas e o desvio padrão.

EXTRATO BRUTO	IC ₅₀	SD
ECFMppt - A	0.30 mg.mL ⁻¹	± 0.2
ECFMppt - D	6.20 mg.mL ⁻¹	± 0.2
ECFMppt - M	0.11 mg.mL ⁻¹	± 0.2
ECFM - A	3.84 mg.mL ⁻¹	± 0.3
ECFM - H	47.68 mg.mL ⁻¹	± 0.3

Um dos responsáveis por apresentar propriedades anticarcinogênica de grande importância farmacológica são os alcaloides, e estes foram identificados por meio do teste com o agente revelador Dragendorff nas frações do extrato de acetato de etila. Assim sendo, pode-se inferir que o alto percentual de citotoxicidade observado por esse extrato é decorrente da presença destes metabólitos.

É evidente que o gênero *Erythroxylum* é detentor de um grande potencial citotóxico quando comparado a outros gêneros e, portanto, faz-se necessária uma avaliação mais ampla e detalhada de seus constituintes químicos por meio de ensaios biomonitorados, visando à busca de princípios ativos para o desenvolvimento de novos fármacos com potencialidade citotóxica frente a células tumorais.

Conclusão

Com base nos resultados supracitados, conclui-se que as frações das folhas de *Erythroxylum campestre* testadas, por meio do método de MTT, apresentam citotoxicidade variável (entre 3,96% e 56,51 %) sobre as células de Sarcoma 180. Ademais, por meio das análises estatísticas, notou-se que a fração de Acetato de Etila apresentou maior citotoxicidade, com IC₅₀ de 0,301 nos testes de 48h, enquanto as demais frações apresentaram IC₅₀>1. No que diz respeito à fração hexânica, não se observou atividade antitumoral significativa frente a células do S180. Ainda, evidenciou-se que as frações de acetato de etila apresentaram resultado positivo para o teste de alcaloides.

Referências

- Carvalho, J. E., Atividade Antiulcerogênica e Anticâncer de Produtos Naturais e de Síntese, Divisão de Farmacologia e Toxicologia. Unicamp, 07-out, **2006**.
- Hostettmann, K; queiroz, E.F; vieira, P.C. Princípios Ativos de Plantas Superiores. Série de textos da escola de Verão em Química. São Carlos. Edufscar. vol. IV, **2003**.
- Zhang, JT. New Drugs Derived from Medicinal Plants. Therapie, v. 57, p. 137-150, **2002**.
- Koehn, F. E.; carter, G.T. The evolving role of natural products in drug discovery. Nat. Rev. Drug Discovery, v. 4, n. 3, p. 206-220, **2005**.
- De Souza, N. J. Industrial development of traditional drugs: the forskolin example. A mini-review. J. Ethnopharmacol. v.38, p.177-180, **1993**.
- Almeida, V. L. et al. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo celular não específico que interagem com o DNA: uma introdução. Quím. Nova, v. 28, n.1, p. 118-129, **2005**.
- Mesquita, M. L. ; De Paula, J. E.; Pessoa, C.; De Moraes, M. O.; Costa-Lotufo, L. V.; Grougnet, R.; Michel, S.; Tillequin, F.; Espindola, L. S. Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines. J. Ethnopharmacol. v. 123, p. 439-445, **2009**.
- Kingston, D. G. I. The chemistry of taxol. Pharmacology & Therapeutics. v.52, p.1-34, **1991**.
- Horwitz, D. G. I. How to make taxol from scratch. Nature. 367, p. 593-594, **1994**.
- Corrêa, A. G. Taxol: da Descoberta ao Uso Terapêutico. Quím. Nova, v. 18, n. 5, p. 460-467, **1995**.
- Instituto Nacional do Câncer (INCA). <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home>, acessado em 30/04/2010.
- Pinto, A. C. ; Silva, D. H. S. ; Bolzani, V. S. ; Lopes, N. P. ; Epifânio, R. A.. Produtos Naturais: Atualidade, Desafios e Perspectivas. Quím. Nova, São Paulo, v. 25, n.supl1, p. 1, **2002**.
- Nakamura, A. T. Morfologia e anatomia dos frutos e sementes de três espécies de *Erythroxylum* P. Browne (Erythroxylaceae). Biota Neotropica [online], **2005**, vol.5, n.1, pp. 205-206
- Zuanazzi et al. Alkaloids of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae) species from Southern Brazil. Biochem. Syst. Ecol. 29: 819-825, **2001**.
- Amaral Junior, A. Erythroxylaceae. In Flora ilustrada catarinense (R. Reitz, ed.). Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, p. 64, **1980**.
- Bieras, A. C.; Sajo, M. D. G. Foliar ontogeny of three species of *Erythroxylum* P. Browne (Erythroxylaceae) from Cerrado. Rev. Bras. Bot. v. 27, n. 1, p. 71-77, **2004**.

17. Garcia, K. G., Lavaut, J. A. G., Guevara, J. G., González, S. P. Género *Erythroxylum*: Análisis de la Información Científica. *Acta Farm. Bonaerense*, 24 (2): 284-90, **2005**.
18. Bohm, B. A.; Ganders, F. R. & Plowman, T. Biosystematics and evolution of cultivated coca (*Erythroxylaceae*). *Syst. Bot.* p. 121-133, **1982**.
19. Griffin, W.J. & Lin, G.D. Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids. *Phytochemistry*, 53: 627-628, **2000**.
20. Barbosa, A. V. G. et al. Flora dos Estados de Goiás e Tocantins: *Erythroxylaceae*. Goiânia: Editora UFG, p. 23-73, **2001**.
21. Rodrigues, V. E. G.; Carvalho, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado do Alto Rio Grande-Minas Gerais. *Ciências Agrotécnicas*, Lavras, v.25, n.1, p. 102-123, jan./fev., **2001**.
22. Colodel, E. M. et al. Intoxicação por *Erythroxylum deciduum* (*Erythroxylaceae*) em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 24, n. 3, p. 165-168, **2004**.
23. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. v. 65, n. 1-2, p. 55-63, **1983**

Adriana G. Pereira¹, Antônio Carlos S. Menezes^{1*}, Mirley L. dos Santos¹, Tamires S. Vieira¹, Renato G. Santos¹ & Elisângela P. S. Lacerda²

¹Ciências Exatas e Tecnológicas. Universidade Estadual de Goiás. Caixa Postal 459, CEP 750001-970, Anápolis, GO, Brasil.

²Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Goiás. Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, GO, Brasil.

*E-mail: antonio.menezes@ueg.br

Caracterização Farmacobotânica das Folhas de *Eugenia Uniflora* L. (*Myrtaceae*) Coletadas em Anápolis – GO, Brasil

Paulo I. D. Assunção, José R. de Paula & Joelma A. M. de Paula

Eugenia uniflora L. (*Myrtaceae*), conhecida como pitangueira, é uma das 14 espécies do gênero, amplamente distribuídas na América do Sul. Este trabalho visou verificar a autenticidade das folhas de *E. uniflora* coletadas em Anápolis, GO. A caracterização macroscópica foi feita à vista desarmada. Para o estudo microscópico, foram realizadas secções transversais e paradérmicas, seguido da fixação e coloração. Os principais dados encontrados para diagnose foram: estômatos ao mesmo nível das células da epiderme, ausência de tricomas, ausência de hipoderme e presença de cristais do tipo drusas e organizados em série. Os dados mostram conformidade com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição.

Palavras-chave: *Morfoanatomia; Pitangueira; Estudo farmacognóstico.*

Eugenia uniflora L. (*Myrtaceae*), also known as pitangueira, is one of 14 species of the genus widely distributed in South America. This study aimed to verify the authenticity of *E. uniflora* leaves collected in Anapolis, GO. Macroscopic characterization was done with naked eye. For the microscopic study were carried out cross sections and paradermic sections, followed by fixation and staining. The main data for diagnosis were; stomata at the same level of epidermal cells, absence of trichomes, no hypodermis and arrangement of druze crystals in series. The data show compliance with the Brazilian Pharmacopoeia 5th edition.

Keywords: *Morphoanatomy; Pitangueira; Pharmacognostic study.*

Introdução

Eugenia uniflora L., popularmente conhecida como pitangueira, é membro da família *Myrtaceae*, composta por mais de 100 gêneros e 3000 espécies. Ela é uma das 14 espécies do gênero amplamente distribuída na região subtropical norte e nordeste da Argentina, Brasil, Uruguai e Paraguai¹. A árvore tem sido introduzida em outros continentes, apesar de ser nativa do Brasil e com distribuição, desde o Planalto Meridional até as restingas litorâneas do Nordeste até o Sul². A infusão das folhas é usada na medicina popular como adstringente, antidiarreico, carminativo, diurético, antireumático, antifebril, hipotensor, redutor do colesterol sanguíneo e controlador de ácido úrico na urina³.

Schapoal et al.⁴ estudando infusos e decoctos obtidos a partir de folhas frescas de *E. uniflora* comprovaram seu efeito anti-inflamatório e analgésico. Consolini et al.⁵ demonstraram a atividade anti-hipertensiva do extrato bruto das folhas em ratos normotensos. Momose et al.⁶ atribuíram atividade inibitória ao extrato bruto das folhas de *E. uniflora* sobre as enzimas α -glicosidase, maltase e sucrase, sendo, por isso, útil no tratamento de diabetes. Considerando a importância medicinal de *Eugenia uniflora* e visando contribuir com o conhecimento farmacobotânico de espécies da flora brasileira, por meio de parâmetros para testes de autenticidade, este trabalho foi elaborado com o objetivo de realizar o estudo morfoanatômico das folhas adultas de *Eugenia uniflora* coletadas na cidade de Anápolis, Goiás.

Materiais e Métodos

O material botânico constituído de folhas de *Eugenia uniflora* L. foi coletado no município de Anápolis, Goiás (16° 17' 13,8" S e 48° 57' 22,7" W) no período de julho a agosto de 2014. Foram utilizadas folhas adultas completamente expandidas, coletadas abaixo do terceiro nó. O material foi identificado pela Profa. Dra. Mirley Luciene dos Santos da Universidade Estadual de Goiás (UEG), e as exsiccatas foram depositadas no herbário desta universidade, sob registro HUEG2090.

A caracterização macroscópica das folhas foi feita

à vista desarmada e por meio de observação, segundo parâmetros descritos por Oliveira, Akisue, Akisue⁷ e Oliveira e Akisue⁸.

Para o estudo anatômico das folhas, foram utilizados fragmentos de nervura principal, região de internervura, bordo e pecíolo. Para isso, as amostras foram fixadas em FPA [formaldeído a 37%, ácido propiônico e etanol a 70% na proporção de 1:1:18 - (V/V)] por um período de 24 horas e posteriormente conservadas em etanol 70% (V/V). Foram realizadas secções transversais à mão livre dos fragmentos fixados e cortes paradérmicos das faces adaxial e abaxial de folhas frescas. Os cortes foram submetidos ao processo de dupla coloração com azul de Alcian/safranina 9:1⁹. As lâminas foram confeccionadas utilizando solução de glicerina 1:1. O registro fotográfico das estruturas anatômicas foi realizado em fotomicroscópio (ZEISS-AXIOSKOP).

Resultados e Discussão

O espécime é uma arvoreta com aproximadamente 4 metros de altura (Figura 1A), tronco liso e cilíndrico cinza amarelado (Figura 1B), com folhas simples e opostas. Durante o período de coleta das folhas, não foi possível observar flores ou frutos. De acordo com Lorenzi e Matos,² a espécie *E. uniflora* é arbustiva ou árvore semidecídua, variando entre 4 e 10 m de altura. No Cerrado brasileiro, pode ocorrer a espécie *Eugenia pitanga*, que apresenta porte arbustivo inferior a 1 m de altura, porém, as demais características morfológicas são idênticas a *E. uniflora*. As flores são de cor branca, solitárias ou em grupos de 2 a 3 nas axilas e nas extremidades dos ramos. Os rizomas tem propriedade de rebrotar sob a árvore, produzindo touceiras².



Figura 1. *E. uniflora* em seu local de coleta na cidade de Anápolis, Goiás. Aspecto geral da planta (A) e detalhe do tronco da planta (B).

As folhas apresentam entre 2 a 4 cm de largura e cerca de 4 a 7 cm de comprimento (Figura 2). O contorno foliar é lanceolado e ovado, base obtusa, são curtamente pecioladas, o pecíolo é achatado (aproximadamente 0,1 a 0,2 cm). O ápice foliar é acuminado e alguns são cuspidados, a margem é inteira e levemente sinuosa. A superfície foliar é glabra e a nervura principal é proeminente na face abaxial. Esses dados estão em conformidade com outros estudos^{2,10,11,12}. Alves et al.¹² demonstraram que pode ocorrer variação no tamanho do limbo foliar de *E. uniflora*, em função do ambiente de coleta (urbano ou rural) levando em conta a poluição como fator de interferência no desenvolvimento do vegetal.

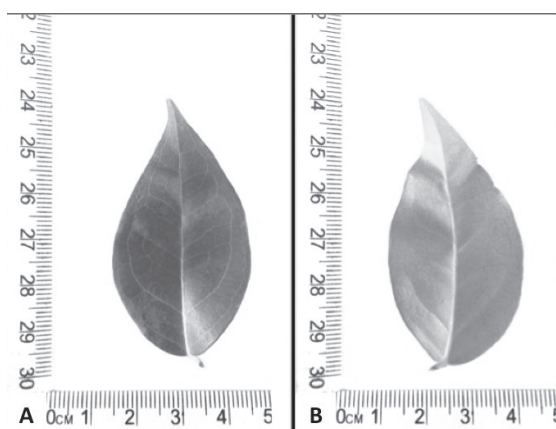


Figura 2. Folhas de *E. uniflora* em vista frontal. Face adaxial (A) e abaxial (B).

Quanto à anatomia foliar, em vista frontal, a epiderme de ambas as faces apresenta células de dimensões variadas (Figura 3) com paredes anticlinais levemente espessadas. Em ambas as faces, é possível observar a sinuosidade das paredes celulares, entretanto, isso se torna mais evidente na superfície abaxial. Foram evidenciados pares de células que acompanham as estruturas secretoras, estas, por sua vez, apresentam conteúdo típico para cada espécie pertencente à família *Myrtaceae*, sendo constituído por óleo essencial¹³. Somente na face abaxial (Figura 3B e C) foram evidenciados estômatos paracíticos (folhas hipoestomáticas), esta característica é considerada comum para as plantas terrestres onde a temperatura é mais elevada na face abaxial¹⁴. A ausência de tricomas já foi apontada anteriormente como um fator de diagnóstico na espécie *E. uniflora*¹⁵.

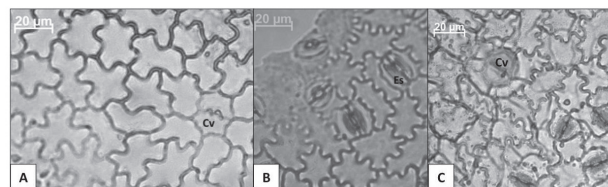


Figura 3. Folhas de *E. uniflora* em vista frontal. Face adaxial (A) e abaxial (B), Cv – cavidade secretora; Es – estômato.

Na região de internervura, em secções transversais, é possível notar os estômatos presentes ao mesmo nível das células epidérmicas (Figura 4A). Evidencia-se também epiderme unisseriada em ambas as faces, mesofilo dorsiventral, parênquima paliádico unisseriado (Figura 4B). O parênquima lacunoso apresenta até nove camadas de células, idioblastos estão presentes organizados em série, contendo cristais do tipo drusas e prismáticos. Feixes vasculares de menor calibre são biclaterais, circundados por uma bainha esclerenquimática (Figura 4C).

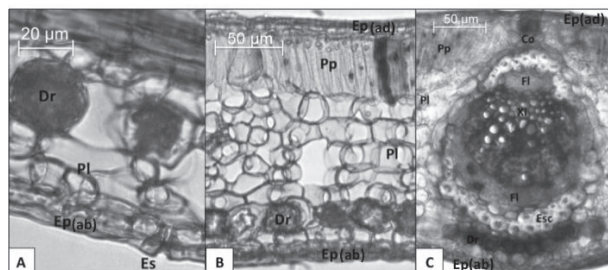


Figura 4. Região de internervura das folhas de *E. uniflora* em secção transversal. Detalhe do estômato em corte transversal (A), Mesofilo dorsiventral (B) e Feixe vascular de menor calibre (C).

Lorca, Amat e González¹⁵ apontaram a classificação do nível dos estômatos em relação às demais células epidérmicas como um dos fatores que permitiram a diferenciação entre *E. uniflora* e *E. pyriformis*. Segundo Rocha et al.¹⁶ a forma de organização dos cristais na família *Myrtaceae* pode apresentar importância diagnóstica.

