O embelezamento e corpo feminino no início do século XX nas propagandas da *Revista Feminina* (1914-1936)

Neide Célia Ferreira Barros
Graduanda em História/Bacharel em Direito/Especialista em História Cultural
Bolsista PIBIC/FH-UFG
neidecelia@gmail.com

Ana Carolina Eiras Coelho Soares[1]
Professora Adjunta da Faculdade de História e do PPGH
anacarolinaufg@gmail.com

Resumo

Este artigo apresenta os relatos e desenvolvimento da pesquisa "*O embelezamento e corpo feminino no início do século XX nas propagandas da Revista Feminina (1914-1936)*" trazendo discussões e resultados acerca do papel feminino no Brasil da Primeira República, em meio aos movimentos de modernização que passava o Estado. Salienta também os conceitos de beleza e os métodos de embelezamento utilizados no período, e de que forma tais revelam muito do cotidiano das masculinidades e feminilidades deste momento histórico e denotam as relações de gênero de tal contexto.

Palavras-chaves: Revista Feminina, Imprensa, Publicidade, Gênero, História do Brasil.

Introdução

O escritor Uruguaio Eduardo Galeano certa vez escreveu em um texto que chamou de "*Ventana sobre el cuerpo*"[2] que o corpo mais que uma culpa, como pretende a igreja, mais que uma máquina, como pronuncia a biologia, e mais que um negócio como propõe a publicidade, é acima de tudo uma festa. E assim, como receptáculo de prazeres este contista entendeu que mais que uma constituição orgânica, o corpo é um organismo atravessado por experiências, cultura, inteligência e desejos.

Indo de encontro com esta fala a historiadora Maria Izilda Matos definiu poeticamente o corpo como "âncora de emoções", construídas historicamente. Pois

[1] Revisado pela orientadora.
[2] GALEANO, Eduardo. *Las palabras andantes*. Buenos Aires: ed. Catálogos, 1993, p.109.

apesar da inegável funcionalidade biológica do corpo, ele também é um espaço de "eloquência" e de "silêncios" construídos pela cultura.

Diz esta autora: "A vida é uma experiência histórica que se tem com e no corpo, nela, o nascimento, o crescimento, o funcionamento do organismo" todavia salienta que "as formas como essas necessidades e funções físicas são entendidas, tratadas e praticadas contêm diversidades, podendo ser concebidas como *habitus*." (2007, p.13) E para isto que se atêm o faro do historiador, como propõe Marc Bloch. Para as práticas que se dão em torno do que é biológico. Para o que se constrói e se desconstrói na passagem do tempo.

Esta pesquisa se ateve a três pontos básicos, o corpo, a mulher e a beleza, por considerá-los fundamentais para a compreensão das relações de domínio entre os sexos. Michelle Perrot afirma que o corpo das mulheres é o centro de "maneira imediata e específica" das relações de poder. (2005, p.447) Então ao compreender os processos de embelezamento, notamos também a beleza como um meio de tutelar e limitar o corpo feminino, condicionando a identidade da mulher a sua estrutura corpórea, e definindo sua valoração à medida da sua capacidade de adequar-se a estas expectativas sociais.

A historiadora norte-americana Joan Wallach Scott no final dos anos 1980 trouxe à pauta das discussões históricas a categoria gênero, que revolucionou os debates em torno do corpo. Afirmando que as práticas de masculinidade e feminilidade não se baseavam no biológico, mas sim nas construções sociais que se davam o em torno do corpo sexuado, Scott demonstrou a historicidade no que era visto como inato. Salientou a importância da cultura nas construções corpóreas e abriu espaço para se repensar as possibilidades de identidades e de gênero.

Desta maneira, com base no texto de Scott esta pesquisa questionou a ideia de uma associação natural entre a beleza e feminino. Partindo do pressuposto do corpo como objeto histórico, mutável e com diversificadas percepções, este trabalho quis pensar através dos vestígios do passado (publicidades da *Revista Feminina*) a construção dos corpos das mulheres no Brasil do início do século XX e assim, pensar também as relações de poder envolvendo as feminilidades e masculinidades.

Metodologia

A fonte desta pesquisa é a *Revista Feminina*, importante periódico paulista, publicada durante o período de 1914 a 1936. Esta era uma revista direcionada especificamente às mulheres, e se tornou um grande sucesso a partir de 1918, chegando a uma tiragem de 25 mil exemplares e tendo circularidade em todos os estados do país.

O trabalho teve como foco as publicidades por acreditar que as que "as propagandas veiculadas em periódicos disseminam muito mais que as possibilidades de simples aquisição". Acredita que tais incutem "gostos, hábitos e discursos em seus leitores através das propagandas." E assim revelam muito do cotidiano de uma sociedade, especialmente das mulheres, cujas fontes históricas normalmente silenciam suas existências. (SASAKI, 2010, p.1)

A pesquisa procedeu-se da seguinte forma: Em Agosto de 2012, após a renovação do projeto do ano anterior (PIBIC), retornou-se a pesquisa, investigando em na fonte o ano de 1921, ainda utilizando a mídia microfilmada, onde só era possível o acesso na Faculdade de História da Universidade Federal de Goiás. Há de se ressaltar que devido à greve, não era possível o acesso à universidade todos os dias. Sendo limitados pelos diversos transtornos ocasionados pela paralisação, acarretando diversos atrasos.

Contudo, a partir de Novembro de 2012, a Universidade Estadual de São Paulo (UNESP) disponibilizou online (http://www.delphos.biblioteca.unesp.br/) o acervo completo da *Revista Feminina*, de 1914 a 1936. Isso fez com que os trabalhos ganhassem um grande impulso e se tornassem menos moroso, permitindo que a investigação se desse em qualquer computador com internet. Tal avanço também possibilitou disponibilizar imagens (em preto e branco) mais nítidas. Deste modo, passou-se a utilizar a pesquisa *online* como principal meio de contato com a fonte.

Quando esta pesquisa estava em vias de conclusão o Arquivo Nacional de São Paulo (http://www.arquivoestado.sp.gov.br/upload/revistas/) disponibilizou em documento tipo PDF, arquivos da revista de 1914-1926. Desta forma, devido à qualidade do material foram refeitas algumas das seleções do referente período.

Juntamente com o contato direto a fonte, acontecia mensalmente encontros de orientação, onde a Profª Drª Ana Carolina Eiras Coelho Soares, indicava bibliografias e sugeria a inscrição em eventos e a produção de artigos. Para auxiliar as leituras foi

cursado um Núcleo Livre (2° semestre de 2012) denominado "Gênero e Cultura" para aprimorar o arcabouço teórico acerca do tema pesquisado. Após os recessos de final de ano, já havia sido feita as coletas das imagens das publicidades e iniciou-se um intenso período de produção de artigos.

Durante o período da pesquisa foram apresentados cinco trabalhos em eventos acadêmicos, e produzido relatórios de pesquisa, onde constavam os dados referentes aos números de publicidades.

Os relatórios observaram dois aspectos: tipo de produto (dividido em produto de beleza, produto de cuidado, outros) e quantidade de página e produtos, divulgados por edição. Considerou-se artigo de embelezamento todos os que se relacionavam a modelação do corpo. Podendo ser eles chamados de remédios ou cosméticos. Há de se lembrar, como fala Denize Bernuzi Sant'Anna, neste momento da história, não há uma distinção muito clara entre item farmacêutico e item direcionado a estética. O que ela chama de "remédios da beleza" são na verdade produtos híbridos, que oferecem a cura das doenças, e consequentemente cura da feiura.

Como tratado, seguem abaixo um exemplo de cada: Primeiro o "Esmalte Gaby" se propõe a simplesmente enfeitar as unhas, desta forma entendemos ele como um **cosmético**. No entanto a imagem 2 revela uma pomada que limpa a pele, curando-a, e consequentemente deixando bonita quem a usar. Logo é um **remédio de beleza**.



(Imagem 1 - Publicidade: Esmalte Gabi. Revista Feminina, 1923)



(Imagem 2 - Publicidade: Pomada Onken. Revista Feminina, 1921)

Entendeu-se como **produto de cuidado** tudo que se relacionava ao dever de mãe e esposa. Assim, remédios para crianças, itens de embelezamento da casa, como venda de tecidos para cortinas, tapetes e materiais de limpeza foram categorizados no item "cuidadora", como pode ser visto nas imagens a seguir:

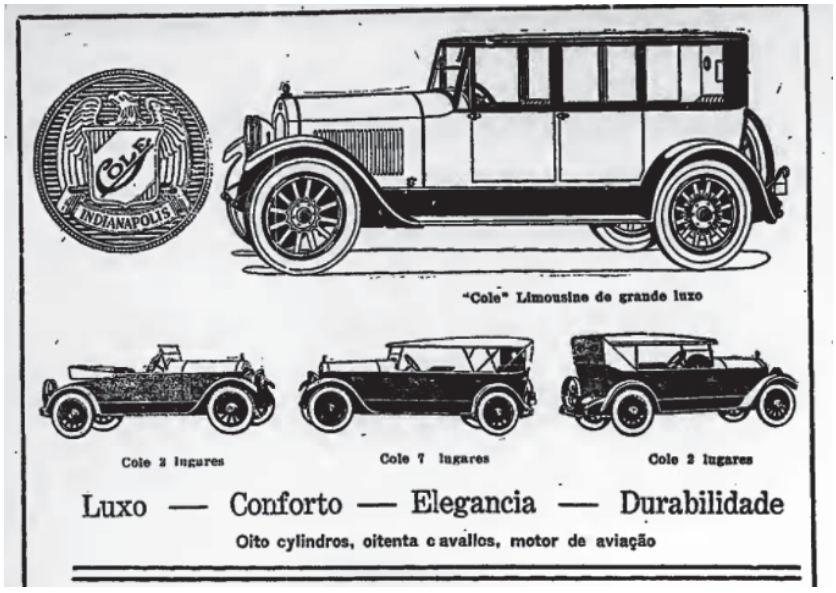


(Imagem 3 - Publicidade: Loja Mappin Store. Revista Feminina, 1921)



(Imagem 4 - Publicidade: Emulsão de Scott. Revista Feminina, 1922)

E por fim, considerou-se outros, todos os demais itens. Podendo ser desde produtos considerados da esfera do feminino, como joias e tecidos para vestidos, até artigos considerados destinados a homens, como charutos e automóveis.