No bordo foliar, em secções transversais (Figura 5), nota-se que o parênquima paliádico é gradativamente substituído por células de colênquima, o que confere maior sustentabilidade à região do bordo, e uma espessa camada de cutícula recobre as células epidérmicas. Algumas estruturas secretoras e feixes vasculares podem ser evidenciados nessa

região. Segundo Boeger e Wisniewski¹⁴ o espessamento da cutícula está relacionado com a maior retenção de água, proteção à luz solar e à ação de herbívoros.

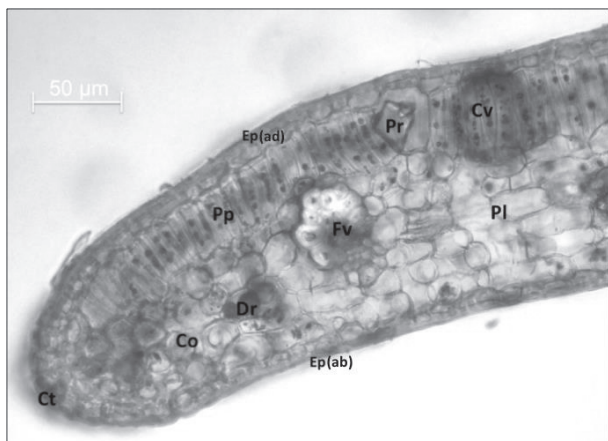


Figura 5. Região do bordo das folhas de *E. uniflora* em secção transversal. Legenda: Ct – cutícula; Co – colênquima; Dr – drusas; Pp – parênquima paliádico; Fv – feixe vascular; Pr – cristal prismático; Cv – Cavidade secretora; Pl – parênquima lacunoso; Ep(ad) – epiderme adaxial; Ep(ab) – epiderme abaxial.

A nervura principal, em secção transversal (Figura 6) apresenta formato plano-convexo, confirmando a proeminência da nervura somente na face abaxial, a epiderme é unistratificada. As células do parênquima paliádico, assim como na região de bordo, gradativamente, dão lugar ao colênquima, este pode exibir idioblastos contendo cristais. O sistema vascular é bicolateral em forma de arco aberto e envolto por uma bainha esclerenquimática que confere maior rigidez a esta região¹⁴. Segundo Donato e Morretes¹⁷, as características, como estrutura dorsiventral e sistema vascular em formato de arco, são comuns para folhas adultas da família *Myrtaceae*.

O pecíolo apresenta forma côncavo-convexa (Figura 7A), com epiderme unisseriada em ambas as faces, seguida do tecido colenquimatoso que varia de duas a três camadas de células. A região de córtex é preenchida com até onze camadas de células parenquimáticas e é abundante em cristais dos tipos drusa e prismático em praticamente todas as camadas do tecido (Figura 7B), é possível também evidenciar cavidades secretoras. O feixe vascular tem forma de arco-aberto, com as extremidades voltadas para o centro, é bicolateral e apresenta cristais organizados em série no floema (Figura 7C).

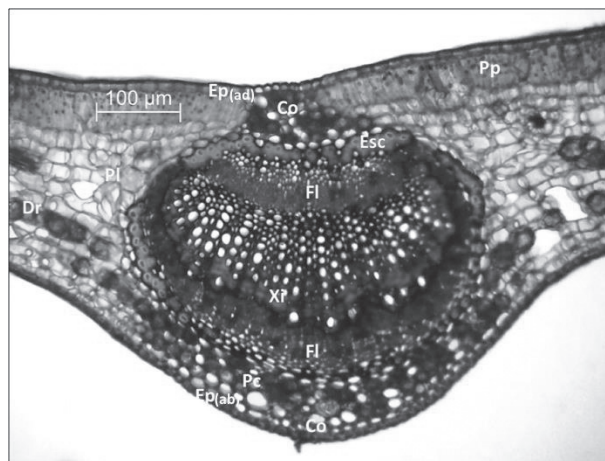


Figura 6. Região da nervura principal das folhas de *E. uniflora* em secção transversal. Legenda: Ep(ad) – epiderme adaxial; Ep(ab) – epiderme abaxial; Pp – parênquima paliádico; Co – colênquima; Esc – esclerenquima; Fl – floema; Pl – parênquima lacunoso; Dr – drusa; Xi – xilema; Pc – parênquima cortical.

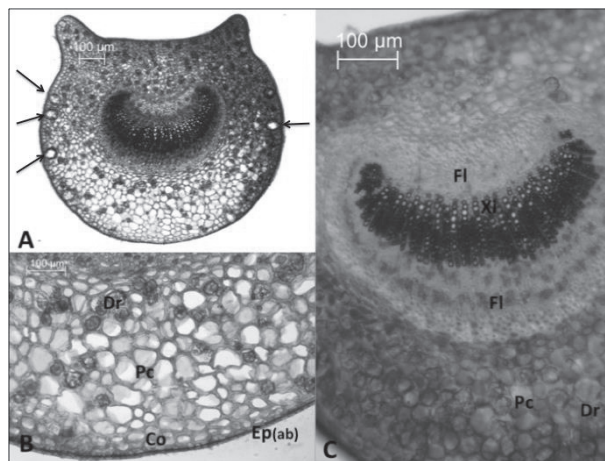


Figura 7. Região do pecíolo das folhas de *E. uniflora* em secção transversal. Vista geral do pecíolo (A), detalhe da região cortical (B) e detalhe do feixe vascular (C). Legenda: Ep(ab) – epiderme abaxial; Dr – drusa; Pc – parênquima cortical; Co – colênquima; Fl – floema; Xi – xilema. Setas indicam cavidades secretoras.

Conclusão

Os dados encontrados neste trabalho mostram-se em conformidade com a monografia da espécie *E. uniflora* na Farmacopeia Brasileira 5ª edição, além de

confirmarem muitas das características comuns à família *Myrtaceae*, tais como folhas hipoestomáticas, mesófilo dorsiventral e feixe vascular da nervura central em forma de arco. Também foi possível apontar estruturas que, quando associadas, apresentam valor de diagnose, como a presença dos estômatos ao mesmo nível das células epidérmicas, ausência de tricomas, ausência de hipoderme e disposição de cristais organizados em série na região de internervura e no floema do pecíolo.

Referências

1. Rotman, A.D. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica. **1995**, 30, 63.
2. Lorenzi, H.; Matos, F.J.A. Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas, 2a ed., Nova Odessa: São Paulo, **2008**.
3. Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. Farmacognosia da planta ao medicamento, 6a ed., Editora UFRGS: Porto Alegre, **2010**.
4. Schapoval, E.E.S.; Silveira, S.M.; Alice, C.B.; Henriques, A.T. J. Ethnopharmacol. **1994**, 31, 305.
5. Consolini, A.E.; Baldini, O.A.; Amant, A.G. J. Ethnopharmacol. **1999**, 66, 33.
6. Momose, Y.; Araujo D.S.S.; Salguiro, F.; Caldas, J.G.; Felix, D.; Margis, R. Jpn Kokai Tokkyo Koho, **2000**, 72, 770.
7. Oliveira, F.; Akisue, G.; Akisue, M. K. Farmacognosia. São Paulo: Atheneu, **1998**.
8. Oliveira, F.; Akisue, G. Fundamentos de Farmacobotânica. 2. ed. São Paulo: Atheneu, **2003**.
9. Kraus, J. E.; Arduin, M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Universidade Rural: Rio de Janeiro, **1997**.
10. Jorge, L.I.F.; Oliveira, F.; Kato, E.T.M.; Oliveira, I. Lecta. **1994**, 2, 103.
11. Dias, C.N.; Rodrigues, K.A.F.; Resplandes, S.M.; Aguiar, L.R.; Amaral, F.M.M.; Moraes, D.F.C. Rev. Ciênc. Saúde. **2012**, 14, 95.
12. Alves, E.S.; Tresmondi, F.; Longui, E.L. Acta bot. bras. **2008**, 22, 241.
13. Donato, A.M.; Morretes, B.L. Rev. bras. Farmacog. **2007**, 17, 426.
14. Boeger, M.R.T.; Wisniewski, C. Rev. bras. bot. **2003**, 26, 61.
15. Lorca, G.G.; Amat, A.G.; González, C. Acta Farm. Bonaerense. **1995**, 14, 81.
16. Rocha, L.D.; Preussier, K.H.; Pegorini, F.; Farias, V.; Maranhão, L.T. Acta bot. bras. **2008**, 22, 1114.
17. Donato, A.M.; Morretes, B.L. Rev. bras. Planta med. **2011**, 13, 43.

Paulo I. D. Assunção^{1*}, José R. de Paula² & Joelma A. M. de Paula¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde. Universidade Estadual de Goiás. Anápolis, GO.

²Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO.

*E-mail: pauloisaac.da@gmail.com.

Determinação de Inibidores de Degradação em Polietileno de Alta Densidade (PEAD) Através da Extração por Micro-Ondas e Análise via HPLC

Augusto O. Cardoso

A extração e subsequente separação e quantificação de substâncias que retardam o processo de degradação no Polietileno de Alta Densidade (PEAD), denominadas como aditivos, têm provado ser um desafio para os químicos. Existem alguns métodos que utilizam o refluxo com solventes específicos para esta extração, assim como energia sônica, forno de micro-ondas, extração com fluido supercrítico, apenas para citar os mais utilizados. Recentemente foi lançado no mercado um digestor que utiliza micro-ondas, normalmente, usado em sínteses orgânicas, mas que também pode ser utilizado nas extrações de aditivos em polímeros. Por ser uma técnica nova, na literatura praticamente não existem publicações científicas a respeito do seu uso para a extração de aditivos em PEAD, embora para polipropileno e polietileno linear já existam métodos consagrados para esta finalidade. Foi obtida uma boa condição para a extração de irganox 1010, irganox 1076 e irgafos 168 fosfito e fostato em 30 minutos, com subsequente separação em corrida de oito minutos, utilizando HPLC com fase reversa, coluna C18 e fase móvel isocrática composta por acetonitrila e metanol. Salientamos que, apesar de terem sido determinadas condições ótimas de extração, não significa afirmar que sejam as únicas possíveis. Certamente existirão outras combinações de parâmetros que trarão boas taxas de recuperação destes aditivos em PEAD.

Palavras-chave: *Rede Organizacional; Capital Intelectual; Método Multicritério.*

The extraction and subsequent separation and quantitation of the substances that inhibit de degradation process in Polyethylene of High Density (PEHD), classified as Additives, has proven to be a challenge for the chemist. Some methods have been used such as Reflux with specifics solvents, sonication, microwaves, super critic conditions among others. Recently was introduced in the market a Digestor that uses microwaves, normally used in organic synthesis, but with chances to be used for the extractions as well. As a new technique in the literature it is almost impossible to find articles about this subject for extraction of additives in PEHD, although for the extraction in the linear PE and PP can be found some publications. It was determined a good way to extract Irganox 1010, Irgafos 168 and Irganox 1076 in only 30 minutes with subsequent analysis by HPLC with reverse phase, C18 column and the isocratic condition using Acetonitrile and Methanol. Must be emphasized that although it was found a good condition for the extraction and the analysis of additives in PEHD, for sure, that is not the only way of dealing with job in PEAD.

Keywords: Organizational Network; Intellectual Capital; Multicriteria Methods.

Introdução

A análise de aditivos em Polietileno de Alta Densidade, PEAD, é uma atividade bastante complexa, devido à dificuldade da sua extração nesta matriz. O refluxo com apenas ciclo-hexano é muito usado, mas na técnica de micro-ondas, ele não é eficiente se for utilizado sozinho.

A extração de aditivos pode ser feita por refluxo de solvente aquecido (Soxhlet), ultrassom, fluido supercrítico, micro-ondas, etc. Neste estudo, os antioxidantes foram extraídos por dissolução em solvente, utilizando energia sônica, em aparelho comercialmente conhecido como Discover-SP.

Na maioria das poliolefinas, são adicionados aditivos que podem ser classificados como antioxidantes, estabilizadores UV, plastificantes, etc. Estes têm a finalidade de estabilizar o polímero, retardando as reações de degradação pela ação dos raios ultravioleta, calor, reações com o oxigênio ou até mesmo para modificar algumas de suas propriedades. Essas substâncias são adicionadas logo após a extrusão, para que haja redução na formação de aldeídos, cetonas, assim como, o desenvolvimento de coloração no produto.

A recuperação desses aditivos, em níveis superiores a 90%, é desejável para que se tenha um processo eficiente de quantificação da aditivação. Foi selecionada e moída uma amostra de PEAD para a realização dos ensaios. Na Tabela 1, estão mostrados os aditivos estudados neste trabalho.

Os polímeros não seriam capazes de atender às diversas demandas, se não houvesse a adição de aditivos em sua estrutura. Sem a sua incorporação, alguns polímeros degradariam, oxidariam, ficariam quebradiços, perderiam ou desenvolveriam cor, perderiam peso molecular com o tempo, devido à oxidação, calor, radiação, exposição a metais ou produtos químicos. Polímeros do tipo polietileno são bastante suscetíveis à oxidação pelo ar atmosférico.

Tabela 1. Alguns antioxidantes utilizados em poliolefinas.

ADITIVO	NOME QUÍMICO
Irgafos 168	Tris (2,4-di-t-butylphenyl phosphite)
Irganox 1010	Tetrakis methylene (3,5-di-t-butyl-4-hydroxyhydrocinnamate) methane
Irganox 1076	Octadecyl-3-(3,5-di-t-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate

Os aditivos melhoram a *performance* e a estabilidade de muitas resinas. A maneira pela qual eles trabalham depende da classe do aditivo. Existem no comércio inúmeros aditivos sendo os mais comuns os antioxidantes primários e secundários, os retardantes de chama, neutralizadores de radicais ácidos e agentes de nucleação.

Radicais livres são gerados quando estes polímeros são expostos ao calor, radiação ultravioleta, esforço mecânico ou contato com impurezas metálicas. Estes radicais livres são extremamente reativos e podem promover a produção de mais radicais desse tipo e, a partir disso, pode ser desenvolvida uma série de reações em cadeia.

Aditivos em Polímeros

Oitenta por cento de todos os plásticos utilizados no mundo são termoplásticos. Na indústria alimentícia usualmente são utilizados o poliestireno, o polietileno e o cloreto de polivinila. Aditivos são introduzidos nesses polímeros para melhorar as suas propriedades mecânicas, estabilidade térmica, entre outras. Entretanto, tem sido reportado na literatura que a utilização destes aditivos pode gerar efeitos adversos na saúde humana e no meio ambiente (Groschalude, 1999; Lacaze, 1993)^{1,2}. Já os antioxidantes secundários evitam a formação de mais radicais livres, através da decomposição de hidroperóxidos, antes que eles sofram uma cisão homolítica. Nesse caso, há a decomposição desses hidroperóxidos, formando produtos estáveis³⁻¹⁰.

São constituídos por moléculas contendo fósforo trivalente, que sofrem reações de hidrólise para estabilizar o polímero, tais como o irgafos 168. Importante haver um método rápido e preciso para analisar estes aditivos que são incorporados às poliolefinas.

Existem dois tipos de antioxidantes: os primários e os secundários. Os primários são definidos como os aditivos que interceptam e estabilizam os radicais livres através da doação de um átomo de hidrogênio ativo. Eles são doadores de prótons, constituídos por moléculas, contendo o grupo fenol na sua estrutura, por exemplo, o irganox 1010 e o irganox 1076. As suas estruturas e os respectivos espectros podem ser vistos nas Figuras 2 e 3. Eles trabalham muito bem sem a presença de outros aditivos. Radicais fenólicos ramificados e os de aminas

aromáticas ramificadas, representam os dois principais tipos de antioxidantes primários.

A Tabela 1 apresenta alguns deles. Os mecanismos de ação dos radicais fenólicos ramificados e dos amins são diferentes, sendo que os fenólicos são os mais utilizados.

Já os antioxidantes secundários evitam a formação de mais radicais livres através da decomposição de hidroperóxidos antes que eles sofram uma cisão homolítica. Neste caso, existe a decomposição destes hidroperóxidos, formando produtos estáveis.

São constituídos por moléculas contendo fósforo trivalente, que sofrem reações de hidrólise para estabilizar o polímero, tais como o irgafós 168. Importante haver um método rápido e preciso para analisar estes aditivos que são incorporados às poliolefinas.