(Imagem 5 – Publicidade Cole Indianápolis, Revista Feminina 1920)

Posteriormente, selecionou-se as publicidades destinadas a formatação do corpo e ao embelezamento e observou-se os discursos apresentados nos artigos da revista nas edições que apresentavam tais publicidades, fazendo uma comparação entre a fala do periódico e a fala dos reclames, comparando-os também como o que tratava a historiografia de tal contexto.

Em suma, nesta investigação adotou-se majoritariamente a pesquisa *online*, realizou-se coleta das imagens, criando um acervo. Categorizou as publicidades em três grupos, e deu-se ênfase aos reclames que vendiam o embelezamento, fazendo deste o principal foco de análise.

Resultados:

Durante este processo foram concluídos cinco artigos e relatórios que apresentavam os dados que trataremos a seguir. Os artigos, apresentados em eventos contribuíram para o desenvolvimento acadêmico da pesquisadora, e para divulgação da importância de se tratar de Gênero. Os trabalhos foram os seguintes:

1. "Propagandas na Revista Feminina (1914-1936): construção e desenvolvimento de pesquisa." no XXVII Seminário Nacional de História da Anpuh, em Natal-RN em 2013;
2. "Anna Rita Malheiros: um olhar masculino na imprensa feminina (1920-1925)." na XII Semana de História da UFG, 2013;
3. "Beleza em foco nas propagandas da Revista Feminina (1914-1936)." no I Colóquio de Gênero e Imagem: Olhares e subjetividades, 2013, Goiânia;
4. "A beleza e a brancura: as relações de gênero e a eugenia na Revista Feminina (1920-1921)." no II Seminário de Especialização em História Cultural da UFG, 2013, Goiânia;
5. "Arte da Belleza: A construção da mulher segundo a Revista Feminina (1920)." na XI Semana de História da UFG, 2012, Goiânia.

Os relatórios apontam que 25% das publicidades apresentadas mensalmente nas edições da revista (Gráfico 1) eram direcionadas especificamente a modelagem do corpo, se apresentando como remédio ou cosmético, numa função múltipla de cuidar, tratar e embelezar. Nestes dados não estão inclusos a divulgação de objetos de adornos como joias ou tecidos, e sim publicidades que prometiam o melhoramento do corpo em si. Outra porcentagem importante das publicidades se ligava a imagem da mulher

cuidadora (publicidades de remédios para crianças, fortificantes e de itens para decoração do lar). Contudo, o periódico oferecia também esporádicas propagandas aparentemente direcionadas ao público masculino como de charutos, companhia mecânicas e serviços de manutenção de carros. Assim, em um contexto onde a mulher não era incitada a tais atividades, entendemos que a revista propõe que existe um diálogo entre marido e esposa. Outra conclusão importante é que a maior parte da publicidade direcionada a mulher é relativa ao cuidado e a modelação de seu corpo. Ainda que as atividades de cuidadora concentrem o maior espaço nas páginas publicitárias, estes são ligadas a diversas funções do cuidar. Desta forma consideramos que, mesmo em uma quantidade menor, o número dos produtos que se direciona especificamente ao embelezamento acaba se tornando mais expressivos, por se direcionarem a uma única função, tornar a mulher bonita e saudável. Isto nos leva a crer que uma cultura da beleza como principal atributo e qualidade feminina sustenta desde o período do Brasil recém capitalista, uma indústria muito lucrativa.

Foi possível notar que há um aumento razoável de publicidades publicadas por edição de revista. Começa em 1914 com pouco mais de dez propagandas, aumenta gradativamente, e em 1927, devido ao prestígio e o alcance de público, a revista chega a publicar 90 peças ilustradas por edição, em suas 80 páginas. As ilustrações que inicialmente eram um luxo raro se tornam cada vez mais comuns. Sendo que nos últimos anos todas elas passam conter um desenho que reafirme o discurso escrito. Em 1936, a revista publicava em média 36 páginas, contendo em média 50 propagandas. (Gráfico 2)

Gráfico 1: Publicidades de produtos

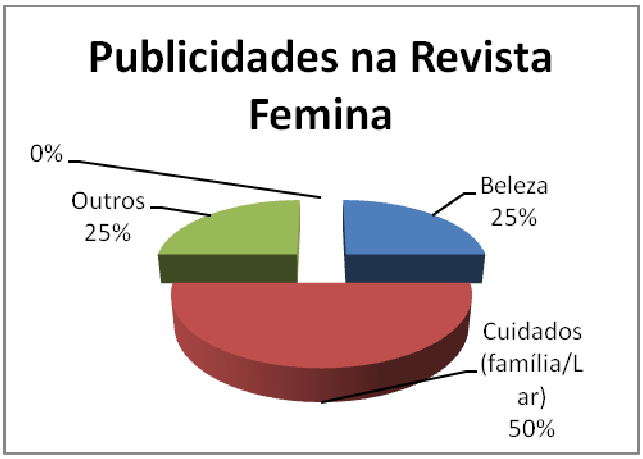
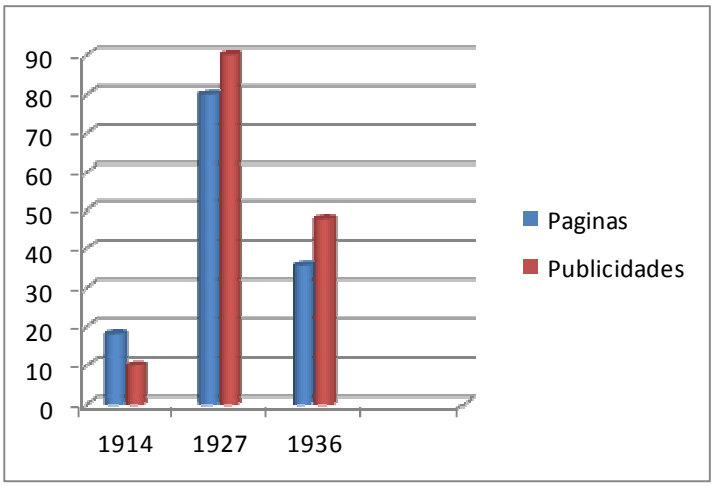


Gráfico 2: Número de Páginas e de Publicidades publicadas por mês



Verificou-se ainda que houve um crescimento exponencial de produtos de beleza sendo vendido pela *Empreza Feminina Brasileira,* indústria e comércio geridos pela família proprietária da *Revista Feminina*. Começando com cinco produtos expostos (1918) e chegando ao auge de quarenta. Ou seja, os proprietários da revista também se beneficiam do já pujante comércio do combate entre a beleza "contra" a feiura.

Também se observou que na maioria das edições apresentavam pelo menos um creme para o embranquecimento da pele, denotando as falas da beleza associada indubitavelmente à brancura.

Em resumo, as publicidades revelaram muito dos discursos do tempo, da imagem da mulher, através de falas e ilustrações. Isso já delineado nos artigos apresentados. Todavia o que se sobrepõe de maneira gritante, ao analisarmos os dados de vendas e permanências de produtos sendo divulgados, é que a beleza, ou a busca dela, é um excelente mercado. Neste momento (início do Séc. XX) em que os corpos passam ganhar evidência, e que o capitalismo expande seus tentáculos aos "novos" continentes, o corpo feminino tutelado, pela beleza manifesta nas políticas de higiene e eugenia, corroboram com a criação de uma indústria. Esta se alimenta da insatisfação e da ideia de que toda valoração do feminino vem da adequação de seu corpo às métricas e formas exigidas socialmente.

Discussões

O teórico Francês Lucien Febvre diz que "não há pensamento religioso (nem pensamento), por muito puro e desinteressado que seja, que não tenha na sua própria substancia a atmosfera da época" (1970, p.15) desta forma não se pode afastar desta pesquisa o contexto político e social que se passava o Brasil e o mundo, nos anos que a revista publicou suas edições. Foram anos de profundas mudanças, e, tais refletiram nas concepções dos corpos, e nas ideias de feminino.

Os anos 1920 trouxeram consigo a intensificação de um processo global que já vinha atingindo o Brasil desde o final do século XIX. Nicolau Sevcenko afirma que a expansão capitalista que estendeu suas operações para todos os cantos do mundo a partir do final do século Vitoriano, foi de encontro "as sociedades tradicionais, de economia agrícola" e que este fator iniciou um processo de intensas modificações: "em nenhum período anterior tantas pessoas foram envolvidas de modo tão completo e tão rápido num processo dramático de transformações" (1998, p.1-15)

Desta forma o novo país, que proclamara a república nos findos de 1889 e que abria seus mercados e tentava se enquadrar nas expectativas de uma nação pujante precisava passar antes de atingir as glórias das potencias mundiais, por um amplo processo de modernização. Para deixar de ser, como afirma Ângela Castro Gomes, uma sociedade "insolidária e patriarcal" (1998, p.502-510). Desta maneira "sanear, remodelar, civilizar passaram a ser as palavras de ordem do Estado Brasileiro". (SANDES, 2002, p.27). Tendo grande intensificação a partir dos anos 1910, quando se institucionalizou modelos políticos baseados na eugenia e no sanitarismo, com a criação de órgãos específicos como o Departamento Nacional de Saúde Pública (DNSP), em 1920, e a Liga Pró-Saneamento, em 1918.

Deste modo, os corpos ganharam a medida de seu tempo. Os discursos de beleza se revestiram de cientificidade. Da palavra da figura central desta sociedade, o médico. Isto pôde ser visto nas publicidades da revista, que sempre traziam uma nota com o nome do "grande cientista" que havia desenvolvido a fórmula. Estas prometiam soluções milagrosas para os diversos "defeitos" femininos, os chamados remédios que curavam a feiura. Além do mais, os produtos de beleza que apareciam nas páginas das revistas e jornais ganhavam *status* de medicamentos poderosos capazes de curar a "doença" da falta de formosura.

Saúde e beleza se tornaram sinônimos. Do mesmo modo que brancura se tornou pré-requisito para se dar valor e admiração à um corpo. Diz um artigo da Revista em tal período:

> Quando se fala em belleza do corpo não é mister se falar em saúde porque não há belleza sem saúde. Sem saúde a onificação é fraca o que acarreta a podridão dos dentes; o sangue é fraco produzindo uma má carnação. (*Revista Feminina*, SP/BN, Maio de 1920, p.46-47).

Ou ainda "sol é um dos inimigos mais terríveis ao brilho da pelle a qual exposta durante algum tempo a seus raios ardentes toma coloração parda amarelenta semelhante ao cobre" ou seja, a pele não branca não oferecia capacidade de atração, coisa que para revista era o grande objetivo do feminino.

Todavia, em oposição esta ideia, e indo de encontro com os pensamentos de Joan Scott, este trabalho questiona a ligação natural do feminino a beleza. Se as funções e espaços de cada gênero são construídos na história, porque a regulamentação do corpo às métricas exigidas socialmente é o principal atributo da identidade do feminino? Se vimos que os corpos, organismos biológicos e aparentemente naturais, também são frutos da cultura, porque se relega um espaço natural e determinante da beleza como definidora do feminino e como um atributo próprio do *ser* mulher?

Naomi Wolf diz que este "Mito da Beleza" é acima de tudo um discurso político de *desempoderamento* da mulher. E que apesar deste se vestir de argumentos biológicos, onde se diz que a beleza é um critério de seleção natural, não passa de uma fala de opressão inventada nas sociedades contemporâneas. Wolf diz que a beleza se tornou um "padrão monetário" a partir da Revolução Industrial, pois antes dela a valoração da mulher se dava a partir da sua capacidade de contribuir na sua unidade familiar. (1992, p.17) Assim para Wolf, a ideia de que a beleza se liga a mulher, por uma questão biológica nada mais é que um discurso que envolve diversos interesses políticos e econômicos.

Do mesmo modo o excesso de valoração do físico cria um mercado que se alimenta da insegurança, pois enquanto ser belo é um valor, ser feio é um desvalor. E quando toda sua capacidade como humano se liga a sua habilidade de se adequar a este padrão – modificado no tempo – de valoração, não estar bela torna menos *mulher*, logo menos *autorizada*. Desta forma sempre haverá um mercado crescente da beleza, pois

esta mulher cuja presença depende das formas de seu corpo, estará consumindo a fim de evitar perder o seu valor maior enquanto pessoa.

Conclusões:

A primeira conclusão, ao analisar cuidadosamente as publicidades e também alguns artigos, é que está muito presente no discurso da revista questões muito salientes do país *em modernização* que era o Brasil do início do Século XX. Todas as falas, contendo um discurso político do momento, são aplicadas ao universo considerado feminino, de mãe e esposa. Desta maneira *o higienismo, o sanitarismo, a modernidade, a civilidade e a eugenia* são muitas vezes notados em questões que dizem respeito ao corpo das mulheres e aos cuidados com a família.

A revista enxerga a mulher como um instrumento de educação desta nova geração, e por isso acredita que nela tem de ser imbuídos os preceitos de modernidade, que irão melhorar a nação. As publicidades muitas vezes oferecem remédios/cosméticos para curar e manter limpo tanto as mulheres quanto suas famílias. Também há uma grande quantidade de produtos que prometem embranquecer a pele feminina, do mesmo modo que artigos com "dicas" de beleza ressaltam a qualidade da brancura como principal atributo da bela mulher. Revelando as ideologias Eugênicas, adotadas no Brasil como a forma de "salvar" o país e construir uma nação forte.

Também percebeu-se que o sanitarismo e a urbanização interferiram no espaço feminino, contribuindo para criação de novas práticas de beleza e o cuidado com o corpo. Traçando novas expectativas sobre o belo e por vezes, se chocando com a ordem moral estabelecida. Isto pode ser visto através das publicidades, que trouxeram vestígios das transformações do imaginário em meio às mudanças da sociedade. Deste modo o imaginário, a educação e os discursos de modernidade inseridos no Brasil a partir do final do século XIX transformaram as percepções de corpo feminino. Sendo as publicidades, tanto agentes de mudança, quanto reveladoras deste turbilhão. Percebeu-se então que o fato do corpo ir de encontro com os paradigmas de seu tempo denota que, mais que uma definição biológica, o corpóreo é um constructo histórico.

Deste modo, ficou claro a desnaturalização do corpo, uma vez que o notamos como consequência de seu tempo. Assim, concluiu-se que o feminino não é condicionado pela sua biologia, mas sim pela cultura que delimita espaços de ações e fala, e muitas vezes a liga toda sua identidade a habilidade de adequar-se fisicamente

aos preceitos determinados neste mesmo grupo. Logo, ao entender que a beleza ligada a identidade feminina, e até mesmo a própria noção de feminino, é um discurso de um tempo, que alimenta uma indústria (como pode ser visto nos dados) e cria modos de desempoderamento da mulher, pode-se repensá-la e até mesmo reconstruir percepções menos massacrantes.

Considerações finais

O historiador alemão Jörn Rusen diz que a história é a "orientação temporal [que] une o passado ao presente de tal forma que confere uma perspectiva futura da realidade atual" sendo assim "o nexo significativo entre o passado, presente e futuro" (2010, p.56-57). Desta maneira, indo de encontro ao pensamento deste teórico, consideramos que revisitar estes corpos do passado – idealizados e vendidos pelas propagandas e educados pelos discursos da revista – é uma forma de dar sentido ao nosso tempo, onde os corpos femininos são massacrados e retalhados. E entende-lo como históricos, ou seja, mutável no tempo, nos permite questionar o pensamento que alega que o corpo feminino é o centro de toda identidade do *ser* mulher. E consequentemente questionar toda estrutura opressora que se reveste desta fala.

Pesquisar Gênero e História é uma forma de criar diálogos que subvertam as ideias deterministas e limitadoras sobre por quais espaços cada corpo pode transitar. Pois ao entender que as concepções de masculinidades e feminilidades são construídas no tempo, se desabona o discurso que há uma justiça biológica que separa os limites de cada estrutura corpórea pela sua genitália. Desta maneira, ao se escrever a história da beleza, das mulheres, dos corpos, do Gênero enfim, busca-se trazer à luz um novo sentido, para que se repense as violências sobre os indivíduos e suas escolhas. Acima de tudo, sobre os desejos.

Referências

BLOCH, Marc. Apologia da Historia. Ou o ofício do historiador. Rio de Janeiro: Zahar, 2002.

FEBVRE, Lucien. *O problema da descrença no século XVI*. Lisboa: Editorial Início, 1970.

GALEANO, Eduardo. *Las palabras andantes*. Buenos Aires: ed. Catálogos, 1993.

GOMES, Angela de Castro. A política Brasileira em busca da modernidade: na fronteira entre o publico e o privado. In: *História da vida privada no Brasil*, Volume 4. São Paulo: Companhia das Letras, 1998.

PERROT, M. *As mulheres ou os silêncios da história.* Bauru-SP: Edusc, 2005

RUSEN, Jorn. *O desenvolvimento da competência narrativa na aprendizagem histórica: Uma hipótese ontogenética relativa a consciência moral.* In: SCMIDTH, Maria Auxiliadora. BARCA, Isabel. MARTINS, Estevão de Rezende. (org). Jorn Rüsen e o ensino de história. Curitiba: ed. UFPR, 2010.

SASAKI, Silvia. Smoking Fetiche. *As representações femininas nas propagandas de cigarro (1940-1960).* Seminário Internacional Fazendo Gênero 9: Diásporas, Diversidades, Deslocamentos. – Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

SANDES, Noé Freire. *Nação, políticas de Saúde e identidade (1920-1960).* Coleção Quíron. Goiânia: Ed. UFG, 2002.

SANT'ANNA, Denize Bernuzzi de. *Políticas do corpo*. São Paulo: Estação liberdade, 1995

SCOTT, Joan. Gênero: Uma categoria útil de análise histórica. Revista Educação e Realidade, v.15, n.2, jul/dez, 1990

AS PEQUENAS PROFISSÕES EXÓTICAS: PRECARIZAÇÃO E FORMAS ATÍPICAS DE TRABABALHO.

NEIDIÂNE CARDOSO DA SILVA-GRADUANDA DE CIÊNCIAS SOCIAIS E BOLSISTA PIBIC,

JORDÃO HORTA NUNES-ORIENTADOR, DOUTOR EM SOCIOLOGIA,

FACULDADE DE CIÊNCIAS SOCIAIS-UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

E-MAIL: neidianecardoso89@hotmail.com; jordão.fchf.ufg@gmail.com

RESUMO

Nos últimos anos nota-se visivelmente um aumento no número de vendedores no centro comercial popular de Goiânia. Com um papel de destaque para os vendedores de produtos eletrônicos, onde se tem uma grande procura por produtos de preços mais acessíveis do que seus concorrentes no mercado formal. E por ser um tema ainda pouco estudado, resolvemos pesquisar essa profissão informal e precarizada para abordar sociologicamente o trabalho em ocupações historicamente desprestigiadas e formas de trabalho atípico urbano.