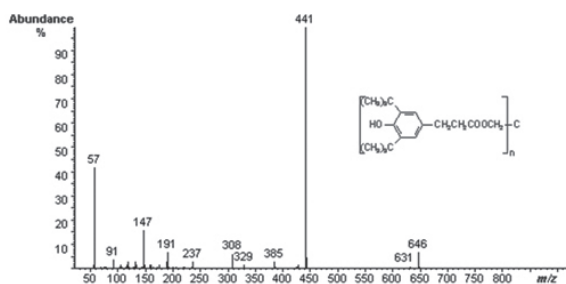


Figura 1. Fórmula química e espectro de massas do irganox 1010.

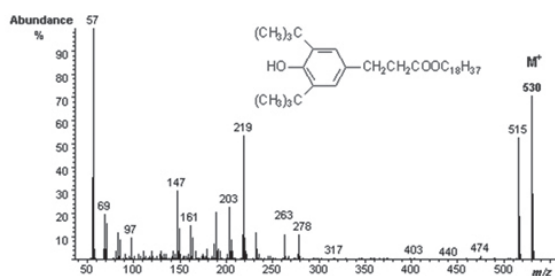
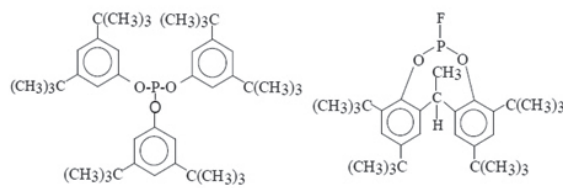


Figura 2. Fórmula química e espectro de massas do irganox 1076.



Irgafos 168

Ethanox 398

Figura 3. Estrutura química do irgafos 168 e do ethanox 398.

O mecanismo de ação é mostrado na Figura 4. Eles doam o seu hidrogênio fenólico ao radical gerado, estabilizando o polialcano. Nesse processo de estabilização, o radical alquil livre gera um grupamento fenoxi ramificado estável, possuindo uma estrutura do tipo quinona.

De um modo geral, o peso molecular da molécula do antioxidante está relacionada à temperatura de estabilidade dessa molécula. Por exemplo, o peso molecular do ethanox 330 é 775 e o do irganox 1076 é 531. O ethanox 330 tem maior estabilidade térmica do que o irganox 1076. Na Figura 3, podemos observar que a estrutura do ethanox 330 tem três radicais fenóis ramificados, enquanto que o irganox 1076 contém apenas um. Teoricamente, o ethanox 330 pode estabilizar três radicais livres do que o irganox 1076.

Os antioxidantes secundários previnem a formação de radicais livres porque impedem que haja uma cisão homolítica na cadeia do hidroperóxido. Ao invés dessa cisão, ocorre uma estabilização dessa molécula. Consequentemente, eles ganham o nome de estabilizadores de peróxidos. A segunda função dos antioxidantes secundários é que eles também podem regenerar o antioxidante primário. Os dois principais tipos de antioxidantes secundários são os fosfitos e os tioésteres. Estes dois tipos trabalham da mesma maneira.

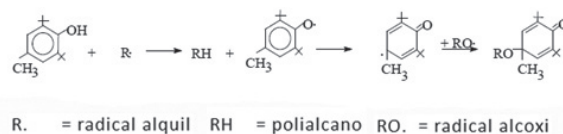


Figura 4. Mecanismo de ação dos radicais fenólicos.

Tabela 2. Alguns antioxidantes secundários

ADITIVO	TIPO	MOL
Weston 399	Aromático	688
Irgafox 168	Aromático	647
Ethanox 398	Fluoro	487

A Tabela 2 mostra alguns exemplos desses produtos. Eles operam melhor com a presença dos primários, porém, nem todo tipo de antioxidante primário pode ser misturado com o secundário. Os antioxidantes secundários trabalham melhor com a combinação correta em relação aos primários. Os fosfitos constituem o tipo mais comum de antioxidantes secundários. O mecanismo de atuação destes antioxidantes é mostrado na Figura 5.



ROOH = hydroperoxide

ROH = alcohol

Figura 5: Mecanismo de ação dos fosfitos

Procedimento Experimental

A EXTRAÇÃO DOS ADITIVOS

Uma amostra padrão de PEAD, com aproximadamente 790 micrograma/mL de irgafos 168 e 420 micrograma/mL de irganox 1076, foi moída em moinho de facas. Foi pesada a massa de 0,5000g (+/- 0,0002g) e em seguida esta amostra foi colocada no digestor.

Esse digestor é um sistema de síntese por micro-ondas focalizadas e foi projetado para aumentar a habilidade de realizar reações químicas sob condições controladas e em escala de laboratório. Ele acomoda frascos de uma faixa de volume de 5 a 125 mL para trabalhos em condições atmosféricas, e de 10 a 35mL para reações realizadas à altas pressões. Já que a massa a ser pesada é muito pequena, é importante que a amostra seja adicionada diretamente no frasco do aparelho, para que seja evitada qualquer chance de perda de material.

Esse sistema permite que sejam liberados conteúdos gasosos não desejados do digestor, para prevenir uma pressurização e falha do frasco, devido a esse conteúdo gasoso. O seu dispositivo Act-Vent libera o gás do frasco, de modo seguro, através do tubo de ventilação conectado à traseira do sistema.

A energia de micro-ondas é aplicada ao conteúdo do frasco para acelerar o processo de extração. As propriedades de absorção de micro-ondas de alguns materiais sólidos e líquidos, devido às suas características polares e iônicas, têm a capacidade de melhorar significativamente as extrações, relativamente às técnicas de aplicação de aquecimento convencionais.

Este sistema possui um sistema de produção de micro-ondas contínuo, e com uma potência selecionada pelo operador, ficando na faixa entre 0 – 300 Watts.

Possui também um sistema de controle de temperatura por infravermelho, utilizando um sensor de infravermelho não invasivo, para a medida interna da temperatura do frasco. Ele fica localizado fora da cavidade e mede a temperatura do líquido dentro do frasco. O sensor é usado em um *loop* de informação com o sistema de controle do aparelho, para controlar a taxa de aumento de temperatura e o ponto de controle do conteúdo do frasco. A temperatura é programável entre 0 a 300°C. Nesse aparelho, também existe a opção de agitação, através de um sistema composto por uma placa magnética, localizada abaixo da cavidade de micro-ondas. A agitação acontece quando o campo magnético se acopla com a barra de agitação dentro do frasco.

Interessante observar que, apesar do uso de micro-ondas, caso na amostra exista algum resíduo metálico, isso não impactará na *performance* do aparelho, já que este resíduo estará mergulhado em uma camada de solvente, isolando-o do meio. A estrutura da molécula do solvente utilizado impactará fortemente na geração de micro-ondas. Assim os solventes paraafinicos nunca deverão ser utilizados separadamente, porque, nesses casos, a eficiência de extração será grandemente prejudicada.

Na Tabela 3, é apresentado um grupo de solventes com as suas respectivas capacidades de geração de calor, quando expostos à micro-ondas. Com base nesses dados, não foi utilizado o ciclo-hexano puro, apesar de ser considerado na literatura como um bom solvente

para extração de aditivos em PEAD. Nesse caso, foi necessário utilizar outro solvente que pudesse gerar alta energia, como é o caso dos solventes que possuem grupamentos hidroxila em sua estrutura. Esse fato pode ser comprovado durante o desenvolvimento deste trabalho.

Foi observado que a utilização de apenas ciclo-hexano, ou a mistura deste com IPA, assim como quaisquer outras misturas binárias, produziram uma recuperação extremamente baixa dos aditivos no PEAD. Foram feitas inúmeras tentativas, utilizando misturas de ciclo-hexano, IPA, tolueno, diclorometano, metanol, acetato de etila e clorofórmio em composições binárias as mais variadas, sem qualquer sucesso. Alguns dados de composição ternária estão mostrados na Tabela 4. Devido aos dados obtidos, adotou-se a utilização de composições ternárias.

Tabela 3. Relação entre estrutura química e geração de calor por absorção de micro-ondas.

ABSORBÂNCIA DE MICRO-ONDAS	SOLVENTE
Alta (100W)	DMSO, EtOH, MeOH, Propanóis, nitrobenzeno, ácido fórmico, etileno glicol.
Média (200W)	Água, DMF, NMP, acetonitrilametil-etil-cetona, acetona, 1, 2-dicloroetano, ácido acético.
Baixa (300W)	Clorofórmio, diclorometano, acetato de etila, xilenos, benzeno, tolueno, hexano, pentano, piridina, 1-4-dioxano.

Nielsen et al.³, Bart et al.⁴ e Pinto¹⁰ descrevem problemas encontrados na extração de aditivos em PEAD, levando à utilização de técnicas muito mais agressivas para esta finalidade^{10,11}.

Usando-se misturas ternárias foi obtida substancial melhora na recuperação dos aditivos em PEAD. Na Tabela 5 e no Gráfico 1, são mostrados alguns dados relativos à extração do Irganox 1076. Nesse gráfico, podem-se observar quais destas combinações tiveram melhores resultados. Na Tabela 6 e no Gráfico 2, são apresentados dados relativos à extração do Irgafos 168 fosfato mais fosfito. Constatou-

se que a mistura ciclo-hexano, diclorometano e isopropanol, na proporção 60:30:10, foi a que demonstrou ter o melhor poder de extração.

Tabela 4. Processo de seleção de solventes e variações na proporção da mistura.

Solventes	T (oC)	Tempo (min)	Irg1076 µg/mL	Irg168 ppm
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	78	30	323	786
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	80	30	375	878
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	70	30	383	827
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	75	30	363	865
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	75	20	333	766
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	75	15	348	788
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	75	30	336	763
ciC6/DCM/TOL 3:3:4	80	40	330	829
ciC6/DCM/TOL 3:1:6	80	40	353	846
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	80	40	368	865
ciC6/DCM/IPA 4:4:2	80	40	342	802
ciC6/DCM/IPA 7:2:1	80	40	327	770
ciC6/DCM/TOL 6:3:1	80	40	341	814
ciC6/DCM/IPA 6:2:2	80	40	782	841

Tabela 5. Rendimento do processo de extração em função do teor recuperado de Irganox 1076 em vários experimentos.

SOLVENTES	EXP.	µg/mL
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	1	323
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	2	375
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	3	383
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	4	363
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	5	333
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	6	348
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	7	336
ciC6/DCM/tol 3:3:4	8	330
ciC6/DCM/tol 3:1:6	9	353
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	10	368
ciC6/TOL/IPA 4:4:2	11	342
ciC6/TOL/IPA 7:2:1	12	327
ciC6/DCM/tol 6:3:1	13	341
ciC6/DCM/IPA 6:2:2	14	383
ciC6/DCM/IPA 6:1:3	15	307
ciC6/DCM/IPA 5:4,8:2	16	313
ciC6/DCM/IPA 6:3,8:3	17	302
ciC6/DCM 1:1	18	307
TOL/IPA 9:1	19	340
ciC6/TOL	20	299

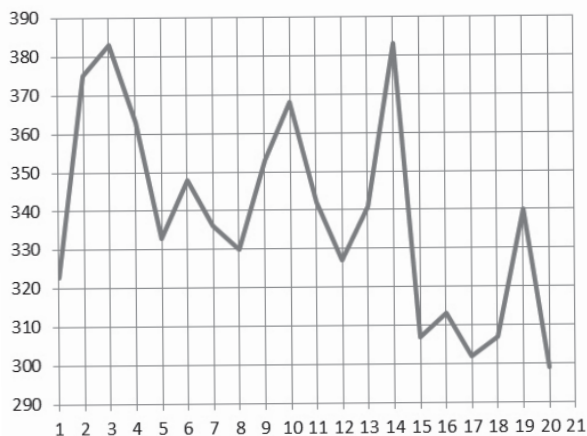


Gráfico 1. Rendimento do processo de extração em função do teor recuperado de Irganox 1076.

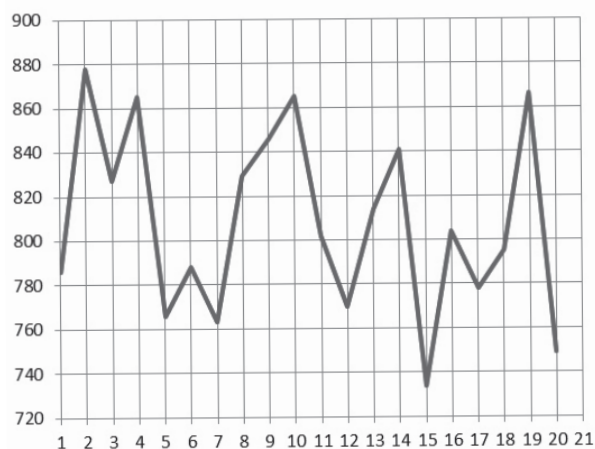


Gráfico 2. Rendimento do processo de extração em função do teor recuperado de Irganox 1076.

Interessante observar que a mesma mistura de solventes é adequada tanto para a extração do irganox 1076 quanto para o irgafos 168 fosfito e fosfato.

Na Tabela 7, estão mostrados os dados de recuperação dos aditivos através de refluxo com chapa aquecida, com as temperaturas de 175°C e 195°C, utilizando ciclohexano, solvente apontado na literatura como o de melhor desempenho de extração e na Tabela 8, os dados para a extração executado no digestor, para fins comparativos.

Tabela 6. Rendimento do processo de extração em função do teor recuperado de irgafos 168.

SOLVENTES	EXP.	µg/mL
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	1	786
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	2	878
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	3	827
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	4	865
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	5	766
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	6	788
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	7	763
ciC6/DCM/tol 3:3:4	8	829
ciC6/DCM/tol 3:1:6	9	846
ciC6/DCM/IPA 6:3:1	10	865
ciC6/TOL/IPA 4:4:2	11	802
ciC6/TOL/IPA 7:2:1	12	770
ciC6/DCM/tol 6:3:1	13	814
ciC6/DCM/IPA 6:2:2	14	734
ciC6/DCM/IPA 6:1:3	15	804
ciC6/DCM/IPA 5:4,8:2	16	778
ciC6/DCM/IPA 6:3,8:3	17	795
ciC6/DCM 1:1	18	866
TOL/IPA 9:1	19	749
ciC6/TOL	20	299

Tabela 7. Dados de extração utilizando refluxo

AMOSTRA (REFLUXO)	IRGANOX 1076 (MG/ML)	IRG168-FOSFATO (MG/ML)
PEAD_ciC6_1h		
(175oC)	253	390
PEAD_ciC6_1h		
(195oC)	343	585
PEAD_ciC6_2h		
(195oC)	250	404

Tabela 8. Dados de Extração de aditivos pelo digestor para diferentes solventes. Nas duas primeiras linhas da coluna, foram feitas análises em duplicata. Na última a melhor condição de extração pelo digestor.

AMOSTRA (DIGESTOR)	Irg1076 (µg/mL)	Irg168 (µg/mL)
PEAD _Discoveri-1 (DCM/CHCl3 – 1:1)	181	272
PEAD _Discoveri-2 (DCM/CHCl3 – 1:1)	190	293
PEAD _Discover (IPA/ciC6 -1:1)	295	440
PEAD _Discover (IPA/ciC6 -95:5)	116	84
PEAD _Discover (IPA/ciC6 -10:90)	280	510
PEAD _Discover (Tolueno)	298	388
PEAD _Discover (ciC6/DCM/IPA 60:30:10)	396	733

Fica evidente que a extração por micro-ondas, em condição otimizada, é muito mais efetiva do que a de refluxo, se compararmos os dados apresentados nas Tabelas 7 e 8. Outro fato positivo é a redução do tempo de extração utilizando-se esta técnica.

ANÁLISE POR HPLC

Aparelho: Ccromatógrafo waters, modelo 2695, possui módulo de injetor automático de amostras e forno com válvula para instalação de até 3 colunas.

- Coluna: Waters, Nova-Pak C18, 3,9mm x 150mm x 4um
- Detector: UV modelo 2487 dual absorbance detector, Comprimento de onda: 200nm
- Fase Móvel: isocrática (85:15); A : Acetonitrila; B: Metanol ; Fluxo: 1,4 mL/min
- Temperatura da Coluna: 40°C
- Tempo de análise: 8,0 minutos
- Volume de injeção: 2,0 uL
- Amostra Padrão: foi acondicionada em frascos da *hach* e em *freezer*. Antes da sua utilização ,sempre deve ser esperado que a temperatura do frasco retorne à temperatura ambiente. Os analitos poderão ficar insolúveis a baixas temperaturas. Nesse tipo de acondicionamento, praticamente ,não existe perda de solvente por evaporação. Com certeza, a baixas temperaturas e no escuro, a velocidade de degradação desses aditivos, é insignificante, mesmo na presença de clorofórmio. Todos os aditivos foram facilmente solubilizados nesse solvente.

Por questões de segurança, ele foi acondicionado sob coifa para a eliminação total de vapores orgânicos. Toda a manipulação dos solventes é feita nesse ambiente. Diariamente, é feita rotina de lavagem do injetor.