Segundo Durães (2011) o fenômeno da informalidade hoje no Brasil, e no mundo já ultrapassou, sobretudo, a mera fronteira das ruas, das cidades. A informalidade é mais que isso, é global e presente em diversas partes do mundo, seja composta por imigrantes (lotados em países centrais), seja por populações de passado de emprego estável, formal. Ela está, portanto, inserida nessas mudanças globais, sofrendo influência e remodelações.

PALAVRAS CHAVES: profissão informal, produtos tecnológicos, vendedores de produtos eletrônicos, camelódromo, identidade social.

INTRODUÇÃO

O Presente projeto se vincula "As pequenas profissões exóticas: Precarização e formas atípicas do trabalho", coordenado pelo professor Jordão Horta Nunes. O projeto

trata do trabalho informal, analisando a relação entre a organização do trabalho informal e a identidade social de trabalhadores que atuam em áreas socialmente desprestigiadas, e por vezes ilegais. O foco deste trabalho são os vendedores de produtos tecnológicos (como celulares, MP3, games, pen drive e máquinas fotográficas) que atuam em camelódromos fixos na cidade de Goiânia.

A pesquisa realizou-se na cidade de Goiânia, onde nota-se visivelmente um aumento no número destes vendedores nos últimos anos, prioritariamente nos camelódromos localizados no Setor Central e em Campinas. Onde já existe uma representação social a respeito desses locais, por serem ocupados por diversos tipos de camelôs que vendem de objetos tecnológicos a roupas, sapatos, artigos esportivos, objetos decorativos, entre outros. Os trabalhadores recebem mercadorias (ou vão busca-las),por vezes oriundas do Paraguai e da China que são contrabandeadas para o Brasil, além de produtos lícitos provenientes da Zona Franca de Manaus, por exemplo. Assim, vendem estes produtos a preços mais acessíveis do que seus concorrentes no mercado formal a uma ampla clientela.

Pesquisamos sobre este tipo de trabalho precarizado são escassas e geralmente abordam as condições socioeconômicas dos trabalhadores além de sua relação com o capitalismo no mundo globalizado e a organização social dessa forma atípica de trabalho. Um exemplo disso é a tese de doutorado “Camelô de Tecnologia ou Camelô Global: Novas formas de expansão do capital na rua” (DURÃES. B.J. R), em que o autor considera que o trabalho de venda informal de produtos tecnológicos possui uma amplitude global, visto que são ligados diretamente a fenômenos mundiais, e seguem padrões correntes do Capitalismo.

Consideramos, com base na teoria da socialização e de construção de identidades de Claude Dubar, que “As identidades profissionais são maneiras socialmente reconhecidas para os indivíduos se identificarem uns com os outros, no campo, de trabalho e do emprego” (DUBAR, 2005), levando também em conta que esses trabalhadores estão inseridos em um contexto de globalização capaz de gerar múltiplas identidades (HARVEY, 2008), faz-se necessário pesquisar como se dá a formação da identidade profissional do trabalhador que convive com seus vizinhos de loja e fornecedores de mercadorias, nem sempre lícitas, além de representantes de sindicatos e associações e fiscais do Estado. A forma identitária laboral convive também com outras formas

identitárias, como a de gênero, que tem origem na socialização familiar e a simbólica, que inclui valores estéticos, políticos e religiosos. Por outro lado, a construção de identidades também está relacionada a atributos institucionais, como escolaridade, formação, pertencimento a grupos sociais de referência, além de outro marcos institucional.

Cabe-se ainda analisar as formas de reconhecimento social relacionadas ao trabalho na ocupação de camelô de produtos eletrônicos, geralmente negativas e preconceituosas, visto que são formas atípicas de trabalho são, por vezes, mal vistas pela sociedade. Por outro lado, na moderna sociedade de consumidores (CF.BAUMAN, 2008), o próprio *habitus* (CF.BOUDIEU, 2007) de consumo de bens e serviços tornam-se marcos identitários, substituindo outros atributos clássicos da identidade, como escolaridade, formação e profissionalização. Como a atividade do comércio informal de produtos tecnológicos importados é bastante lucrativa acesso á sociedade de consumo é facilitado.

METODOLOGIA

A pesquisa empírica realizou-se através de um levantamento bibliográfico para melhor compreensão dos processos do trabalho informal desta e de outras localidades e de formação de um embasamento teórico para a análise.

O referencial metodológico deste plano de trabalho foi guiado pela sociologia interpretativa, principalmente sob a influência da sociologia crítica, ao interacionismo e da sociologia do trabalho francesa.

O estudo procurou estudar os fenômenos dentro do contexto do trabalho informal numa dimensão integrada e a partir dos atores sociais envolvidos com a situação real e que deste envolvimento tiram suas próprias percepções e interpretações.

Os procedimentos metodológicos utilizados foram: entrevistas com 11 interlocutores na base semiestruturadas de profundidade e entrevistas narrativas (CF.FLICK, 2009), sempre acompanhadas de observação sistemática, de caráter etnográfico, nos locais de trabalho de camelôs de eletrônicos. Onde foram feitas um roteiro de 33 perguntas para os 11 interlocutores, com perguntas referentes a informações: do dia-a-dia de trabalho, relação com colegas de trabalho, representações sociais no camelódromo, relacionamentos com clientes, questões jurídicas/fiscalização comercial, gênero,

trajetória ocupacional e identidade ocupacional, durante a realização das suas atividades, caracterizada pela presença do pesquisador no contexto organizacional do trabalho informal, procurando ver essa profissão informal nas categorias de análise e observação, descrevendo as principais falas e representações dos sujeitos envolvidos no processo.

Os procedimentos metodológicos, em si e o trabalho etnográfico, seguiram toda a abordagem qualitativa, numa dimensão ética, onde os interlocutores tiveram suas identidades preservadas através de um termo de consentimento livre e esclarecidas para se preservarem e foram informados dos objetivos da pesquisa, respeitando o direito a participação desses atores sociais e reconhecendo sua importância no contexto da pesquisa.

Cabe-se ressaltar que o tratamento dos dados coletados se tornou um procedimento contínuo na interpretação dos dados. Onde foram tratados através da análise de conteúdo, objetivando para o entendimento das falas dos atores sociais, envolvidos na pesquisa. A partir da análise dos dados coletados, iniciou-se uma investigação na construção social e de suas atividades profissionais e ocupacionais, levando a falta de reconhecimento e discriminação profissional típica do trabalho informal, e utilizando como principal referencial teórico a abordagem de Claude Dubar (2005), que defende os processos de socialização (exemplificando em ênfase, a socialização profissional), se dão numa articulação entre a construção social da "identidade para si" e da "identidade para o outro", isto é, os processos "subjetivos" de auto identificação no decorrer da trajetória pessoal estão relacionados (nem sempre de forma harmônica) com os processos "objetivos" de atribuição identitária num contexto "sistêmico".

RESULTADOS

Apresentarei agora os resultados que foram obtidos sem corresponder necessariamente á ordem das etapas da pesquisa, mas sim, na apresentação que foi coerente. Primeirante informo que foi possível confirmar, através do roteiro e das perguntas de que para compreender o processo de construção da identidade profissional é importante olhar para a história de vida desses trabalhadores informais, porque de acordo com Dubar (2005, p.150) quando olharmos para os jovens, a criação de

estratégias pessoais e de representações de si pode ter grande peso no desenvolvimento futuro da vida profissional. É importante ressaltar que não se trata apenas de escolha da profissão ou da obtenção de diplomas, mas de construção pessoal de uma estratégia identitária que mobilize a imagem de si, a avaliação de suas capacidades e a realização de seus desejos. Essa "identidade profissional para si" tem cada vez mais chances de não ser definitiva. Nas palavras do autor:

Para realizar a construção biográfica de uma identidade profissional e, portanto social, os indivíduos devem entrar em relações de trabalho, participar de alguma forma das atividades coletivas em organizações, intervir de uma maneira ou de outra em representações. Esta perspectiva ancora a identidade na experiência relacional e social do poder é, portanto, faz das relações de trabalho o "lugar" em que se experimenta o enfrentamento dos desejos de reconhecimento em um contexto de acesso desigual, movediço e complexo ao poder. (DUBAR, 2005, P.151).

Já o segundo fator que se destaca é o dia-a-dia de trabalho, pois todos consideram uma jornada difícil e sem descanso, pois atendem os clientes muitas vezes almoçando, principalmente que trabalha no bloco sozinho e não tem funcionários para cobrir a sua ausência. Eles reclamam que por ser um trabalho informal a rotina e bastante complicada, pois trabalham de segunda a sábado das 08:00 da manhã até ás de 18:00 hs,pois muitas vezes não tem tempo para o lazer, e para quem tem outra ocupação com estudar muitas vezes não tem tempo para se dedicar ou para fazer um trabalho,um exemplo específico disso e na segunda entrevista onde a interlocutora intitulada como "ALICE" disse esse fato, pois a mesma tem 21 anos trabalha no camelódromo há 3 anos e faz faculdade de contabilidade depois da sua jornada de trabalho.

Agora por sua vez iremos destacar o ambiente de trabalho na profissão informal, pois todos os trabalhadores gostam do ambiente de trabalho, acham tranquilos e satisfatórios. Apesar de ter casos que tem uma má infraestrutura como no centro comercial popular que fica localizado no setor Central, pois o interlocutor intitulado como "CÁSSIO reclama do mau-cheiro e calor, pois e um lugar baixo e de pouca infraestrutura". A respeito das representações sociais no camelódromo, todos os interlocutores consideram a profissão informal como discriminada e marginalizada socialmente, pois para a sociedade são produtos de péssima qualidade, apesar de serem consumistas desses produtos, mais mesmo assim que trabalha com produtos eletrônicos

sentem na pele a discriminação, pois, a profissão informal nunca vai ser reconhecida e intitulada como um status social. Mais apesar disso todos os trabalhadores informais gostam e se identificam com o que faz, pois como mesmo dizem eles: E melhor trabalhar no mercado informal do que roubar ou matar. Em relação às classes sociais todos consideram que todas as classes sociais de A, C frequentam e utilizam os produtos do comércio popular, muitas vezes para economizar, ou devido o consumismo trocam rapidamente de produto, por isso preferem fazer um investimento mais barato. Já outro fator predominante são as mudanças ocorridas no camelódromo, pois para os interlocutores o camelódromo de antigamente mudou bastante principalmente a infraestrutura, e por não ter mais barraquinhas, e hoje o movimento aumentou e a concorrência também devido à onda da tecnologia e do consumismo capitalista. Para (DURÃES, 2011) Em outros termos, a informalidade constitui um tipo de trabalho que se torna permanente tanto do ponto de vista estrutural, relativo á sociedade e á dinâmica econômica, quanto do ponto de vista individual, dos próprios envolvidos, os quais terminam lançados em uma espécie de acomodação forçada ditada pela própria sobrevivência. Nisso podemos destacar alguns trabalhadores como o interlocutor "PEDRO" que trabalhava com trabalhos braçais, para ele a única solução foi montar uma loja de produtos eletrônicos, pois não tinha estudo, e não sabia fazer outra coisa, mais o hoje "PEDRO" se sente realizado financeiramente por ter conseguindo atingir os seus objetivos pessoal devido o ganho razoável, pois quem vende produtos tecnológicos se conseguem ganhar melhor do que em muitos trabalhos formais. Essas são afirmações e falas dos próprios atores sociais que vivem na sua realidade diária. Com relação a esse tema podemos afirmar que temos trabalhadores que estão em busca de melhores condições para suas vidas, estudando e trabalhando ao mesmo tempo como o caso de "ALICE", pois a mesma está cursando o 2° período de ciências contábeis, ela diz gostar do trabalho informal, mais que quer seguir outros rumos por isso está estudando para conseguir atingir outros objetivos profissionais, outro caso que temos em comum seria o do "GUSTAVO", pois o mesmo e do dono de uma loja no camelódromo, e está cursando engenharia eletrônica para aperfeiçoar e continuar na área de eletrônicos. Um caso á parte que me chamou bastante atenção foi o de "ROGÈRIO", o mesmo está na sua segunda graduação e trabalhou por oito anos em um laboratório. Para ele a sua realização pessoal e profissional se realizou agora, quando o mesmo se juntou a seu pai para trabalhar com eletrônicos, ele diz que se encontrou e sente feliz na profissão que está agora, e diz não se importar pelo fato de ser uma profissão marginalizada e não

reconhecida socialmente. Para ele foi a melhor coisa que fez na sua vida ter trocado o trabalho formal pelo informal.

Como diz Durães tem casos que as pessoas se sentem acomodadas como o trabalho informal, pois e a onda do momento a tecnologia, como á casos dos interlocutores "RICARDO" e "EDUARDO", os mesmos viveram anos fora do nosso país apenas para montarem as suas lojas de produtos eletrônicos. Já "RICARDO", desistiu da faculdade para montar o seu próprio negócio, pois para ele trabalhar para os outros não compensa, para mim o trabalho informal e melhor, pois trabalho para mim mesmo. Já "EDUARDO" está na área de produtos eletrônicos há 14 anos, ele diz que passou por todas as fases do camelódromo desde barraquinha até se tornar um mercado popular com mais infraestrutura, o seu maior sonho e montar um restaurante de comidas italianas, por isso o mesmo morou por 12 anos fora do Brasil para poder montar a sua loja de produtos eletrônicos, e depois montar o seu restaurante.

Nota-se visivelmente como apresentei alguns casos a respeito da escolaridade do trabalho informal, vai do ensino primário, ensino médio incompleto e completo, do superior incompleto e completo.

Agora apresentarei os relacionamentos com os colegas de trabalho, pois para todos os interlocutores consideram o relacionamento com parceria e não como fidelidade, pois se tratando de dinheiro e negócios ninguém e amigo de ninguém, mais sim parceiros de trabalhos que tem uma relação de amizade apenas. Já o relacionamento com seus clientes são de fidelidade, pois tem clientes que vem do interior para comprar por atacado, e sendo assim se torna clientes fiéis e amigos pessoais, surgindo uma verdadeira amizade, para eles os clientes são atendidos normalmente como nas grandes lojas de comércios ou de shopping. Eles mesmos dizem o mercado popular e como um shopping popular só que mais simples.

Agora iremos falar de um fator que incomoda todos os trabalhadores informais e a temida fiscalização, pois segundos todos os interlocutores a fiscalização sempre acontece diariamente, ou uma vez no ano, mais sempre eles estão sendo fiscalizados por causa de produtos sem nota, pois apesar da grande maioria ter regularizado na prefeitura, e terem CNPJ, ainda acontece à fiscalização, pois 90% dos produtos muitas vezes vêm sem nota, e sendo assim a fiscalização recolhe tudo. Para os interlocutores eles consideram que o governo deveria legalizar tudo, as pequenas empresas. Segundo

os trabalhadores do mercado informal eles têm pouco apoio do governo, alguns nem se quer tem um advogado ou sindicato para se proteger. Para eles a profissão informal nas vendas de produtos eletrônicos deveria ser legalizada, pois a sociedade utiliza e consome os produtos, por isso seria melhor e mais seguro essa regularização do governo.

Outro fator que e importante se discutir no trabalho e a questão de gênero, pois para compreender isso, Dubar (2005) enfatiza que é necessário investigar as trajetórias pessoais ("subjetivas"), além das definições de situação ("objetivas") dos "atores" pesquisados, por isso afirma-se que no trabalho informal de produtos eletrônicos não há questões de gênero, pois as mulheres estão inseridas e aperfeiçoadas nesse mercado de eletrônicos, já se tornou uma concorrente para os homens, por serem mais educadas, e atenderem bem seus clientes. Segundo aos alguns interlocutores os donos de lojas preferem mulheres para venderem eletrônicos por ser mais delicadas. Apesar de ter entrevistando apenas uma mulher, os próprios interlocutores do gênero masculino que afirmou esse próprio dado para a pesquisa.

Em relação a suas identidades sociais todos os interlocutores se consideram e se identificam no seu meio social, e não carregam perante a sociedade o seu trabalho de produtos eletrônicos. Apesar de pessoas querem fazer negócios fora dos seus expedientes de trabalhos, mais eles dizem que não se misturam o momento de lazer com negócios. Já na questão da sua identidade ocupacional todos se identificam com seu trabalho informal, os interlocutores se consideram donos do seu próprio negócio, como sócio de outras pessoas, como comerciante, vendedores ou até mesmo um camelô mais civilizado.

Pois segundo Dubar a compreensão sobre a construção da identidade se dá a partir das representações individuais e subjetivas dos próprios atores. No entanto, como implica no reconhecimento ou não reconhecimento de outrem, ela se constitui como uma construção conjunta, portanto circunscrita numa dualidade. A identidade nada mais é que "(...) *O resultado a um só tempo estável e provisório, individual e coletivo, subjetivo e objetivo, biográfico e estrutural, dos diversos processos de socialização que, conjuntamente, constroem os indivíduos e definem as instituições" (DUBAR, 2005, p.136).* È, portanto, para Dubar um processo de dupla face ás quais denomina de formas indentitárias.

A abordagem sociológica proposta por Dubar parte do pressuposto que não necessariamente esses dois processos coincidem e por isso "identidade é construída na articulação entre os sistemas de ação que propõem identidades virtuais, e as trajetórias vividas, no interior das quais se forjam as identidades reais ás quais os indivíduos aderem" (DUBAR, 2005, p.140). A construção da identidade ocorre num processo comunicativo complexo de negociação identitária. Por isso pode-se afirmar que os atores sociais do mercado popular construíram a própria identidade profissional mediante a atividade que exercem.

DISCUSSÕES

De maneira geral a base desse projeto e discutir sociologicamente o trabalho em ocupações historicamente desprestigiadas e formas de trabalho atípico urbano. Além disso, apresentar as diversas formas de identidades construídas por vendedores "não oficiais" de produtos eletrônicos. Mostrar as condições de trabalho destes ambulantes e de como e os processos de interação social e espacial ocorridos durante o trabalho informal. E incitar mais estudos sociológicos para o tema apresentado por ser ainda tão pouco estudado na sociologia do trabalho. Pois e uma tema bastante propício para um pesquisador e tanto para a sociedade, por se tratar de uma profissão que vem crescendo e gerando lucros para a sociedade capitalista. Por isso e preciso se discutir para atingir mecanismos de estudos mais elevados para a sociologia do trabalho em relação a essas "formas de identitárias."

CONCLUSÃO

Nos últimos vemos como se tornou a busca constante por produtos tecnológicos, sendo assim buscamos fazer uma observação sistemática da profissão informal e desse trabalho atípico urbano não reconhecido pela sociedade, por isso venho aqui analisar de forma teórica e de caráter etnográfica, o trabalho desses camelôs de produtos eletrônicos. O meu objetivo principal foi apresentar, interpretar as falas nas categorias de análise e representações desses atores envolvidos no processo dessa pesquisa. Por isso Dubar (2005) prefere o termo "formas indentitárias", ao invés da ideia de algo

pronto que passa a palavra "identidade". Pois essas identidades foram construídas devido à subjetividade das suas ocupações profissionais do trabalho informal.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através desses resultados, podemos inferir que a identidade mesma de quem é um camelô foi construída de acordo com suas atividades exercidas, por isso ela precisa de abertura e flexibilidade para se juntar a outras profissões formais, pois os próprios trabalhadores do mercado popular sentem essa exatidão para o seu reconhecimento perante a sociedade, apesar de não se importar com a discriminação, pois eles estão em busca da sua sobrevivência diária, mais eles se sentem confortável na sua atividade profissional. Pois preferem o trabalho informal de trabalhar para si próprio do que ir para o mercado formal. Pois a maioria desses trabalhadores conseguiu ou estão conseguindo se firmar financeiramente. E por isso não se sentem inferiores a outras profissões de grande status social.