O líquido contido no frasco, após filtração, é totalmente límpido, evidenciando a eficiência da remoção dos monômeros eventualmente extraídos no processo de extração. Nessa condição, pode ser injetado no HPLC. Nas Figuras 6 e 7 são apresentados dois cromatogramas relativos à corrida das amostras padrão e de PEAD, respectivamente. Na Figura 6, tem-se o cromatograma relativo à amostra padrão de calibração, confeccionada a partir dos aditivos puros, segundo concentração mostrada na Tabela 9.

Neles pode-se observar uma boa separação entre os picos dentro de um tempo de análise bastante reduzido, o que redundava em uma alta produtividade analítica. Após o tempo de extração, o frasco é removido do aparelho

Tabela 8. Composição da Mistura Padrão de Calibração.

ADITIVO	CONC. (µg/mL)
Irganox 1010	306
Irganox 1076	263
Irgafos 168-fosfato	188
Irgafos 168-fosfito	290

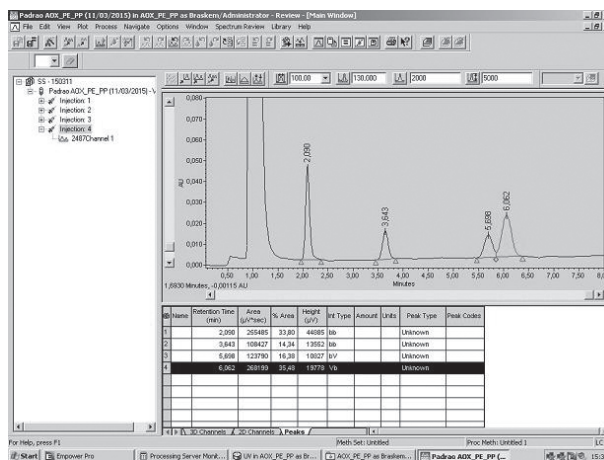


Figura 6. Cromatograma da Amostra Padrão de Aditivos.

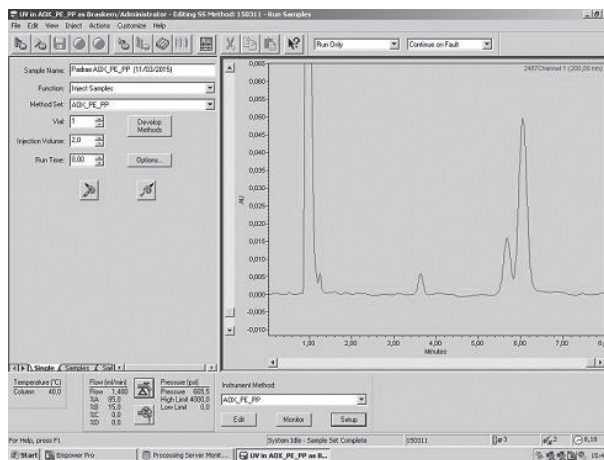


Figura 7. Cromatograma de Amostra Padrão de PEAD

e resfriado em banho de água gelada, utilizando-se uma seringa e um cartucho para filtração.

Foi observado que a fase móvel, composta por ACN/Metanol/Água na proporção 85:14:1, melhora significativamente a separação irganox 1076 do irgafos 168-fosfito.

Resultados e Discussão

Algumas metodologias apontam que o ciclo-hexano é o melhor solvente para a extração por refluxo. Foram feitas inúmeras tentativas e não foi obtido nenhum sucesso com o seu uso, apesar de ser variada a temperatura da placa, a taxa de agitação dentro do frasco e, também, adicionando-se iso-propanol. Quando foi feito um incremento no tempo de extração para duas horas, foi observado que houve formação de um gel no extrato, sendo muito difícil a sua filtração para posterior injeção do cromatógrafo. O teores dos aditivos recuperados, conforme mostrado na Tabela 7, não ficaram dentro da faixa esperada.

Interessante observar que, para o tempo de uma hora, a extração é muito mais efetiva, fornecendo maiores teores tanto de irganox 1076, quanto de irgafos 168. Aparentemente pode ter havido uma decomposição desses aditivos quando aquecidos por um tempo maior, ou até mesmo ter havido perda desses por aderência ao gel.

Estes fatos demonstraram que é muito mais produtivo investir em melhorar a taxa de extração, pela utilização da técnica de micro-ondas. Usando-se esta técnica, foram realizados vários testes com solventes puros, inclusive o tolueno, misturas binárias desses e variando-se também a temperatura e o tempo de extração. A utilização do tolueno, solvente sabidamente agressivo na dissolução de poliolefinas, mesmo misturados a outros solventes, não gerou resultados promissores. Só foi obtido algum aumento na taxa de extração, quando passaram-se a utilizar misturas ternárias. Alguns dados desse período do trabalho estão mostrados na Tabela 8.

Ficou caracterizado que o uso de ciclo-hexano puro não é produtivo, conforme as informações contidas na Tabela 3. Mesmo fazendo-se misturas com outros solventes que possuem pontes de hidrogênio, não foi possível obter resultados satisfatórios. Só a partir da incorporação do diclorometano na mistura de extração,

obtiveram-se melhores resultados.

O objetivo deste trabalho sempre foi o de buscar um aumento na sinergia deste processo extrativo. Este estudo teve uma primeira fase: seleção dos solventes, depois passou-se a averiguar a melhor taxa de combinação entre eles e, finalmente, a melhor temperatura para a extração. Só foram obtidos bons resultados, a partir do uso de composições ternárias de solventes. Depois dessa fase, foi possível otimizar o tempo de extração, com foco no menor tempo possível, desde que não fosse prejudicada a eficiência de recuperação dos aditivos em estudo.

Cabe ressaltar que a tampa de plástico, do frasco do *Discover*, sofreu forte desgaste, provavelmente, devido ao uso de solventes agressivos para a sua composição. Para evitar esse fenômeno, passou-se a secá-la, logo após a extração, para diminuir o tempo de contato destes solventes com a tampa. Importante comunicar esse fato ao fabricante para que ele possa desenvolver um material mais inerte na confecção desta tampa.

Conclusão

Os dados apresentados neste trabalho mostram que é possível a utilização da técnica de extração por micro-ondas na extração de aditivos em PEAD, não sendo a única possibilidade, mas uma alternativa bastante promissora.

Referências bibliográficas

1. Grosclaude, G., **1999**. L'eau, Milieu naturel et maîtrise (Tome 1), INRA Edition, Paris.
2. Lacaze, J.C., **1993**, La dégradation de l'environnement côtier-conséquences écologiques, Ed Masson, Paris.
3. Characterization of plastic packaging additives: Food contact, stability and toxicity, Lahimer, M.C., Ayed, N., Horriche, J., Belgaied, S., Arabian Journal of Chemistry (2014), King Saud University, July, **2013**.
4. Nielsen, R., "Extraction and Quantification of Polyolefin Additives", Journal of liquid Chromatography, Vol.14, #3, **1991**.
5. Bart, J.C.J. Polymer Additive analytics ; Industrial practice and case studies. In: Quality of food contact Polymer , first ed. Firenze, Italy, pp. 249-316.
6. Nielsen, R.C., Overview of Polyolefin Additive Analysis, Waters Chromatography Division, Millipore Corporation., International GPC Symposium, Oct, **1989**.
7. Bart, J.C.J., " Additives in Polymers Industrial Analysis and

Applications”, Wiley.

8. Rapid Polyolefin Additive Separation Using a Waters Nova-Pak C18 column, Waters Applications Notes, Waters Corporation, Milford, Massachusetts, USA.
9. ASTM D 7210-06, “Standard Practice for Extraction of Additives in Polyolefin Plastics”.
10. Pinto, A.M., “Quantitative Analysis of Antioxidants from High Density Polyethylene (HDPE) by off-line Supercritical Fluid Extraction Coupled High Performance Liquid Chromatography, Virginia Polytechnic Institute State University, Blacksburg, aug, **1997**.
11. Peinado, C.A., Corrales, T.A., Garcia, M.J., Catalina, F.A., “Chemiluminescence from poly(styrene-b-ethylene-co-butylene-bstyrene) (SEBS) block copolymers, Carmen Peinado a,*, Teresa Corrales a, M. Jesús García-Casas a, Fernando Catalina a, Valentín Ruiz Santa Quiteria b, M. Dolores Parellada b, Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros, CSIC, Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid, Spain, oct-**2005**.

Augusto O. Cardoso

BRASKEM, UNIB-4/DCX-PE9-LCQ, Duque de Caxias-RJ, Brasil.

E-mail: aocrj@yahoo.com.br

Nanobiomedicina de Nanopartículas Magnéticas de Óxido de Ferro: Considerações e Perspectivas

Joyce F. L. Sousa & Luciana R. Guilherme

Com o advento da nanotecnologia farmacêutica, novas formulações, sistemas de liberação de fármacos e métodos de diagnósticos foram disseminados nos últimos anos. Nanopartículas magnéticas de óxido de ferro (SPIONs) surgem como uma perspectiva na identificação precoce de tumores, por meio da ressonância magnética nuclear. Como carreadores de fármacos demonstram reduzir a toxicidade e direcionar o fármaco ao sítio de ação desejado, além de demonstrarem eficiência no tratamento de tumores, por provocarem hipertemia na região específica da lesão. O objetivo deste trabalho é apresentar algumas das aplicações biomédicas de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro.

Palavras-chave: *Nanopartículas magnéticas de óxido de ferro; aplicação biomédica; liberação de fármaco.*

With the advent of nanotechnology pharmaceutical new formulations, drug delivery systems and diagnostics methods have been widespread in recent years. Magnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) appear as a prospect in the tumor early identification by nuclear magnetic resonance. As carriers of drugs shown to reduce toxicity and direct the drug to the site desired action. Besides demonstrate efficiency in tumor treatment by hyperthermia cause the specific lesion region. The objective of this paper is to present some of the biomedical applications of magnetic nanoparticles of iron oxide.

Keywords: *Iron oxide nanoparticles magnetics; magnetic hyperthermia; drug delivery.*

Introdução

A nanotecnologia é uma ciência multidisciplinar promissora, a qual possui diversos campos de atuação e está associada à manipulação da matéria em escala nanométrica, ou seja, uma escala tão pequena quanto à de um bilionésimo do metro. Um nanômetro (nm) possui dimensões entre 1-100 nm¹. Produtos obtidos a partir da nanotecnologia podem apresentar características interessantes como: tolerância à temperatura, cores, reatividade química, condutividade elétrica ou mesmo exibir força de intensidade extraordinária². Essa tecnologia já está dispersa em diversas áreas, como tecnologia para os eletrônicos, física, agricultura, química, farmácia e outros³.

Nanomedicina é a ciência envolvida no desenvolvimento, caracterização, sistemas de liberação e direcionamento de fármacos, diagnóstico, tratamento de doenças e outras aplicações².

O setor farmacêutico é uma das áreas que mais vem investindo no desenvolvimento de pesquisas, com o objetivo de melhorar as propriedades físico-químicas de alguns fármacos que prejudicam a estabilidade, biodisponibilidade, a eficácia, o transporte e a liberação, trazendo, assim, melhor conforto posológico, reduzindo toxicidade e efeitos colaterais ao paciente^{3,4}.

Uma abordagem promissora para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos é baseada na associação de nanopartículas com materiais magnéticos, fluidos magnéticos, que são suspensões coloidais estáveis, contendo nanopartículas magnéticas de óxido de ferro dispersos em veículos líquidos orgânicos ou inorgânicos⁴.

Nanopartículas magnéticas de óxido de ferro são materiais que têm sido amplamente utilizados em medicina para direcionamento do fármaco, sistemas de liberação controlada, diagnósticos via imagiologia e aplicações terapêuticas⁵. Já foram realizados vários estudos demonstrando que partículas nanomagnéticas aumentam a eficiência e a qualidade de diagnósticos realizados por ressonância magnética⁶.

Um objetivo importante na terapia de liberação controlada é o de melhorar a disponibilidade do fármaco no seu local de ação, minimizando sua exposição a sítios não alvos. Este sistema permite que o material alcance,

por meio da aplicação de campo magnético externo, o local desejado e atinja a concentração terapêutica do fármaco⁶.

Outro estudo relacionado a nanopartículas magnéticas de óxido de ferro é seu emprego frente a campos magnéticos alternados que podem induzir à hipertemia. A hipertemia pode ser aplicada para o tratamento de câncer de cabeça e pescoço. Análises patológicas demonstraram a diminuição de células epiteliais do tumor associado com o tratamento de hipertemia⁷. Novas pesquisas indicam que essa tecnologia também pode ser útil na retirada de metais pesados no tratamento de água, em biomateriais, biofilmes⁸, tratamento para cardiopatia⁹ e outros.

A relevância do tema é motivada pelo desenvolvimento crescente da nanotecnologia. O objetivo deste estudo é mostrar os principais estudos de aplicações biomédicas de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro e suas perspectivas de uso.

NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

As nanopartículas magnéticas de óxido de ferro (SPIONs) do presente estudo são formadas por óxidos de ferro de maguemita (γ -Fe₂O₃) e de magnetita (Fe₃O₄) por síntese de crioprecipitação¹⁰. Após a síntese, pode-se preparar o fluido magnético ou ferrofluido, um coloide. Este, por sua vez, é constituído pela suspensão de partículas magnéticas de óxido de ferro em escala nanométrica. Por tratar-se de escala nanométrica, as nanopartículas apresentam uma grande área superficial e podem apresentar agregação de suas partículas. Por esse motivo, faz-se necessário minimizar as aglomerações por meio do processo de estabilização do fluido, realizando o revestimento, a cobertura ou a funcionalização das partículas¹. Nesse processo, as nanopartículas magnéticas de óxido de ferro são revestidas em sua superfície com tensoativos, surfactantes ou polímeros biocompatíveis, de modo a manter a estabilidade coloidal do fluido¹¹. Os surfactantes favorecem uma repulsão eletrostática no fluido e, desse modo, contribuem para a não aglomeração das partículas. Os surfactantes são responsáveis também por manter propriedades coloidais em pH próximo de 7, em altas temperaturas e quando submetidos a campos magnéticos alternados¹².

O grande interesse em aplicações biomédicas é devido às suas propriedades superamagnéticas que consistem em apresentar magnetização apenas na presença de um campo magnético externo. O supramagnetismo apresenta um momento magnético atômico, presença de átomo com elétron desemparelhado que, sob influência de campo magnético externo, magnetiza-se e se orienta em direção a este campo. Entretanto, na ausência do campo magnético externo não apresenta magnetização¹³.

Estudos vêm demonstrando que quando se utiliza a associação das propriedades Superparamagnéticas e a funcionalização da sua superfície com surfactantes, as nanopartículas magnéticas podem ser utilizadas principalmente em aplicações biomédicas, como a vetorização com biomarcadores¹⁴, liberação de fármacos conjugados¹³, diagnóstico por imagem por ressonância magnética nuclear, hipertemia magnética¹⁵, etc.

Como diagnóstico, as nanopartículas podem ser empregadas como contraste no diagnóstico por imagem por ressonância magnética nuclear para aumentar a qualidade de imagens e na localização de neoplasmas precoces⁷. Como terapia, pode-se citar a hipertemia magnética e o direcionamento localizado de quimioterápicos para o tratamento de tumores⁸. Além disso, por meio de marcadores e surfactantes, as nanopartículas possibilitam incorporação e direcionamento de fármacos acoplados a sua superfície, promovem a liberação controlada e direcionada no sítio-alvo desde que guiadas por gradientes de campos magnéticos externo⁷.

DIAGNÓSTICO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Para que um tratamento terapêutico seja eficaz, é necessário que o paciente receba um diagnóstico precoce e preciso⁵. A ressonância magnética nuclear é um procedimento não invasivo que possui alto poder de resolução na qualidade das imagens, sendo possível visualizar aspectos fisiológicos e anatômicos simultaneamente. Ela é muito utilizada para diagnósticos, exames pré-cirúrgicos e monitoramento de terapias e, também, é capaz de gerar imagens 3D¹⁶.

O mecanismo da ressonância magnética nuclear consiste no alinhamento de prótons de hidrogênio a um campo magnético externo. Os prótons de hidrogênio da água presente no tecido a ser diagnosticado, quando submetido a

uma frequência de radiação, sofre uma perturbação e quando esses prótons voltam ao seu estado normal, a imagem é obtida. Tecidos diferentes apresentam velocidades diferentes de retornos dos prótons. E devido a esta peculiaridade, as imagens apresentam contrastes de contornos para diferenciar as estruturas biológicas de interesse¹⁷.