De modo geral essa foi uma pequena descrição final desse projeto cujo intuito foi buscar na teoria sociológica e no caráter etnográfico de como essa profissão está construindo novas" formas de identitárias"e de como essa profissão informal faz parte da economia da sociedade capitalista, mais que, porém não tem seu reconhecimento por ser uma profissão marginalizadas socialmente, por isso o objetivo principal foi mostrar que a profissão informal faz parte e participa da nossa sociedade,e que os trabalhadores tem sim suas "formas identitárias".

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

BAUMAN, Zygmunt**. Vida para Consumo**. A transformação das pessoas em mercadoria. Rio de Janeiro: 2008

BOURDIEU, Pierre. O habitus e o espaço dos estilos de vida. In: _____. **A distinção**. Crítica social do julgamento. São Paulo: Edusp; Porto Alegre: Zouk, 2007.p.162-211.

DUBAR. Claude**. A crise das identidades**. A interpretação de uma mutação. Porto: Afrontamento, 2006.

_____. **A socialização**. Construção das identidades sociais e profissionais. São Paulo: Martins Fontes, 2005.

DURÃES, Bruno José Rodrigues. **"Camelô de Tecnologia "ou "Camelô Global":** Novas formas de expansão do capital na rua. 2011. Tese (Doutorado em ciências Sociais)-Unicamp, Campinas.

_____. **Novas formas de trabalho no Capitalismo:** Os Camelôs globais ou de produtos tecnológicos. In: ARAÚJO, Angela; VERAS, Roberto.(Org.).Formas de Trabalho no Capitalismo Atual: Condição precária e possibilidades de reinvenção. São Paulo: Annablume, 2011.

FLICK. Uwe. Dados verbais. In_____. **Uma introdução à pesquisa qualitativa**. 3 ed. Porto Alegre:Artmed,2009.p.141-200.

HARVEY, David. **Condição pós-moderna:** Uma pesquisa sobre as origens da mudança cultural. 17 ed. São Paulo: Ed. Loyola, 2008.

Avaliação dos Biomarcadores p53, Ki-67, CD117, CD34 e CD10 nos Tumores Filodes e Fibroadenomas Celulares em Correlação com Aspectos Clínicos e Morfológicos

Noara Barros Ribeiro[1], Maria Helena Tavares Vilela[2], Marise Amaral Rebouças Moreira[3]

1- Orientanda: aluna de graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás

2- Mestranda: aluna de pós-graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás

3- Orientadora: profa. Dra. da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás

Endereço eletrônico: noarabarros@hotmail.com

Revisado pela Orientadora

RESUMO

Tumores filoides (TFs) mamários são neoplasias fibroepiteliais raras, com tendência à recorrência local e potencial metastático. Apesar do avanço da biologia molecular e dos exames de imagem, o manejo destas neoplasias continua desafiador devido à dificuldade do diagnóstico pré-operatório, da classificação histológica e o difícil diagnóstico diferencial com os fibroadenomas celulares (FCs). O objetivo deste estudo foi avaliar a utilidade de imunomarcadores (IM) e da contagem de mastócitos como fatores prognósticos e de diagnóstico diferencial nos TFs. Examinamos a expressão do CD10, CD34, KI-67, p53 e CD117, por imuno-histoquímica (IH) em 55 TFs e 14 FCs. Na marcação pelo CD117 foi feita contagem de mastócitos, devido à relação observada entre estes e a progressão do câncer de mama. Para análise estatística foram usados o teste de Kruskall Wallis, u de Mann-Whitney e Qui Quadrado. Resultados foram considerados significantes com $p<0,05$. Verificou-se maior número de mastócitos ($p=<0,001$); expressão aumentada do KI-67 ($p=0,012$) e da p53 ($p=0,030$) estromais e diminuída do CD117 epitelial ($p=0,019$) e do CD34 estromal ($p=0,009$) nos TFs em relação aos FCs. Os TFs evidenciaram marcação estromal aumentada ($p<0,001$) do KI-67 e do CD10 e diminuída do CD34 ($p=0,004$) com o grau histológico crescente. Houve expressão estromal aumentada ($p=0,004$) do KI-67e do CD10 nos TFs com recidiva local. Nossos resultados sugerem que o KI-67, CD10 e CD34 foram úteis na graduação dos

TFs e no diagnóstico diferencial com os FCs. A p53, CD117 e o número de mastócitos podem também auxiliar na distinção entre os TFs e os FCs.

PALAVRAS-CHAVE

Tumor filodes; tipo histológico; imuno-histoquímica.

INTRODUÇÃO

Tumores fibroepitelais de mama representam um heterogêneo grupo de neoplasias bifásicas que variam de benignas a malignas e incluem fibroadenomas e tumores filodes (TFs)[1]. Pela primeira vez totalmente caracterizados por Johannes Müller em 1838, TFs são raras neoplasias fibroepiteliais de mama, que representam 0,3 a 1% de todos os tumores mamários[1] e são encontrados tipicamente em mulheres de meia idade[2]. A etiologia dos TFs não está estabelecida. Nenhum fator predisponente tem sido associado com esses tumores, com exceção da síndrome de Li-Fraumeni[3].

A acurácia do diagnóstico pré-operatório em TFs é frequentemente baixa, pois esses tumores são raros e possuem características clínicas, citológicas, histológicas e nos exames de imagem semelhantes aos dos fibroadenomas, que são tumores de elevada incidência[4]; entretanto, TFs geralmente são grandes e tendem a surgir em mulheres com idade mais avançada, diferentemente dos fibroadenomas[1,2].

Histologicamente, TFs são caracterizados por uma aparência em "folha"[2]. Apresentam fendas revestidas por dupla camada de células (epiteliais e mioepiteliais) circundadas por um estroma hipercelular de células fusiformes. O componente do estroma é proeminente e apresenta características morfológicas que podem variar de fibroadenoma-like a francamente sarcomatosa[1], mas geralmente possuem celularidade estromal maior do que a dos fibroadenomas[2].

TFs são classificados como benignos, borderline ou malignos pela Organização Mundial de Saúde (OMS), de acordo com suas características histológicas[2] (Tabela 1).

Tabela 1. Critérios padrão para classificação dos TFs

	Benigno	**Borderline**	**Maligno**
Hipercelularidade estromal	Mínima	Moderada	acentuada

Pleomorfismo celular	Mínimo	Moderado	acentuada
Mitoses	0-4/CGA	5-9/CGA	>10/CGA
Margem	expansiva	expansiva ou infiltrativa	Infiltrativa
Padrão do estroma	Uniforme	Heterogêneo	acentuada

CGA campos de grande aumento

Entretanto, a avaliação prognóstica baseada unicamente na classificação histológica nem sempre é suficiente. Mais de 70% das lesões seguem um curso benigno e raramente apresentam degeneração cística[1]. Porém, a distinção histológica entre os tumores benignos e malignos é frequentemente difícil e arbitrária[5]. Além disso, uma característica biológica marcante nesses tumores é a malignidade latente[4]. TFs histologicamente benignos podem cursar com metástases e muitos histologicamente malignos podem não apresentar reincidências e metástases[1]. Embora isso possa ser atribuído a uma avaliação de amostra microscópica inadequada ou a uma análise de ressecção de margens inadequadas, essas circunstâncias não correspondem a todas às inconsistências descritas na literatura. Tentativas de correlacionar vários achados histológicos dos TFs com o comportamento clínico não foram uniformemente bem sucedidos em predizer o resultado clínico desses tumores[5].

Ferramentas auxiliares de diagnóstico podem ajudar a identificar tumores com comportamento potencialmente agressivo. Recentemente métodos descritos para atingir este objetivo incluem avaliação imuno-histoquímica com Ki-67[1,5], p53, CD117, CD34 e CD10.

O Ki-67 é um marcador de proliferação celular, sendo uma proteína nuclear não histona, expressa em todas as fases do ciclo celular com exceção de GO. O mesmo é um fator prognóstico importante no carcinoma de mama e de várias outras neoplasias[6,7]. Várias pesquisas mostraram associação positiva do Ki-67 estromal com o grau histológico dos TFs, porém não com a recorrência[1,8,9,10,11]. Niezabitowski e cols observaram uma relação inversa desse marcador com a sobrevida global e a sobrevida livre de doença. O mesmo estudo concluiu que, os TFs malignos com um índice de positividade estromal maior que 11,2% era relacionado a mau prognóstico[12]. A mesma relação com a sobrevida global e livre de doença foi observada por outra pesquisa, a qual concluiu que o KI67 pode ser importante fator prognóstico, selecionando pacientes que requerem seguimento clínico mais cuidadoso[13].

A p53 é uma fosfoproteina nuclear, codificada pelo gene TP53, que na sua forma normal, tem ação supressora tumoral, através de vários mecanismos, sendo a interrupção do ciclo celular e a apoptose os mais importantes. A p53 está presente em todas as células normais e tem uma vida média curta. A forma mutada da P53 perde a função supressora tumoral, sendo muito importante na gênese de várias neoplasias. O papel da p53 nos TFs mamários tem sido investigado, sendo que a sua imunorreatividade estromal tem sido descrita como crescente em paralelo com o grau histológico, porém não sendo útil como fator preditivo de recorrência[1,8,14,15,16].

O CD117 (cKit) é uma proteína tirosina quinase transmembrânica, que atua como receptor para o fator de células-tronco. A CD117 é expressa em células tronco hematopoiéticas, mastócitos, células germinativas e melanócitos, sendo importante marcador para os tumores do estroma gastrointestinal (GISTs). O CD117 tem sido também avaliado nos TFs, com algumas pesquisas sugerindo associação positiva entre a sua expressão estromal e o grau histológico[1,17,18]. Apenas um estudo relatou associação da expressão estromal do CD117 e as recidivas dos TFs mamários[16]. Djordjevic e cols mostraram, usando diferentes marcadores, que a maior parte das células CD117 positivas no estroma dos TFs são mastócitos. Segundo os autores, as pesquisas prévias devem ter interpretado a marcação em mastócitos como estromais, podendo ter havido viés de avaliação. A referida pesquisa observou marcação mínima do estroma tumoral, sendo similar nos TFS, nos fibroadenomas celulares e nos de tipo habitual. Os autores relataram ainda que não detectaram mutações ativantes no gene cKit, corroborando os achados da IH[19].

O CD34 é uma glicoproteína transmembrânica tipo I, com função desconhecida, expressa em células hematopoiéticas imaturas, células endoteliais e um subgrupo de fibroblastos[20,21]. O CD34 é expresso em algumas neoplasias, como tumor do estroma gastrointestinal, tumor fibroso solitário, dermatofibrossarcoma, leucemias agudas e angiossarcomas. Na mama normal o estroma perilobular, e em menor grau o interlobular, é positivo para CD34[22]. Moore e cols sugeriram que o componente fusocelular do TF, do fibroadenoma, da hiperplasia pseudoangiomatosa (PASH), do miofibroblastoma e do hamartoma mióide mamário, seja oriundo desses fibroblastos CD34 positivos, tal como os tumores fibrosos solitários. Os autores observaram expressão decrescente do CD34 estromal, desde a PASH até o TF maligno, e associaram esta ocorrência a uma diferenciação celular diminuída ou alterada durante a progressão neoplásica[23] à semelhança do que ocorre no tumor

fibroso solitário maligno originando no benigno[24]. Chen e cols também observaram imunoexpressão crescente do CD34 desde os TFs malignos até os benignos[25].

O CD10 ou antígeno da leucemia linfoblástica aguda comum (CALLA) é uma endopeptidase neutra de superfície celular. Esse marcador é expresso em células precursoras linfoides e é usado tradicionalmente no diagnóstico de alguns linfomas[26,27]. Na mama o CD10 é um conhecido marcador de células mioepiteliais; porém, a partir de um estudo que mostrou expressão maior no estroma de carcinomas ductais invasores, com metástases linfonodais[28], algumas poucas pesquisas tem sido realizadas nos TFs mamários. Um estudo recente concluiu que, a expressão do CD10 pode ser usada para predizer a ocorrência de metástases à distância em pacientes com TFs[29]. Kim e cols relataram que a superexpressão estromal do CD10 e do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) é relacionada ao grau de malignidade e patogênese dos TFs[30]. Um estudo, realizado em pacientes egípcias, mostrou associação entre a expressão do CD10 estromal e o grau histológico dos TFs[31]. Tse e cols observaram crescente expressão do CD10 desde fibroadenomas até TFs malignos. Os autores salientam que este marcador pode ser útil na avaliação de malignidade das neoplasias fibroepiteliais mamárias e lembram que sendo o CD10 uma metalopeptidase ele pode prover a neoplasia com a capacidade de invasão vascular[32].

As taxas globais de recorrências e metástases dos TFs giram em torno de 8 a 40% e 1 a 21%, respectivamente[1]. Embora as recorrências sejam comuns nos tipos borderline e malignos, recidivas locais e metástases ocorrem raramente com TFs benignos[2].

O manejo dos TFs continua a ser questionado atualmente[33]. O tratamento padrão descrito por muitos autores é a excisão cirúrgica com uma margem de ressecção livre, preferivelmente maior ou igual a 1 cm para minimizar as taxas de recorrências[2,33]; entretanto, a maioria dos TFs não são diagnosticados no pré-operatório, devido às semelhanças com fibroadenomas ou outros tumores benignos da mama. Como resultado, os TFs são frequentemente tratados com margens cirúrgicas inadequadas em uma intervenção inicial. Alguns autores têm proposto quimioterapia e/ou radioterapia adjuvante adicional à cirurgia[34,35], embora essa prática ainda não esteja bem estabelecida para uso em TFs malignos ou recorrentes[2].

OBJETIVOS

Avaliar a utilidade do Ki-67, CD34, CD10, CD117, da p53 e do número de mastócitos estromais como fatores prognósticos e de diagnóstico diferencial nos TFs.

METODOLOGIA

Foram obtidos casos diagnosticados como TFs mamários no departamento de patologia do HC da UFG (1996 a 2010), no Setor de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge (2006 a 2010), no Laboratório Citocenter (2002 a 2010), no Laboratório CAPC (2008 a 2009) e no Laborotório Ingoh (2006 a 2010). Os critérios de inclusão foram: TFs mamários em mulheres, diagnosticados por exame anatomopatológico, que tivessem disponíveis laudos dos respectivos exames, lâminas, blocos de parafina, além de prontuários ou fichas médicas que permitissem avaliação da evolução das pacientes. Os critérios de exclusão foram: discordância entre o diagnóstico anatomopatológico inicial e o da revisão das lâminas, que foi realizada em todos os casos, bem como a não conformidade com os critérios de inclusão.

Foram identificadas inicialmente 57 pacientes, tendo sido excluídas oito. Restaram 49 pacientes com 55 TFs que representaram a amostra do estudo. Destes 55 TFs, dois foram tumores síncronos na mesma mama e quatro foram recidivas. Adicionalmente foram selecionados 14 casos diagnosticados como fibroadenomas celulares, os quais foram submetidos à mesma rotina descrita para os TFs.

Foram revistos os prontuários de todas as pacientes, sendo extraídos os seguintes dados: idade da paciente, tipo de cirurgia realizada, duração do seguimento clínico, ocorrência de recidivas locais ou sistêmicas e o intervalo de tempo entre estas e a ressecção do tumor.

Foram resgatados lâminas e blocos de parafina dos TFs das pacientes e também dos casos de fibroadenoma de tipo celular. Realizamos, então, a revisão das lâminas dos TFs em estudo, simultaneamente por duas patologistas, para reclassificação do tipo histológico em benigno, borderline e maligno. Posteriormente realizou-se o processamento da imuno-histoquímica em todos os TFs e também nos fibroadenomas celulares, com os marcadores p53, CD117, CD34, CD10 e Ki 67.

O programa Microsoft ® Excel 2007 foi usado para tabulação dos dados e a análise estatística foi realizada pelo programa SPSS® for Windows®, versão 16.0. Para avaliar a relação dos marcadores com os tipos tumorais (Tumores Filoides x Fibroadenomas Celulares)

foi utilizado o teste u Mann-Whitney para dados não normais. O mesmo teste foi usado para avaliar a associação entre os marcadores, bem como, dos tamanhos dos tumores filoides com as recidivas destes. Para comparação dos marcadores e tamanho dos tumores filoides em relação ao grau histológico destes foi utilizado o teste Kruskal Wallis para dados não normais. Para análise do grau histológico dos Tumores Filoides de acordo com as recidivas foi utilizado o teste Qui Quadrado. Foi usado como nível de significância o valor 5% ($p<0,05$).

RESULTADOS

A mediana da idade das pacientes com TFs foi 48 anos (16 a 73) e das pacientes com FCs foi 22 anos (15 a 45). O tamanho dos TFs variou de 1 a 22 cm, com mediana de 5,9 cm, sendo observado uma associação entre o tamanho e o grau histológico tumoral, porém, sem significância estatística. Os TFs foram assim distribuídos: 31 TFs benignos (56,3%), 14 borderline (25,4%) e 10 malignos (18,1%).

Duas pacientes apresentaram dois TFs síncronos na mesma mama. Dez pacientes (20,4%) tiveram recidivas locais, sendo que quatro tiveram três recidivas, duas tiveram duas recidivas e as quatro restantes, uma recidiva. Nas recidivas tumorais, houve progressão do grau histológico em duas pacientes, regressão do grau em uma paciente e manutenção do grau em sete. Apenas uma das pacientes apresentou metástases à distância: entretanto, sem recorrência local prévia e foi a única com óbito decorrente da neoplasia.

Na avaliação da expressão dos imunomarcadores utilizados e o grau histológico crescente dos TFs, houve associação positiva na marcação estromal do KI-67 ($p <0,001$) e do CD10 ($p <0,001$) e negativa do CD34 ($P=0,004$) (tabela 1). Não houve associação do tamanho dos TFs com o grau histológico.

Tabela 1- Distribuição das médias e desvios-padrão dos marcadores de acordo com o grau histológico dos tumores Filoides.

	BEN (n=27)		BORD (n=19)		MAL (n=9)		
GRAU HIST							p
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
KI-67							

ESTR %	7,11	9,35	17,00	10,00	30,33	20,47	<0,001
EPIT %	13,19	10,76	13,26	6,79	10,89	15,55	0,199
P53							
ESTR	2,33	1,57	3,58	2,24	5,11	3,82	0,073
EPIT	3,22	2,01	2,95	1,61	3,78	2,99	0,901
CD117							
ESTR	0,37	1,36	0,05	0,23	0,00	0,00	0,691
EPIT	4,07	2,84	3,32	2,71	4,78	2,22	0,302
MAST	21,19	30,90	15,21	12,21	29,88	23,04	0,154
CD10							
ESTR	0,89	2,01	4,58	3,63	7,78	2,73	<0,001
CD34							
ESTR	7,67	3,26	5,68	4,11	3,33	4,09	0,004

Teste Kruskal Wallis

Na avaliação da expressão dos imunomarcadores com as recidivas dos TFs houve associação, com significância estatística, apenas na marcação estromal do Ki-67 e CD10, ambos com p=0,004. (tabela 2) Houve associação positiva das recidivas locais com o grau histológico (p=0,002), porém não com o tamanho do tumor e o status das margens cirúrgicas. (tabela 3)

Tabela 2- Distribuição das médias e desvios-padrão dos marcadores de acordo com as recidivas dos tumores Filoides.