Como a atividade metabólica de células doentes é diferente de células saudáveis, a ressonância magnética promove a grande vantagem de identificar essas diferenças, por meio das imagens. Dessa forma, é possível monitorar o avanço das doenças, sendo uma poderosa ferramenta para o diagnóstico e tratamento neoplásico¹⁸. Para aprimorar o diagnóstico, contrastes com nanopartículas superamagnéticas de óxido de ferro foram desenvolvidos com o objetivo de: melhorar o contraste das imagens, modular o tempo de permanência do contraste no organismo e monitorar células específicas¹⁶.

Muitas formulações de nanopartículas magnéticas foram desenvolvidas e já estão no mercado como contraste em ressonância magnética nuclear (Endorem, Feridex IV®, Lumiren® e Combidex®). Pesquisas atuais na área de ressonância magnética nuclear para a terapia oncológica buscam aperfeiçoar as interações das nanopartículas, a fim de melhorar a nitidez das imagens, reduzir a quantidade administrada de contraste e aprimorar a funcionalização das nanopartículas para que o contraste atinja o sítio desejado¹⁹.

Estudos com marcadores de peptídeos de câncer de próstata associados às nanopartículas magnéticas de óxidos de ferro observaram acúmulo de material em região específica, identificando com precisão o local da lesão. Além disso, apresentaram melhor qualidade nas imagens por ressonância magnética nuclear¹⁷. Marcadores fluorescentes também estão sendo utilizados em testes combinados com nanopartículas para entrega de drogas guiadas por imagem como uma nova plataforma de teradiagnóstico¹⁶.

Outro estudo verificou que a associação de nanopartículas magnéticas a anticorpos monoclonais permitiu a detecção precoce de micrometástase em tumores de cérebro²⁰. Além de agentes de contraste para diagnóstico, estudos destacam o uso desses sistemas magnéticos para liberação controlada de fármacos¹⁹.

Sistema de Vetorização e Liberação de Fármacos

Um dos grandes problemas na administração de medicamentos refere-se ao grande desconforto do paciente em administrar várias doses para manter o nível sérico do fármaco no organismo, a grande quantidade de efeitos colaterais e os efeitos tóxicos devido a não seletividade dos fármacos¹⁵.

Com o intuito de melhorar esses problemas, as nanopartículas, quando associadas a outros fármacos, podem propiciar sinergismo e aumentar a eficácia frente ao tratamento de algumas patologias, devido principalmente a sua capacidade de vetorização e liberação controlada de fármacos³⁰.

O transporte e liberação controlada de fármacos pelas nanopartículas magnéticas de óxidos de ferro são possíveis devido as suas propriedades magnéticas de serem orientadas por campo magnético e também pelas suas propriedades adquiridas após sua funcionalização por polímeros, tensoativos ou surfactantes biocompatíveis. Esses agentes de funcionalização possuem a capacidade de modular a liberação do fármaco no organismo¹¹.

Propondo-se potencializar fármacos com conhecidos efeitos terapêuticos, as nanopartículas magnéticas surgem como uma promissora classe de nanocarreadores com o objetivo de carrear o fármaco pela circulação sanguínea até o sítio-alvo²².

A possibilidade de carrear o fármaco até o sítio-alvo, é muito interessante, uma vez que, direcionando o fármaco até seu local de ação, pode-se evitar a interação deste a outros órgãos ou tecidos que não sejam de interesse de atuação do fármaco. Dessa maneira, podem-se minimizar os efeitos colaterais e tóxicos⁶. Com a vetorização, sugere-se também que o controle de liberação do fármaco no sítio-alvo possa aumentar o intervalo entre as doses para proporcionar maior conforto ao paciente e consequentemente maior adesão ao tratamento²⁰.

Hipertemia

Hipertermia é o aumento acima do normal da temperatura corpórea. Altas elevações de temperatura podem alterar a homeostasia corporal e causar danos em tecidos. A partir desse conceito, vários estudos

são realizados com o objetivo de provocar o aumento da temperatura em lugares específicos, bem como de provocar danos seletivamente em regiões neoplásicas. Isso causa a morte das células cancerosas, uma vez que essas são menos resistentes a elevações de temperaturas que células normais e saudáveis^{3,22}.

Para provocar aumento da temperatura em região localizada, as nanopartículas magnéticas de óxido de ferro surgem como promissoras para o tratamento terapêutico contra o câncer, sendo denominado como hipertemia magnética¹⁸. Devido às suas propriedades de superparamagnetismo, as nanopartículas de óxido de ferro absorvem energia e liberam calor na presença de um campo alternado magnético externo²². É necessário utilizar os procedimentos de ressonância magnética nuclear e de vetorização, para carrear as nanopartículas ao sítio-alvo e provocar a hipertemia magnética²³.

Para promover o processo de hipertemia, o fluido de nanopartículas superparamagnéticas de óxido ferro devem ser estabilizados e funcionalizados para se associarem a anticorpos e serem usadas como vetores até o sítio-alvo pretendido na região do tumor¹³. As nanopartículas são orientadas por meio de um campo magnético externo até o local do tumor. Com a aplicação de correntes alternadas de força e frequência, as nanopartículas absorvidas pelas células cancerosas dissipam calor e provocam a elevação da temperatura, em torno de 41°C a 46 °C, no local do tumor e provocam consequente lise das células tumorais neoplásicas²⁴.

Considerações Finais

Nanopartículas magnéticas de óxido de ferro possuem propriedades supermagnéticas que conferem a essas a capacidade de serem orientadas a um campo magnético externo. Estudos de sistemas de liberação de fármacos, com nanopartículas magnéticas, mostram-se promissores para direcionamento do fármaco ao seu local de ação esperado, proporcionando melhor eficiência ao tratamento ao paciente. Imagens por ressonância magnética nuclear utilizando contrastes, a partir de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro, mostraram melhor nitidez nas imagens⁴⁶. Além disso, estudos relatam que se essas nanopartículas forem funcionalizadas com marcadores específicos, essas podem ser utilizadas para o diagnóstico mais preciso de patologias e serem úteis

na identificação precoce do câncer. Estudos demonstram também que outra promissora terapia no combate ao câncer é a hipertemia magnética.

Espera-se que outros estudos possam corroborar com mais informações a cerca das aplicações biomédicas de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro.

Referências Bibliográficas

- Hussein-Al-Ali, S. H.; El Zowalaty, M. E.; Kura, A. U.; Geilich, B.; Fakurazi, S.; Webster, T. J.; Hussein, M. Z. *Biomed Res. Int.* **2014**, 2014, 651831.
- Kolhatkar, A. G.; Jamison, A. C.; Litvinov, D.; Willson, R. C.; Lee, T. R. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, 14, 15977.
- Marszałł, M. P. *Pharm. Res.* **2011**, 28, 480.
- Babincova, M.; Babinec, P. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* **2009**, 153, 243.
- Xiao, Y.; Lin, Z. T.; Chen, Y.; Le, D. E.; Bin, J. *Int. J. Nanomedicine* **2015**, 10, 1155.
- Linemann, T.; Thomsen, L. B.; du Jardin, K. G.; Laursen, J. C.; Jensen, J. B.; Lichota, J.; Moos, T. *Pharmaceutics* **2013**, 5, 246.
- Enochs, W. Scott; Harsh, Griffith; Hochberg, Fred; Weissleder Ralph J. *Magn. Reson. Im.* 1999, 9, 228.
- Trever Todd, Zipeng Zhen, Wei Tang, Hongmin Chen, Geoffrey Wang, Y.-J.; Chuangc, Kayley Deaton, Zhengwei Panc, and J. X. *Nanoscale* **2012**, 29, 997.
- Hussein-Al-Ali, S. H.; El Zowalaty, M. E.; Hussein, M. Z.; Ismail, M.; Webster, T. J. *Int. J. Nanomedicine* **2014**, 9, 549.
- Xiong, F.; Wang, H.; Feng, Y.; Li, Y.; Hua, X.; Pang, X.; Zhang, S.; Song, L.; Zhang, Y.; Gu, N. *Sci. Rep.* **2015**, 5, 8579.
- Liakos, I.; Grumezescu, A. M.; Holban, A. M. *Molecules* **2014**, 19, 12710.
- Mody, V. V.; Cox, A.; Shah, S.; Singh, A.; Bevins, W.; Parihar, H. *Appl. Nanosci.* **2013**, 4, 385.
- Dorniani, D.; Hussein, M. Z. Bin; Kura, A. U.; Fakurazi, S.; Shaari, A. H.; Ahmad, Z. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, 14, 23639.
- Wahajuddin; Arora, S. *Int. J. Nanomedicine* **2012**, 7, 3445.
- Jayant, R.; Atluri, V.; Agudelo, M.; Sagar, V.; Kaushik, A.; Nair, M. *Int. J. Nanomedicine* **2015**, 10, 1077.
- Mihaela Istrate, C.; Holban, A. M.; Grumezescu, A. M.; Mogoantă, L.; Mogoșanu, G. D.; Savopol, T.; Moiescu, M.; Iordache, M.; Vasile, B. Ș.; Kovacs, E. *Rom J Morphol Embryol* **2014**, 55, 849.
- Busquets, M. A.; Sabaté, R.; Estelrich, J. *Nanoscale Res. Lett.* **2014**, 9,
- Singh, D.; McMillan, J. M.; Kabanov, A. V.; Sokolsky-Papkov, M.; Gendelman, H. E. *Nanomedicine (Lond)* **2014**, 9, 501.
- Hussein-Al-Ali, S. H.; El Zowalaty, M. E.; Hussein, M. Z.; Geilich, B. M.; Webster, T. J. *Int. J. Nanomedicine* **2014**, 9, 3801.
- Berman, S. C.; Walczak, P.; Jeff W.M. *Wiley Interdiscip.* **2011**, 3, 343.
- Wankhede, M.; Bouras, A.; Kaluzova, M.; Hadjipanayis, C. G. *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* **2012**, 5, 173.
- Ang, L.; Chen, B.; Liu, S.; Wang, R.; Hu, S.; Xia, G.; Tian, Y.; Cai, X. *Int. J. Nanomedicine* **2012**, 7, 4109.
- Lee, J. H.; Kim, J. W.; Cheon, J. *Mol. Cells* **2013**, 35, 274.
- Huang, G.; Chen, H.; Dong, Y.; Luo, X.; Yu, H.; Moore, Z.; Bey, E. a.; Boothman, D. a.; Gao, J. *Theranostics* **2013**, 3, 116.
- Sensenig, R.; Sapir, Y.; MacDonald, C.; Cohen, S.; Polyak, B. *Nanomedicine (Lond)* **2012**, 7, 125.

Joyce F. L. Sousa* & Luciana R. Guilherme

Ciências Exatas e Tecnológicas. Universidade Estadual de Goiás.
Caixa Postal 459, CEP 75001-970, Anápolis, GO.

*E-mail: joycelouzaa@gmail.com

Determinação dos Índices Químicos e Atividade Antioxidante para Controle de Qualidade do Óleo de Gergelim

Liz P. do Rosário, Paulo V. L. de Sousa, Ellen Nayara M. B. Fernandes & Giuliana M. V. Verde.

O óleo de gergelim tem importância alimentícia, medicinal, farmacêutica e cosmética. O objetivo deste trabalho foi determinar os índices químicos - Índice de Acidez (IA), Índice de Saponificação (IS), Índice de Éster (IE) - e a atividade antioxidante do óleo de gergelim, comercializado no mercado municipal de Anápolis – GO e correlacioná-los com a qualidade do produto. Esses três parâmetros foram determinados por meio de testes descritos na Farmacopeia Brasileira e a atividade antioxidante, determinada pelo método do sequestro do radical livre DPPH. Observou-se um alto valor de IA e um de IS dentro dos parâmetros preconizados. Ao mesmo tempo, o baixo valor de IE corrobora com o elevado de IA. Esses resultados, portanto, revelam degradação hidrolítica acentuada do óleo.

Palavras-Chave: *óleo de gergelim; índices químicos; hidrólise; atividade antioxidante.*

Sesame oil has important food, medical, pharmaceutical and cosmetics applications. The objective of this study was to obtain the chemical indexes - Acid Value, Saponification Value and Ester Value – and antioxidant activity of sesame oil sold in Mercado Municipal Anapolis - GO and correlate them with the quality product. These three parameters were determined by testing the Brazilian Pharmacopoeia and the antioxidant activity determined by free radical sequestration method DPPH. There was a high value of acid value and saponification value within the established parameters. At the same time, the low ester value confirms the high acid value. These findings thus reveal a marked hydrolytic degradation of the oil.

Keyword: *sesame oil; chemical indexes; hydrolysis; antioxidant activity*

Introdução

O gergelim (*Sesamum indicum* L.), família *Pedaliaceae*, é um arbusto anual, que apresenta flores brancas em forma de sino, com um toque de azul, vermelho ou amarelo com ou sem ramificações¹. A planta possui uma variedade de cores, de branco-creme para carvão-preto. A cor da semente pode variar, mas elas geralmente são beges ou brancas quando descascadas^{2,3}. Das sementes maduras, é extraído o óleo do gergelim: um líquido límpido, levemente amarelado, com sabor e odor agradáveis.

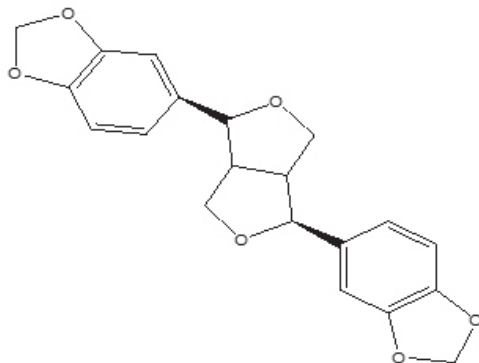
Tem sido cultivado há séculos, devido ao seu elevado teor de óleo comestível e proteína. A Índia é o maior consumidor mundial de gergelim e de muitas culturas oleaginosas, como amendoim, mostarda, semente de colza, semente de gergelim, dentre outras. Contudo, o maior exportador deste óleo é a China, e entre as oleaginosas, o gergelim tem sido cultivado, principalmente, na Ásia e na África. Os preços internacionais variam de US\$ 500 a 700/ tonelada de semente e o óleo extraído por meio de solventes atinge preços que variam de US\$ 800 a US\$ 1.000/tonelada⁴.

Esse óleo possui reconhecida importância cosmética, farmacêutica e alimentícia^{1,5}. Apresenta, também, propriedade laxativa leve e emoliente, além de ser usado como ingrediente na produção de sabão, cosméticos e lubrificantes. Há muito tempo tem sido utilizado por suas propriedades cicatrizantes e por manter os níveis de HDL equilibrados e diminuir o de LDL^{1,2}.

O óleo de gergelim é comercializado de forma ampla em feiras, supermercados e no Mercado Municipal de Anápolis-GO, com finalidades alimentícias e terapêuticas, já que é utilizado em preparações fitoterápicas, oriundas de grupos populares de saúde, bem como dos “raizeiros”. Esses, são pessoas consagradas pela cultura popular, no que diz respeito ao conhecimento sobre preparo, indicação e comercialização de plantas medicinais e que possuem espaço em ruas, feiras livres e mercados⁶, como no Mercado Municipal em questão.

O óleo de gergelim possui compostos que são antioxidantes naturais e apresentam potencial efeito na prevenção de doenças crônicas, pois são capazes de proteger sistemas biológicos contra a ação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, responsáveis por danos oxidativos aos lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos^{7,8}. Além de apresentarem bioatividade no organismo humano, os antioxidantes naturais, presentes nos óleos vegetais, protegem tais óleos contra a ação de radicais livres, que iniciam e perpetuam a peroxidação lipídica, principal forma de degradação dos óleos vegetais e importante fonte de prejuízos para a indústria de alimentos⁹. Dessa forma, os antioxidantes naturais têm sido foco de interesse científico e tecnológico nas áreas de ciência de alimentos e nutrição, a partir de duas abordagens principais: promoção de maior estabilidade oxidativa dos óleos e bioatividade no organismo humano¹⁰.

SESAMINA



SESAMOLINA

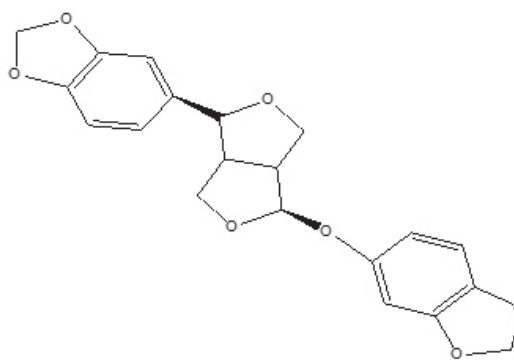


Figura 1. Estrutura molecular dos componentes bioativos do gergelim.

Os compostos responsáveis por esses efeitos ainda não são totalmente conhecidos, porém, sugere-se que os antioxidantes naturais estejam entre os principais responsáveis. Por outro lado, os mecanismos pelos quais os antioxidantes dos alimentos contribuem para o sistema antioxidante endógeno também não estão completamente elucidados¹⁰. Nos triglicerídeos do óleo de gergelim, são encontrados os ácidos graxos: ácido oleico, linoleico, palmítico, esteárico e pequenas quantidades de mirístico, araquídico, lignocérico e hexadecenóico¹¹. As sementes de gergelim contêm duas substâncias únicas, sesamina e sesamolina (Figura 1) que, durante o refinamento, são formados dois antioxidantes fenólicos, sesamol e sesaminol. Ambas as substâncias pertencem a um grupo de fibras benéficas especiais: as lignanas, que têm demonstrado um efeito redutor do colesterol nos humanos. Também evitam a elevação da pressão arterial e promovem o aumento de vitamina E em fontes animais¹.

O óleo também é útil na elaboração industrial de produtos de perfumaria, cosméticos (condicionamento da pele, e agentes hidratantes, preparações capilares, óleos de banho e maquiagem), farmacêutica (veículo para a entrega da droga), inseticidas e tintas e vernizes⁵.

A capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis é determinada por sua composição físico-química e constitui um importante atributo de qualidade dos óleos vegetais por estar relacionada à sua estabilidade oxidativa¹⁰. O ensaio do DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazil) é o mais amplamente utilizado para a determinação da capacidade antioxidante em diferentes óleos vegetais^{12,13,14}.

Portanto, independente da finalidade de utilização do óleo de gergelim, fins medicinais e/ou alimentícios, é imprescindível a realização de ensaios que investiguem parâmetros de estabelecidos para seu controle de qualidade, tendo em vista a abrangência desse produto e a acessibilidade no Mercado Municipal. Assim, este trabalho teve como objetivo determinar os índices químicos como Índice de Acidez (IA), Índice de Saponificação (IS) e o Índice de Éster (IE) e avaliar a atividade antioxidante do óleo de gergelim comercializado no mercado municipal de Anápolis – GO, como contribuição nos aspectos voltados ao controle de qualidade de drogas e derivados vegetais.

Materiais e Métodos

OBTENÇÃO DA AMOSTRA

A amostra de óleo de gergelim foi adquirida em uma banca comercial no Mercado Municipal de Anápolis “Carlos de Pina”, localizado no setor Central do município de Anápolis, Goiás. A embalagem de origem tratava-se de um recipiente de plástico de cor branca-leitosa, com conteúdo de 250 ml e vedado com tampa plástica. Para as análises, as amostras foram preparadas de acordo com os respectivos protocolos.

DETERMINAÇÃO DOS ÍNDICES QUÍMICOS ÍNDICE DE ACIDEZ (IA), ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO (IS) E ÍNDICE DE ESTERIFICAÇÃO (IE)

O IA e IS foram executados, de acordo com o método da Farmacopeia Brasileira V 15, enquanto o IE, conforme a metodologia da Farmacopeia Brasileira IV16 e em triplicata. Esses testes foram realizados no Laboratório de Química Inorgânica e Análises Instrumentais da Universidade Estadual de Goiás.

AValiação da Atividade Antioxidante PELO MÉTODO DO SEQUESTRO DO RADICAL LIVRE DPPH (1,1-DIPHENYL-2-PICRYL- HYDRAZIL)

A capacidade antioxidante foi avaliada, segundo método adaptado e descrito por Ayscough e Russel¹⁷ (1965) e Maruno⁴ (2009) usando o radical livre estável DPPH. O método baseia-se na transferência de elétrons, em que, por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar, o DPPH que possui cor púrpura é reduzido, formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com consequente desaparecimento da absorção, podendo essa ser monitorada pelo decréscimo da absorvância. As leituras foram feitas em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda 515 nm.

Curva de Calibração do DPPH

Inicialmente, foram preparados 75 ml de solução estoque de DPPH em metanol na concentração de 30µm,

mantida sob refrigeração e protegida da luz. Foram feitas diluições de 25, 20, 15, 10 e 5 µm. A curva de calibração foi construída a partir dos valores de absorbância de todas as concentrações (5 a 30 µm), medidas em cubetas de vidro tendo como branco o metanol. As medidas de absorbância foram realizadas em triplicata e os dados plotados para a construção da reta.

Leitura das Amostras

As amostras do óleo de gergelim foram diluídas em metanol nas concentrações de 15, 10, 5, 2 (µg. mL⁻¹). As misturas reacionais foram preparadas, adicionando-se 0,1 ml das soluções das amostras e 3,9 ml da solução estoque de DPPH (30 µm). As medidas de absorbância foram feitas a 515 nm, 30 minutos após a junção das duas soluções. Como branco foi utilizado 3,0 ml de acetato de etila.

A capacidade antioxidante foi calculada pela equação abaixo como sendo o percentual de DPPH sequestrado em cada concentração:

$$\%AA = [1 - (A_{\text{amostra}} / A_{\text{controle}})] \times 100 \quad (1)$$

A_{amostra} é a absorbância da mistura reacional e A_{controle} é a absorbância inicial da solução acetato de etila DPPH.

A concentração inibitória (EC50), quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%, foi calculada através de regressão linear dos valores obtidos utilizando o programa Microsoft Office Excel. Os resultados, neste estudo, correspondem à média de três repetições ($n=3$) $\pm$ desvio padrão da média. Os dados obtidos foram usados para construir curvas de DPPH sequestrado *versus* a concentração da amostra, de modo a determinar a Concentração Efetiva⁵⁰ (CE50), ou seja, a concentração necessária para sequestrar metade do teor inicial de DPPH, através da análise de regressão linear e interpolação desses. Todas as medidas foram realizadas em três experimentos independentes, cada um em triplicata, e os resultados foram expressos em mg.L⁻¹ como média e desvio padrão.

Resultados e Discussão

DETERMINAÇÃO DE IA, IS E IE

Os resultados dos testes de IA e IS, bem como as especificações da Farmacopeia Brasileira V 15 para o óleo de gergelim, estão expostos no Quadro 1.

Quadro 1. Resultados dos testes de Índice de acidez e Índice de saponificação da amostra de óleo de gergelim.

TESTE	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO
Índice de acidez (IA)	Não mais que 2 ml de hidróxido de sódio 0,02 M SV são gastos para neutralizar os ácidos graxos livres presentes em 10 g de amostra ¹⁵ .	O valor de IA obtido ($16,47 \pm 0,2517$ mL de NaOH 0,02 M SV para neutralizar os ácidos graxos de 10 g de amostra) foi superior ao preconizado.
Índice de saponificação (IS)	188 a 195 mg de KOH/g ¹⁵ .	O valor de IS encontrado ($191,25 \pm 0,8801$ mg de KOH/g) está dentro dos padrões estabelecidos.

O IA é um parâmetro importante para a avaliação do estado de conservação do óleo. Um processo de decomposição – por hidrólise, fermentação e oxidação – geralmente altera a concentração de íons hidrogênio. A acidez, por sua vez, está associada com a natureza e qualidade do óleo, com seu grau de pureza e também com suas condições de conservação¹⁹.

Valores elevados de IA indicam uma hidrólise acentuada dos ésteres constituintes da matéria graxa. São causas da degradação: tratamentos químicos, integrantes dos processos industriais de extração e purificação, atividade bacteriana, ação catalítica (calor, luz), estocagem inadequada e presença de impurezas como a umidade, entre outros¹⁵. Logo, o alto valor de IA, observado nesta análise, indica uma decomposição hidrolítica pronunciada dos triglicerídeos componentes do óleo de gergelim.

O IS expressa a quantidade de KOH, em miligramas, necessária para neutralizar os ácidos graxos livres e hidrolisar completamente os ésteres de um grama de amostra. Como a quantidade de matéria insaponificável nos óleos é pequena, o valor de IS depende quase exclusivamente da composição dos glicerídeos e reflete a massa molecular média dos ácidos graxos variando de forma inversa a ela. Além de auxiliar na caracterização dos óleos, é útil para a detecção de adulterações por adição de óleos compostos por glicerídeos mais leves ou mais pesados e por óleos minerais⁵. O valor de IS encontrado, em conformidade com o preconizado pela Farmacopeia Brasileira V 15, sugerindo que provavelmente este óleo não foi adulterado por outros óleos vegetais ou por óleo mineral.

O IE é definido como a quantidade de KOH, em miligramas, necessária para hidrolisar apenas os ésteres dos triglicerídeos. Representa a diferença entre os valores de IS e IA. Para óleos de boa qualidade, é igual ao valor do IS 20. A grande diferença entre os valores do IE ($6,545 \pm 0,8097$ mg de KOH/g) e IS ($191,25 \pm 0,8801$ mg de KOH/g), obtidos nesta análise, está de acordo com o alto valor de IA, sugerindo a decomposição elevada deste óleo por hidrólise.

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR DPPH.

Na análise da atividade antioxidante por DPPH, a curva padrão está apresentada na Figura 3. O método DPPH é considerado um dos métodos mais fáceis, precisos e reprodutivos na avaliação antioxidante de suco de frutas, extratos vegetais e substâncias puras²¹. Por ser um radical muito estável, um composto que apresente bons resultados no teste DPPH é promissor para outros testes *in vitro* com radicais instáveis e mais reativos.

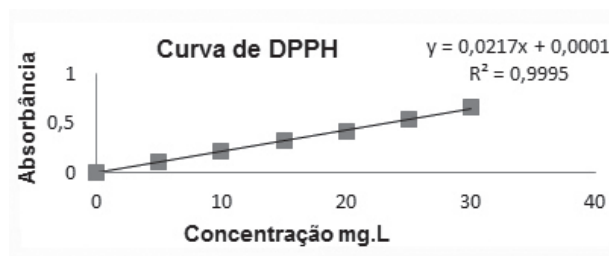


Figura 3. Curva de DPPH utilizada na determinação da atividade antioxidante do óleo de gergelim.

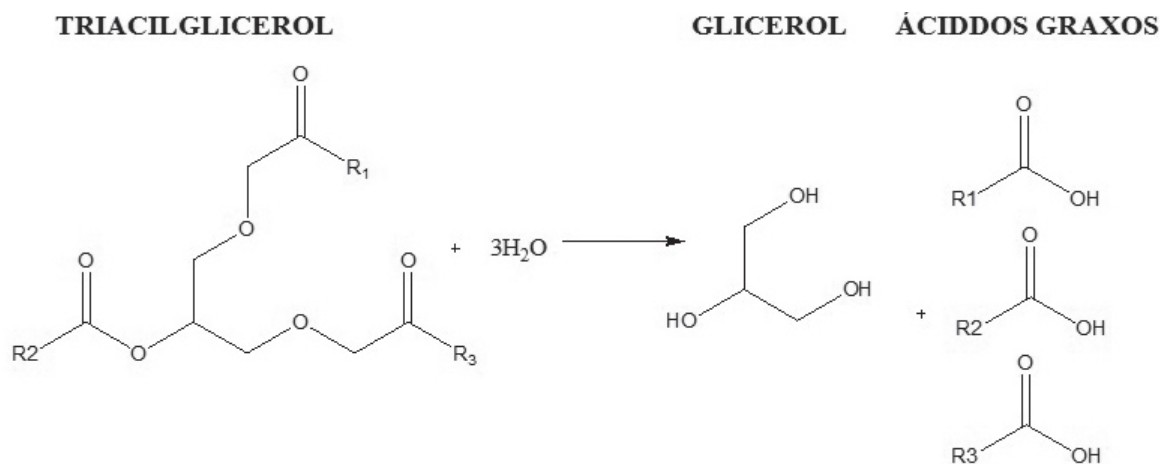


Figura 2. Reação geral de hidrólise de triacilgliceróis.

Observou-se que as amostras analisadas de óleo de gergelim apresentaram relevante atividade antioxidante frente ao radical DPPH, de 82,05% (Figura 4). Compostos que apresentam alto potencial em sequestrar radicais livres, possuem baixo valor de EC50. O valor de EC50 foi de 16,67 µg.ml-1.

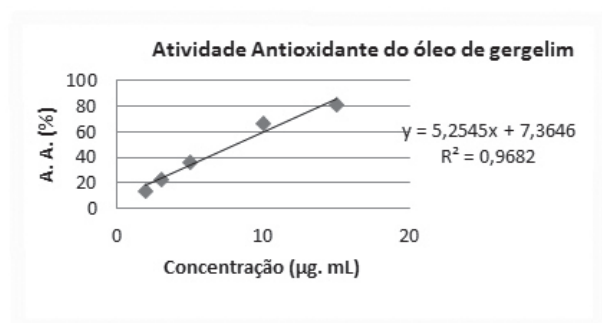


Figura 4. Gráfico da atividade antioxidante do óleo de gergelim.

Vários antioxidantes naturais já foram isolados de diferentes tipos de materiais vegetais, como sementes oleaginosas, cereais, legumes, frutas, folhas, raízes, temperos e ervas²². Embora compostos antioxidantes tenham sido identificados nas sementes de citros²³, uva²⁴, manga²⁵, canola^{26,27,28}, girassol²⁹, primula^{30,31}, gergelim³², linhaça³³ e tremoço³⁴, estudos relacionados com a atividade antioxidante de sementes de frutos tropicais e subtropicais ainda têm sido pouco relatados.

Em outros estudos sobre a atividade antioxidante de plantas medicinais, Souza et al.³⁴(2007) analisou a atividade antioxidante dos extratos etanólicos de cinco plantas: *Terminalia brasiliensis* (amêndoa-brava), *Cenostigma macrophyllum* (canela de velho), *Terminalia fagifolia* (capitão-do-mato), *Qualea grandiflora* (pau-terra-da-folha-grande) e *Copernicia prunifera* (carnaúba), encontrando EC50 de 44,53 µg.mL⁻¹, 78,45 µg.mL⁻¹, 42,23 µg.mL⁻¹, 50,16 µg.mL⁻¹ e 111,14 µg.mL⁻¹, respectivamente, mostrando que as espécies estudadas também possuem atividade antioxidante.

Conclusão

Esta análise demonstrou um alto valor de IA e um valor de IE distante do de IS para a amostra de óleo de

gergelim de procedência comercial. Quando analisados em conjunto, esses resultados indicam uma acentuada decomposição do produto por hidrólise. Portanto, esses testes simples e preliminares apontam que esta amostra de óleo de gergelim não está em conformidade com parâmetros exigidos para sua comercialização e consumo. Fato que se torna preocupante, uma vez que não há como assegurar que todo o óleo de gergelim comercializado no Mercado Municipal passe por um processo analítico de controle de qualidade.

A análise do potencial antioxidante frente ao sequestro de DPPH indicou o potencial antioxidante do óleo de gergelim, corroborando estudos anteriores encontrados na literatura científica e contribuindo para a consolidação da pesquisa de atividade antioxidante como um dos parâmetros de qualidade a serem exigidos no controle de qualidade deste produto.

Assim, mesmo que a prática popular do comércio de plantas medicinais e seus derivados esteja imbricada na cultura do povo brasileiro, torna-se salutar que o poder público e agências sanitárias reguladoras criem condições reais para que os comerciantes e/ou raizeiros tenham condições acessíveis de atender às exigências sanitárias. Nessa perspectiva, é necessária a criação de laboratórios oficiais de Controle de Qualidade, ou de parcerias sólidas como as Instituições de Ensino de Anápolis que dispuserem de cursos de Farmácia, Química e afins.

Referências

1. Anilakumar, K. R. et al. Nutritional, Medicinal and Industrial Uses of Sesame (*Sesamum indicum* L.)Seeds - An Overview. *Agric. conspec. sci.* **2010**, 75, 159 – 167.
2. Suja, K. P.; Abraham J. T.; Thamizh, S. N.; Jayalekshmy ,A.; Arumughan, C. Antioxidant effi cacy of sesame cake extract in vegetable oil protection. *Food Chem.* **2004**, 84, 393-400.
3. Quasem, J. M.; Mazahreh, A. S.; Abu-Alruz, K. Development of Vegetable Based Milk from Decorticated Sesame (*Sesamum Indicum*). *Amer J Appl Sci.* **2009**, 6, 888-896.
4. Maruno, M. Desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleo de gergelim aditivados de óleo de framboesa para queimaduras da pele. Thesis, School of pharmaceutical sciences of ribeirão preto Ribeirão Preto, University of São Paulo, **2009**.
5. Chakraborty, G. S.; Sharma, G.; Kaushik, K. N. Sesamum indicum: a review. *J herb med toxicol.* **2008**, 2, 15-19.
6. Tresvenzol, L. M. et al. Estudo sobre o comércio informal de plantas medicinais em Goiânia e cidades vizinhas. *Revista*

Eletrônica de Farmácia. **2006**, 3, 23-28.

7. Szydłowska-Czerwik, A.; Karlovits, G.; Dianoczki, C.; Recseg, K.; Szlyk, E. Comparison of two analytical methods for assessing antioxidant capacity of rapeseed and olive oils. *J Am Oil Chem Soc.* **2008**, 85, 141-49.
8. Ramadan, M.F.; Moersel, J.T. Screening of the antiradical action of vegetable oils. *J Food Compos Anal.* **2006**, 19, 838-42.
9. Chaiyasit, W.; Elias, R.J.; McClements, D.J.; Decker, E.A. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. *Crit Rev Food Sci Nutr.* **2007**, 47, 299-317.
10. Castelo-Branco, V.N.; Torres, A. G. Total antioxidant capacity of edible vegetable oils: chemical determinants and associations with oil quality. *Rev. Nutr.* **2011**, 24, 173-187.
11. Cunha, A.P.; Cavaleiro, C.; Roque, O.R. Lípidos: Constituição química e estudo dos fármacos gordos. In *Farmacognosia e Fitoquímica*; Cunha, A.P.; Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, **2010**; pp 175-208.
12. Espín, J.C.; Soler-Rivas, C.; Wichers, H.J. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J Agric Food Chem.* **2000**, 48, 648-56.
13. Tuberoso, C.I.G.; Kowalczyk, A.; Sarritzu, E.; Cabras, P. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. *J Agric Food Chem.* **2007**, 103, 1494-501.
14. Valavanidis, A. et al. Comparison of the radical scavenging potential of polar and lipidic fractions of olive oil and other vegetable oils under normal conditions and after thermal treatment. *J Agric Food Chem.* **2004**, 52, 2358-65.
15. Brasil. Farmacopeia Brasileira, 5ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **2010**.
16. Brasil. Farmacopeia Brasileira, 4ª ed. Atheneu, São Paulo: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **1988**.
17. AYSCOUGH, P.B.; RUSSELL, K.E. Spectroscopic studies of the reversible reaction between 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl and 2,4,6-tri-*t*-butylphenol. **1965**. *Canadian Journal of Chemistry*, v.43, p.3039-44.
18. Reda, S. Y.; Carneiro, P.I.B. Óleos e gorduras: aplicações e implicações. *Revista Analytica.* **2007**, 27, 60-67.
19. Mendonça, M. A. et al. Alterações físico-químicas em óleos de soja submetidos ao processo de fritura em unidade de produção de refeição no Distrito Federal. *Com. Ciências Saúde.* **2008**, 19, 115 – 122.
20. Moyna, P.; Heinzen, H. Lípidos: química y productos naturales que los contienen. In *Farmacognosia: da planta ao medicamento*; Simões, C.M.O. et al.; Editora da UFSC: Florianópolis; Editora da UFRGS: Porto Alegre. **2010**; pp 435-466.
21. Nascimento, C.J. Estudo químico e avaliação biológica de *Piper klotzschianum* Kunth (Piperaceae) e *Croton gregoioides* Baill (Euphorbiaceae). Thesis. Federal University of Bahia, **2010**.
22. Ramaratnam, N.; Osawa, T.; Ochi, H.; Kawakishi, S. The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trends in Food Science and Technology.* **1995**, 6, 75-82.
23. Alessandra, B.; Marie-elisabeth, C.; Hubert, R.; Claudette, B. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *J Agric Food Chem.* **1998**, 46, 2123-2129.
24. Jayaprakasha, G. K.; Singh, R. P.; Sakariah, K. K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitisvinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry.* **2001**, 73, 285-290.
25. Puravankara, D.; Boghra, V.; Sharma, R. S. Effect of antioxidant principles isolated from mango (*Mangifera indica* L.) seed kernels on oxidative stability of buffalo ghee (butterfat). *Journal of the Science of Food and Agriculture.* **2000**, 80, 522-526.
26. Krygier, K., F. Sosulski and L. Hogge, **1982**. Free, esterified and insoluble-bound phenolic acids. I. Extraction and purification procedure. *J. Agric. Food Chem.*, 30: 330-334.
27. Naczki, M.; Amarovicz, R.; Sullivan, A.; Shahidi, F. Current research development on polyphenolic on rapeseed/canola, a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **1998**, 62, 489-502.
28. Wanasundara, U. N.; Amarovicz, R.; Shahidi, F. Isolation and identification of an antioxidative component in canola. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **1994**, 42, 1285-1290.
29. Kubicka, E.; Jedrychowski, L.; Amarowicz, R. Effect of phenolic compounds extracted from sunflower seeds on native lipoxigenase activity. *Grasas y Aceites.* **1999**, 50, 3206-3209.
30. Balasinska, B.; Troszynska, A. Total antioxidant activity of evening primrose (*Oenothera paradoxa*) cake extract measured in vitro by liposome model and murine L1210 cells. **1998**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, p. 3558-3563.
31. Wettasinghe, M.; Shahidi, F. Evening primrose meal, a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **1999**, 47, 1801-1812.
32. Shahidi, F. Natural Antioxidants: An Overview “in” Natural Antioxidants Chemistry, Health Effects, and Applications. AOCS Press: Champaign, Illinois, p. 1-11. **1996**.
33. Oomah, B. D.; Kenaschuk, E. O.; Mazza, G. Phenolic acids in flaxseed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **1995**, 43, 2019-2026.
34. Tsaliki, E.; Lagouri, V.; Doxastakis, G. Evaluation of the antioxidant activity of lupin seed flour and derivatives (*Lupinus albus* ssp. *Graecus*). *Food Chemistry.* **1999**, 65, 71-75.
35. Souza, C.M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quimica Nova.* **2007**, 30, 351-355.

Liz P. do Rosário*, Paulo V. L.
de Sousa, Ellen Nayara M. B.
Fernandes & Giuliana M. V.
Verde.

Ciências Exatas e Tecnológicas. Universidade Estadual de Goiás.
Anápolis, GO.

*E-mail: liz_paulinha@hotmail.com

Os Fungos e a Glicosilação de Proteínas

Introdução

Dentre as modificações pós-traducionais, a glicosilação de proteínas é a mais comumente observada, sendo um processo importante tanto funcionalmente quanto estruturalmente. A produção de glicoproteínas abrange, não somente o reino animal, mas também as plantas, fungos e bactérias, por esses possuírem em suas células um conjunto de enzimas, denominadas glicosidases e glicosiltransferases, responsáveis pelas reações de formação de glicoproteínas¹.

A formação das glicoproteínas envolve uma variedade enorme de ligações carboidrato-peptídeo, que podem ser observadas ocorrendo naturalmente, desde os mais primitivos microrganismos até os organismos pluricelulares mais complexos. Isso demonstra que a glicosilação de proteínas, como processo pós-traducional, desempenha papel biológico essencial à vida².

A grande maioria das proteínas secretadas e presentes nas membranas celulares passam pelo processo de glicosilação. Os oligossacarídeos, estruturas contendo diversos açúcares, são ligados covalentemente às proteínas por dois tipos básicos de ligações: as N-glicosídicas e as O-glicosídicas. A estrutura dos oligossacarídeos pode variar de estruturas simples até estruturas muito complexas com vários tipos de resíduos de carboidrato³.

A glicobiologia é o ramo da ciência que se destina ao estudo estrutural, químico, sintético e funcional dos glicanos (carboidratos) e seus derivados. Os glicanos

são componentes celulares importantes e diversificados, com a habilidade de unir-se tanto a proteínas, como também a lipídeos⁴. Podem ocorrer basicamente dois tipos de glicosilação de proteínas: a chamada N-glicosilação, que envolve glicanos de estruturas e quantidades variadas, ligadas a uma sequência Aspartato-X-Serina/Treonina e o O-glicosilação, em que os glicanos se ligam a Serina ou Treonina, em estruturas menos robustas¹.

Os produtos da glicosilação são peças importantes e fundamentais em processos biológicos e patológicos, sendo que, mudanças estruturais nos glicanos têm demonstrado relação direta com sua função. Com o desenvolvimento da química, da glicobiologia e da biologia molecular, tornou-se possível o estudo das proteínas glicosiladas como possíveis fontes de novas terapias, utilizando estas moléculas no estudo e no desenvolvimento de novos fármacos ou como sítios de ação para outras substâncias⁵.

As glicoproteínas são objetos de estudo em várias áreas, envolvendo diferentes campos do conhecimento. Mostram-se uma importante fonte de novas terapias, nos projetos de desenvolvimento de novas drogas e no campo da descoberta de novas tecnologias. Muitas mudanças estruturais em glicoproteínas estão sendo vinculadas à ocorrência de doença, por isso, essas proteínas modificadas são vistas como possíveis novas fontes terapêuticas ou alvos terapêuticos⁶.

Alguns estudos têm demonstrado a relação entre erros na glicosilação e o câncer. Porém, não se sabe ao certo se o erro na glicosilação é a causa do

aparecimento do tumor ou uma consequência dele. Algumas glicoproteínas relacionadas a tumores foram identificadas como possíveis alvos para inibidores tumorais e outras como antígenos imunogênicos importantes para o possível desenvolvimento de uma vacina eficiente contra o câncer. Existem também as que podem ser usadas como marcadores para diagnóstico e prognóstico de patologias⁷.

Além dos avanços relacionados ao câncer, a glicosilação e os glicanos vem desempenhando papel importante também no estudo do desenvolvimento de vacina contra o vírus da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), na descoberta de novos antivirais, na pesquisa de novas terapias para distúrbios metabólicos e autoimunes, e ainda na elaboração de anticorpos monoclonais em vários contextos. O entendimento de processos patológicos e mecanismos de instalação de infecções por agentes infecciosos, envolvendo glicanos, também colabora para a descoberta de novas opções terapêuticas⁵.

O estudo da relação entre as estruturas dos glicanos e suas funções, assim como, o envolvimento da glicosilação em diagnóstico e prognóstico de doenças e os mecanismos moleculares envolvidos no desenvolvimento de patologias são temas de várias pesquisas nesta área. A análise estrutural detalhada das proteínas glicosiladas, principalmente das estudadas para fins terapêuticos e diagnósticos, é de grande importância, pois a estrutura da molécula pode afetar diretamente a imunogenicidade, a estabilidade e a farmacocinética da molécula⁶.

A caracterização de estrutura dos glicanos, devido a sua grande diversidade, é um processo complexo e dependente de várias técnicas. A espectrometria de massa e o uso de métodos cromatográficos têm demonstrado resultados satisfatórios no processo de caracterização dos glicanos¹. O desenvolvimento tecnológico possibilitou que as técnicas de espectrometria de massa se tornassem cada vez mais específicas e sensíveis, possibilitando caracterização e identificação fidedignas⁸.

Justifica-se a realização de estudos sobre a glicosilação de proteínas e glicanos como aprofundamento do conhecimento da relação estrutura-atividade e na busca de novas descobertas e possíveis novidades terapêuticas

e biotecnológicas que futuramente poderão contribuir para o desenvolvimento de novos produtos para a saúde e importantes economicamente. O objetivo deste artigo é discorrer sobre glicoproteínas fúngicas e sua importância dentro da biotecnologia, assim como, as funções que desempenham no microrganismo produtor e possíveis utilidades.

Utilização de Glicoproteínas Fúngicas

Os fungos são organismos vivos, eucariotos e heterotróficos. Sua parede celular é rica em quitina e possuem a capacidade de armazenar glicogênio assim como as células animais. Estão inclusos em reino próprio denominado reino Fungi, e encontram-se dispersos nos mais diversos ecossistemas, contribuindo para diversos ciclos naturais, biológicos e ecológicos. Podem ser leveduriformes, com somente um núcleo, ou filamentosos, possuindo maior número de núcleos⁹.

Estes organismos vivos desempenham importantes papéis em atividades humanas sendo que, desde a antiguidade, sabe-se, por meio de relatos, que eles são utilizados, por exemplo, na produção de alimentos por meio dos processos de fermentação. A biotecnologia é o campo que produz bens e serviços e desenvolve produtos por meio da utilização de organismos vivos e de seus derivados, em benefício e melhoramento da qualidade de vida do ser humano. Os fungos desempenham papel biotecnológico muito importante como pode ser observado na descoberta do antibiótico penicilina e na tecnologia de alimentos¹⁰.

Além da indústria de alimentos, exercem grande importância na produção de bebidas alcoólicas, na indústria farmacêutica, na produção de enzimas de uso e interesse industrial, biodegradação e tratamento de efluentes. Na agricultura, desempenham importante papel no auxílio do crescimento vegetal e na defesa contra fitopatógenos, ou seja, são opções viáveis para o biocontrole. Essas funções são possíveis apenas porque os fungos são capazes de produzir substâncias diversas devido ao seu conteúdo enzimático¹¹.

A célula eucariótica dos fungos possui o conjunto de enzimas necessárias para a produção de glicoproteínas pelo método pós-traducional da glicosilação. Essas

glicoproteínas podem exercer variadas funções. São essenciais nesses microrganismos para estrutura da parede celular e da célula como um todo, auxiliando na integridade e crescimento, diferenciação e sinalização, nas interações com outros seres vivos¹².

A presença de glicoproteínas na superfície celular de fungos é a responsável, juntamente com outras proteínas, pelo potencial patogênico do fungo. O desenvolvimento de micoses depende diretamente dessas estruturas. Elas permitem aderência aos tecidos do hospedeiro, invasão de tecidos, evasão à resposta imune, dentre outras ações patogênicas. A expressão destas moléculas está diretamente ligada às ferramentas genômicas desses fungos¹³.

O fungo *Candida albicans* possui uma parede celular rica em carboidratos isolados e carboidratos ligados a proteínas. Essas glicoproteínas têm importante papel antigênico ou alergênico quando é analisada a interação desse fungo leveduriforme com seus possíveis hospedeiros, principalmente o homem. A concentração dessas substâncias pode variar ainda entre diferentes cepas, dependendo da variabilidade genética e expressão gênica de cada uma, e também de suas variações bioquímicas¹⁴.

Outro fungo patogênico ao homem é o *Paracoccidioides brasiliensis* responsável por desenvolver uma patologia denominada paracoccidioidomicose. Estudo envolvendo a produção de anticorpos monoclonais contra a glicoproteína GP70 deste fungo demonstrou que esta molécula desempenha função importante na instalação da infecção, dando ao fungo a capacidade de escape ao sistema imunológico. A GP70 mostrou inibir a atividade fagocítica de macrófagos e também a liberação de substâncias importantes na destruição do patógeno¹⁵.

A paracoccidioidomicose é uma doença de grande importância em saúde pública no Brasil. As técnicas utilizadas para diagnóstico são baseadas na procura de antígenos, uma vez que os anticorpos são de difícil detecção. A própria GP70 tem sido procurada nas técnicas que avaliam a presença de antígeno. Além dela, a glicoproteína GP43, de grande importância para a patogênese do fungo também é o principal antígeno para o diagnóstico sorológico da infecção¹⁶.

Os fungos não causam patologias somente em

seres humanos. Existem alguns tipos de fungos, chamados fitopatógenos, que são responsáveis por desenvolver patologias em plantas e, por isso, podem comprometer a produção agrícola e a produção de produtos para consumo humano. Um exemplo destes fungos é o *Fusarium subglutinans*. Para se desenvolver mecanismos que combatam esse fungo, é imprescindível conhecer sua estrutura e composição química. A parede celular desse fungo é composta por uma glicoproteína constituída por mais de 50% de proteínas e 30% de açúcares, com a manose sendo o constituinte glicídico principal¹⁷. Além do *Fusarium subglutinans*, existem diversas espécies de fungos fitopatógenos. Podemos destacar o *Botrytis cinerea*¹⁸, *Sclerotinia sclerotiorum*¹⁹, *Rhizoctonia solani* e *Fusarium solani*²⁰.

Para o combate a esses fitopatógenos, uma alternativa que visa à substituição da utilização de pesticidas é o uso de mecanismos de biocontrole. Um desses mecanismos muito estudado é a utilização de outros fungos que sejam antagonistas aos fitopatógenos e esses, podem até mesmo, favorecer o desenvolvimento dos vegetais. O *Trichoderma harzianum* é um fungo filamentoso que tem demonstrado papel importante no controle de fitopatógenos²¹. Estudos futuros visam demonstrar a produção de glicoproteínas por este fungo, a importância dessas substâncias e sua relação com o biocontrole de fitopatógenos.

Fungos leveduriformes também têm mostrado capacidade de combate a fitopatógenos por meio da produção de toxinas que possuem efeito inibitório sobre o crescimento das hifas e a germinação de esporos²². Muitas toxinas produzidas por estas leveduras têm estrutura glicoproteica e esta estrutura está relacionada intimamente com o mecanismo de ação destas substâncias frente a outros fungos²³.

Certos fungos têm a capacidade de se associar simbioticamente a raízes de plantas, formando o que chamamos de micorrizas. Um grupo desses fungos é chamado de fungos micorrízicos arbusculares e são de grande importância na microbiota do solo e também para a agricultura²⁴. Essa importância se deve principalmente à glomalina, uma glicoproteína que auxilia na fertilização do solo, permeabilidade da água e retenção de carbono e outras partículas. Pesquisas com a glomalina podem aprofundar conhecimento

acerca da estrutura e qualidade dos solos, assim como, promover o desenvolvimento de novas tecnologias e produtos para agricultura²⁵.

Os benefícios da presença de fungos micorrízicos no solo estão intimamente ligados à presença das glomalinas. Além da retenção de carbono e da permeabilidade da água, essa glicoproteína permite a formação de aglomerados de metais, que funcionam como agentes quelantes do solo. O teor de glomalina presente no solo pode indicar quão degradado ou saudável este solo está²⁶.

A utilização biotecnológica de fungos e seus produtos tem se tornado cada vez mais ampla. Um exemplo disso é o uso de fungos basidiomicetos para limpeza de efluentes resultantes do processamento têxtil. Esses fungos possuem complexos enzimáticos responsáveis pela degradação de produtos químicos, principalmente corantes, que podem ser prejudiciais à natureza e aos seres vivos se permanecerem nos efluentes. Grande parte destes complexos possuem glicoproteínas, dentre elas, a lignina peroxidase, a manganês peroxidase, e a lacase. A biodegradação fúngica evita a utilização de produtos químicos para a limpeza dos efluentes o que diminui a concentração de compostos que podem alterar processos ambientais naturais²⁷.

A indústria farmacêutica também é responsável por forte impacto ao meio ambiente, uma vez que contamina efluentes com produtos resultantes da produção de medicamentos em larga escala. A utilização de fungos para limpeza desses efluentes parece ser um produto biotecnológico de grande valor que diminui os impactos da produção de medicamentos sobre os ecossistemas. Fungos como o *Pycnoporus sanguineus* e *Trametes versicolor* são produtores da glicoproteína lacase e poderão ser utilizados para tratamento de efluentes industriais diminuindo o impacto desta atividade sob a natureza²⁸.

Fungos produtores de lacase, lignina peroxidase e manganês peroxidase também podem ser utilizados para degradação de matéria orgânica. O *Trametes villosa* é um desses fungos que apresentam grande potencial para degradação e remoção de substâncias húmicas em ambientes aquáticos. Demonstram ser uma biotecnologia melhor que as bactérias nesse sentido, pois crescem normalmente em meio ao estresse destes

ambientes, ao contrário destes seres procariontes²⁹.

Existe uma glicoproteína de grande importância industrial chamada tanase. Esta pode ser produzida por fungos e é utilizada em larga escala na produção industrial de produtos como cerveja, sucos de frutas e vinhos. Sua obtenção não biotecnológica é cara, por isso, os fungos seriam uma ótima alternativa para essa produção³⁰. Podem-se produzir as tanases por fermentação, por meio, por exemplo, da utilização de fungos *Aspergillus sp.*, tendo como substrato resíduos agroindustriais de diversos produtos, como laranja, uva e café, com produção satisfatória da glicoproteína³¹.

O uso de proteínas recombinantes, como moléculas ativas farmacologicamente, é cada vez mais comum. Grande parte dessas proteínas necessitam ser glicosiladas para exercerem sua função, por esta depender de sua estrutura. Por isso, não podem ser produzidas por células procarióticas. Assim, as proteínas recombinantes glicosiladas são produzidas em células de mamíferos em laboratório. Os fungos têm sido estudados como sistemas de produção dessas glicoproteínas, como forma alternativa ao uso de células de mamíferos e têm demonstrado eficiência nessa síntese. Sua parede celular rígida confere aos fungos maior resistência ao estresse e maior facilidade de manipulação em laboratório³².

Algumas glicoproteínas produzidas por fungos já demonstraram possuir potencial farmacológico. O *Aspergillus nidulans* da linhagem RT2 é capaz de produzir uma glicoproteína chamada nandina que possui diferentes graus de glicosilação. Esta glicoproteína foi estudada e demonstrou-se *in vitro* e *in vivo* a sua atividade anti-inflamatória. Esta molécula inibe *in vitro* a produção da ciclooxigenase-2 e *in vivo* mostrou atividade em dois modelos de inflamação diferentes³³.

O fungo *Scleroderma nitidum* possui polissacarídeos que tiveram suas atividades farmacológicas avaliadas e demonstraram atividade anti-inflamatória e antioxidante. Ao analisarem-se as estruturas desses polissacarídeos em infravermelho, observou-se que eles provavelmente tenham estrutura glicosilada, formando um complexo polissacarídeo-proteína³⁴.

Considerações Finais

De acordo com os relatos feitos nesta revisão, pode-se concluir que as glicoproteínas têm várias funções

e são de grande importância para a biotecnologia e o desenvolvimento em vários campos. As glicoproteínas produzidas por fungos são importantes meios para se conhecer a estrutura do fungo e sua patogenicidade quando este é de causar doença no homem e em outros animais. São importantes no conhecimento da imunidade e no desenvolvimento de substâncias farmacologicamente ativas que algum dia poderão originar novos medicamentos.

A importância dos fungos na produção de produtos é conhecida desde os tempos mais remotos. A utilização da fermentação possibilitou que produtos hoje, amplamente consumidos, fossem introduzidos no mercado e melhorados com o passar dos anos. Muito do que é utilizado, proveniente desses microrganismos, surgiu graças a glicoproteínas produzidas por eles. Estas substâncias são utilizadas no processamento industrial e no tratamento de resíduos químicos em efluentes, o que é de grande importância para o meio ambiente.

Os fungos têm sido usados também como biocontrole de fitopatógenos, tendo enorme importância econômica na manutenção de grandes lavouras e evitam as perdas de produção por patologias que acometem as plantas. Além disso, são importantes componentes do solo, influenciando na fertilidade e composição, facilitando a permeabilidade da água, sendo importantes indicadores de degradação.

Diante destas conclusões, fica claro que estudos envolvendo a produção de glicoproteínas por fungos são importantes em várias áreas do conhecimento, podendo determinar o surgimento de novos produtos que poderão ser utilizados nos mais diferentes campos, englobando desde a área da saúde até a produção industrial.

Referências

1. Easton, R. Life Science. **2011**, 48, 1.
2. Spiro, R.G. Glycobiology. **2002**, 12, 43.
3. Voet, D.; Voet, J.G. Bioquímica. 4.ed. Artmed: São Paulo, **2013**.
4. Ohtsubo, K.; Marth, J.D. Cell. **2006**, 126, 855.
5. Dalziel, M.; Crispin, M.; Scanlan, C.N.; Zitzmann, N.; Dwek, R.A. Scien. **2014**, 343, 37.
6. Marinõ, K.; Bones, J.; Kattla, J.J.; Rudd, P.M. Nat. Chem. Bio. **2010**, 6, 713.
7. Hakomori, S. PNAS. **2002**, 99, 10231.
8. Stavenhagen, K.; Kolarich, D.; Wuhler, M. Chrom. **2015**, 78, 307.
9. Trabulsi, L.R.; Alterthum, F. Microbiologia. 3.ed. Atheneu: São Paulo, **2008**.
10. Faleiro, F.G.; Andrade, R.S.M.; Júnior, F.B.R. Embrapa: Planaltina, **2011**.
11. Abreu, J.A.S.; Rovida, A.F.S.; Pamphile, J.A. Revista Uningá. **2015**, 21, 55.
12. Pinto, M.R.; Barreto-Bergter, E.; Taborda, C.P. Braz. Jour. Micro. **2008**, 39, 195.
13. Santos, R.S.; Lima, O.S.; Almeida, D.C.; Barbosa, M.S. Rev. Saú. Pesq. **2012**, 5, 183.
14. Sippert, E.A.; Tartari, D.C.; Souza, J.H.; Silva, T.; Simão, R.C.G.; Gandra, R.F. Anais do XIX Encontro Anual de Iniciação Científica, Guarapuava-PR: Universidade Estadual do Oeste do Paraná, **2010**.
15. Grosso, D.M. Tese. Universidade Federal de São Paulo (Unifesp). São Paulo, **2013**.
16. Pereira, A.L.; Amorim, F.G.; Júnior, R.B.M. Rev. Elet. Farm. **2012**, 9, 29.
17. Santos, D.W.; Ricardo, W. Cadernos da Escola de Saúde. **2010**, 3, 1.
18. Lisboa, B.B.; Bochesse, C.C.; Vargas, L.K.; Silveira, J.R.P.; Radin, B.; Oliveira, A.M.R. Ciência rural. **2007**, 37, 1255.
19. Ethur, L.Z.; Cembranel, C.Z.; Silva, A.C.F. Ciência Rural. **2001**, 31, 885.
20. Pereira, J.L.; Queiroz, R.M.L.; Charneau, S.O.; Félix, C.R.; Ricart, C.A.O.; Silva, F.L.; Steindorff, A.S.; Ulhoa, C.J.; Noronha, E.F. Plos One. **2014**, 9, 1.
21. Steindorff, A.S.; Ramada, M.H.S.; Coelho, A.S.G.; Miller, R.N.G.; Júnior, G.J.P.; Ulhoa, C.J.; Noronha, E.F. BMC Genomics. **2014**, 15, 1.
22. Fazio, M.L.S. Tese. Universidade Estadual Paulista (UNESP). São José do Rio Preto, **2009**.
23. Martinac, B.; Zhu, H.; Kubalski, A.; Zhou, X.; Culbertson, M.; Bussey, H.; Kung, C. Cell. Bio. **1990**, 87, 6228.
24. Mergulhão, A.C.E.S. Tese. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, **2006**.
25. Rillig, M.C. Can. Jour. Soil. Scie. **2004**, 84, 355.
26. Pereira, C.D.; Andrade, R.L.M.; Machado, C.T.T.; Malaquias, J.V.; Nascimento, A.; Lopes, V. In: FertBio **2010**, Guarapari-ES.
27. Souza, A.F.; Rosado, F.R. Revista em Agronegócios e Meio Ambiente. **2009**, 2, 121.
28. Watanabe, R.A.M.; Júnior, H.M.O.; Sales, P.T.F.; Garcia, T.A.; Santiago, M.F. In: Congresso em pesquisa, ensino e extensão da UFG – CONPEEX, 3, **2006**, Goiânia.

29. Campos, R.F. Dissertação. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, **2011**.
30. Yao, J.; Guo, G.S.; Ren, G.H.; Liu, Y.H. Journal of Molecular Catalysis B: enzymatic. **2014**, 101, 137.
31. Nascimento, K.B.M.; Martins, A.G.R.; Takaki, G.M.C.; Silva, C.A.A.; Okada, K. E-xacta. **2014**, 7, 95.
32. Pourcq, K.; Schutter, K.; Callewaert, N. Appl. Micro. Biotech. **2010**, 87, 1617.
33. Queiroz, J.C.F. Tese. Universidade de São Paulo (USP). São Paulo, **2007**.
34. Nascimento, M.S. Dissertação. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, **2010**.

Stéphanie Naoum* & Valdirene N. Monteiro

Ciências Exatas e Tecnológicas. Universidade Estadual de Goiás.
Caixa Postal 459, CEP 75001-970, Anápolis, GO.

*E-mail: naoumstephanie@gmail.com

Instruções para Envio de Artigos para a Revista Processos Químicos

Prezado(a) autor(a),

Para que seu artigo possa entrar em nosso processo de avaliação, visando à possível publicação na revista Processos Químicos, ele deverá satisfazer às seguintes condições:

- ▶ Utilizar somente o editor Microsoft Word, numerando todas as páginas;
- ▶ Conter, no máximo, 40 laudas, incluindo Figuras, Tabelas, Esquemas etc.;
- ▶ Conter Resumo e *Abstract*, ambos com até 100 palavras;
- ▶ Conter Palavras-chave e *Keywords*, ambos com até 3 palavras;
- ▶ Título com, no máximo, 20 palavras;
- ▶ Titulação do autor (créditos). Dados pessoais do autor: endereço, telefone, e-mail;
- ▶ As figuras, tabelas, esquemas etc. devem ser colocados após as referências e devidamente identificados. Se escaneados, devem ser em alta resolução (800 dpi/ bitmap para traços) com extensão TIF ou JPEG. As fotos ou desenhos com cor (300 dpi/grayscale) devem ser enviados com extensão tif/jpg, para não termos problemas ao aplicá-las no padrão da Revista. Outras extensões possíveis: CDR, EPS ou CDX. No caso particular de esquemas contendo estruturas químicas, estas deverão ter sempre a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente. Considerar que as figuras deverão ter largura máxima de uma coluna (8,5 cm) ou, excepcionalmente, de 2 colunas (17,5 cm).

► As figuras (gráficos, esquemas, etc.) deverão ter qualidade gráfica adequada (usar somente fundo branco).

► A primeira página deverá conter o título do trabalho, nome e endereço dos autores (para a revista, a menor unidade é o departamento). Havendo autores com diferentes endereços, estes deverão se seguir imediatamente ao nome de cada autor. Os autores devem ser agrupados por endereço. Indicar com asterisco(*) o autor para correspondência, colocando seu e-mail no rodapé desta página (um só e-mail). A segunda página deverá conter o título, o resumo e o *abstract* do trabalho;

► As referências bibliográficas deverão ser numeradas e todas citadas ao final do artigo. Será utilizada a abreviatura da revista como definida no *Chemical Abstracts Service Source Index* (ver <http://www.cas.org/sent.html>). Caso a abreviatura autorizada de uma determinada revista não possa ser localizada e não for óbvio como o título deve ser abreviado, deve-se citar o título completo. Exemplos de citações:

1. Varma, R. S.; Singh, A. P.; J. Indian Chem. Soc. **1990**, 67, 518.
2. Provstyanoi, M. V.; Logachev, E. V.; Kochergin, P. M.; Beilis, Y. I.; Izv. Vyssh. Uchebn. Zadev.; Khim. Khim. Tekhnol. **1976**, 19, 708.
3. Lemos, T. L. G.; Andrade, C. H. S.; Guimarães, A. M.; Wolter-Filho, W.; Braz-Filho, R.; J. Braz. Chem. Soc. **1996**, 7, 123;
4. Ângelo, A. C. D.; de Souza, A.; Morgon, N. H.; Sambrano, J. R.; Quim. Nova **2001**, 24, 473.
5. Regitz, M. Em Multiple Bonds and Low Coordination in Phosphorus Chemistry; Regitz, M.; Scherer, O. J., eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, **1990**, cap. 2.
6. Cotton, F.A.; Wilkinson, G.; Advanced Inorganic Chemistry, 5th ed., Wiley: New York, **1988**.

► Espaço duplo entre linhas;

► Fonte: *Times New Roman* 12;

► A linguagem empregada deve ser atual. Isso implica a não utilização de termos, tais como: destarte, outrossim, descrever-se-á.

► O texto deve apresentar discurso impessoal, ou seja, expressões, tais como: constatamos, verificamos, utilizamos devem ser substituídas por constatou-se, foi verificado, utilizou-se.

► Enviar uma cópia do artigo, acompanhada de carta de encaminhamento à Editoria da Revista Processos Químicos, por meio do site **www.rpqsenai.org.br**. Maiores informações podem ser obtidas mediante endereço eletrônico: revistapq.senai@sistемаfieg.org.br.

VOCÊ É O PRIMEIRO INVESTIDOR

DA SUA IDEIA

DEIXE O **EDITAL SENAI SESI DE INOVAÇÃO** SER O SEGUNDO.

O **EDITAL SENAI SESI DE INOVAÇÃO** É O INCENTIVO DE QUE MUITA IDEIA PRECISA PARA IR PARA FRENTE.

Se a sua empresa tem um projeto no âmbito industrial para inovação tecnológica ou melhoria da qualidade de vida do trabalhador, inscreva-o no **Edital SENAI SESI de Inovação**. Se você busca desenvolver novos produtos, processos e serviços inovadores, agora é sua chance. Com isso, os maiores vencedores são o aumento da competitividade e da produtividade das empresas.

SAIBA MAIS EM EDITALDEINOVAÇÃO.COM.BR
E NÃO PERCA A OPORTUNIDADE DE FAZER
PARTE DO FUTURO DA INDÚSTRIA BRASILEIRA.

Innovate UK
Technology Strategy Board



Parceria:

Ministério do
Desenvolvimento, Indústria
e Comércio Exterior

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PÁTRIA EDUCADORA

Realização:



Iniciativa da CNI - Confederação
Nacional da Indústria