Recidiva TU	Não (n=41)			Sim (n=14)			p
	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	
KI-67							
ESTR %	11,88	14,69	6,00	21,50	11,33	20,00	0,004
EPIT %	12,22	10,14	12,00	14,64	11,24	14,00	0,333
P53							
ESTR	3,34	2,47	2,00	2,86	2,51	2,00	0,387
EPIT	3,41	2,26	3,00	2,64	1,15	3,00	0,435
CD117							
ESTR	0,24	1,11	0,00	0,07	0,27	0,00	0,787
EPIT	3,98	2,81	4,00	3,79	2,49	3,5	0,937
MAST	22,08	28,22	12,00	15,57	7,92	12,00	0,679
CD10							
ESTR	2,41	3,35	0,00	5,86	3,88	7,50	0,004
CD34							
ESTR	6,44	4,00	0,00	5,79	3,98	7,50	0,363

Teste u Mann-Whitney / TU= tumor

Tabela 3 - Distribuição do grau histológico dos tumores Filoides de acordo com as recidivas.

	RECIDIVA				
GRAU HIST	Não (n=41)		Sim (n=14)		p
	n	%	n	%	
BENIGNO	25	61,0	2	14,3	
BORDELINE	9	22,0	10	71,4	0,002
MALIGNO	7	17,0	2	14,3	

Teste Qui Quadrado

Na análise da expressão dos imunomarcadores e o diagnóstico diferencial (TFs versus FCs) observou-se maior expressão estromal do Ki-67 (p= 0,012) e da p53(P=0,030), bem como expressão estromal diminuída do CD34 (p=0,009) nos TFS. Houve expressão epitelial maior do CD117 nos fibroadenomas celulares (p=0,019). Ainda na marcação com o CD117 verificou-se maior número de mastócitos nos TFs (p <0,001). (tabela 4)

Tabela 4- Distribuição das médias e desvios-padrão dos marcadores de acordo com os tipos tumorais.

Tumor	Filoides (n=55)			Fib. Celulares (n=14)			p
	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	
KI-67							
ESTR %	14,33	14,45	10,00	5,14	5,02	2,50	0,012

EPIT %	12,84	10,38	12,00	16,00	8,94	14,50	0,139
P53							
ESTR	3,22	2,46	2,00	1,64	0,74	1,50	0,030
EPIT	3,22	2,05	3,00	2,86	1,56	2,50	0,761
CD117							
ESTR	0,20	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,393
EPIT	3,93	2,71	4,00	6,00	2,80	6,00	0,019
MAST	20,36	24,62	12,00	3,85	9,49	1,00	<0,001
CD10							
ESTR	3,29	3,77	1,00	0,71	0,99	0,00	0,095
CD34							
ESTR	6,27	3,97	9,00	9,00	0,00	9,00	0,009

Teste u Mann-Whitney

DISCUSSÃO

A distribuição do grau histológico dos TFs neste estudo foi semelhante à descrita pela OMS de 60%, 20% e 20% respectivamente para benignos; borderline e malignos[36]. Uma grande série de Singapura evidenciou diferentes proporções: benignos (72,7%), borderline (18,4%) e malignos (8,9%)[37]. Essas diferentes distribuições provavelmente refletem diferenças étnicas. A mediana da idade das pacientes no presente estudo foi concordante com dados da OMS, que refere uma faixa etária média de 40 a 50 anos[36].

Na análise da associação entre os diferentes graus histológicos dos TFs e os imunomarcadores avaliados, observou-se significância estatística na expressão estromal positiva do KI-67 ($p<0,001$) e do CD10 ($p<0,001$) e negativa do CD34 ($p=0,04$). Esses

resultados corroboram os dados da literatura. Em relação ao KI-67 houve concordância com outros autores[1,8,11,10,12]. Niezabitowski e cols observaram que nos TFs malignos um índice de positividade estromal maior que 11,2% estava relacionado a mau prognóstico. Na presente pesquisa, a única paciente que apresentou metástases, indo a óbito pela neoplasia, evidenciou KI-67 com percentual de 35%, porém outra paciente com TF maligno teve percentual de 80% e não apresentou recidiva em 46 meses de seguimento. A diferença entre ambas foi a forte expressão estromal de CD10 na primeira. Outro estudo concluiu que TFs com histologia benigna, porém, com percentual de células estromais positivas para o KI-67 maior que 10%, devem ser tratadas e seguidas com maior rigor para evitar recorrência e progressão maligna[38]. Esse enfoque é interessante, mas não foi observado nos demais trabalhos analisados.

A associação positiva entre o grau histológico e a expressão estromal do CD10, verificada neste estudo, foi também observada por outros autores[30,32,39,40]. Recente pesquisa concluiu que a expressão do CD10 pode ser usada para predizer a ocorrência de metástases à distância em pacientes com TFs[29]. Tal análise não pôde ser feita no atual estudo, em virtude de apenas uma paciente ter apresentado metástases. Haveria necessidade de maior número de casos para avaliar tal relação, o que consideramos uma limitação no presente estudo.

A relação inversa entre a expressão estromal do CD 34 e o grau histológico dos TFs no atual estudo corrobora os achados de outros autores[11,23,25].

A análise da relação entre os marcadores avaliados e as recidivas dos TFs mostrou significância estatística apenas com a expressão estromal do KI-67 e CD10, ambos com p=0,004. A associação entre a expressão estromal do KI-67 e recidivas locais não tem sido observada na maioria dos estudos, nos quais os autores têm relacionado tais recidivas às margens cirúrgicas comprometidas[1,2,41]. Karim e cols, entretanto, não observaram relação das recidivas locais com o status das margens[10]. Este resultado da nossa pesquisa pode ter sido decorrente de viés do grau histológico, uma vez que 81,8% das recidivas locais ocorreram em TFs borderline e malignos. Alguns estudos têm concluído que o grau histológico é importante fator prognóstico de recidiva[10,42,43,44]. Quanto à relação observada entre a marcação estromal do CD10 e as recidivas apresentadas, foi discordante dos resultados de Tse e cols, os quais não observaram associação desse marcador com as recidivas locais ou com as metástases. Entretanto, os próprios autores referem que, pelo pequeno número de recidivas na sua série, não foi possível uma avaliação adequada dessa relação, sendo importante mais estudos[32]. Como o CD10 é um membro da família das metaloproteinases, ele pode degradar peptídeos,

como o componente proteico da matriz extracelular e ter importante papel no remodelamento do tumor/tecido peritumoral[45].

A avaliação da expressão dos imunomarcadores nos TFs e nos FCs mostrou diferença estatisticamente significativa no KI-67 estromal, na p53 estromal, na CD34 estromal e no CD117 epitelial. Tse e cols observaram que a expressão estromal do CD10 teve alta especificidade (95%) para diferenciar o grupo formado pelos fibroadenomas e os TFs benignos do grupo TFs borderline e malignos; não fizeram, porém, referência à diferença de expressão entre os fibroadenomas celulares e os TFs em geral. O referido estudo consistiu de uma grande série, com 181 TFs e 33 fibroadenomas[32]. Zamenik e cols, usando uma amostra de seis TFs e 20 fibroadenomas não observaram diferença na expressão do CD10 entre TFs e fibroadenomas[46]. Moore e cols verificaram expressão estromal diminuída para CD34 nos TFs em relação aos fibroadenomas em geral; entretanto, não relataram se houve expressão diferencial entre os TFs e FCs[23]. Em relação ao KI-67, uma pesquisa observou maior expressão estromal nos TFs que nos fibroadenomas[47].

Um resultado surpreendente e estatisticamente significativo ($p<0,001$) foi o maior número de mastócitos entre os TFs em relação aos FCs, verificado na marcação pelo CD117. A expressão do CD117 pelos mastócitos é bem conhecida[48]; entretanto, o papel dessas células nas neoplasias não é completamente conhecido. Djordjevic e cols referem que, em sua série de casos, os TFs apresentaram mastócitos mais frequentemente que os fibroadenomas. Os autores não detalharam os números de mastócitos encontrados[19]. Outra pesquisa concluiu que um grande número de mastócitos no estroma de carcinomas mamários invasores foi associado a um baixo grau histológico e positividade para receptores estrogênicos[49]. Parece, portanto, haver um papel inverso dos mastócitos nas neoplasias mamárias epiteliais e fibroepiteliais. Um estudo referiu mastócitos com alta expressão de receptores estrogênicos entre os TFs malignos em relação aos benignos[50], o que também merece ser avaliado em relação aos fibroadenomas.

Uma pesquisa recente analisou os papéis dos mastócitos nas neoplasias ginecológicas, com particular ênfase na capacidade destas células para estimular o crescimento tumoral, promovendo a angiogênese. Os autores concluíram que os mastócitos podem se tornar ferramentas úteis na terapia anticâncer[51].

Há evidente escassez de estudos abordando o diagnóstico diferencial entre TFs e os FCs em particular, e mesmo com os fibroadenomas como um todo, sendo que em relação ao

CD117 e à p53 não foi encontrada nenhuma referência, dificultando a interpretação dos resultados da atual pesquisa.

No presente estudo houve associação entre o grau histológico crescente dos TFs e as recidivas observadas, o que corrobora os resultados de outros autores[12,41,42].

CONCLUSÕES/CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Houve expressão diferencial do KI-67, do CD10 e do CD34 entre os graus dos TFs. Um painel com KI-67, CD10 e CD34 é útil, como adjunto à histologia, para classificação dos TFs em casos difíceis e amostras pequenas.

2. Houve expressão aumentada do KI-67 e do CD10 nos TFs que recidivaram. Consideramos que pode ter havido viés do grau histológico em relação ao Ki-67 nos TFs que recidivaram; o CD10 parece ter utilidade para predizer recidivas, necessitando mais estudos para melhor análise.

3. Verificou-se expressão diferencial do KI-67, da p53, do CD34 estromais, bem como do CD117 epitelial entre os TFs e FCs. Um painel com esses marcadores seria útil na distinção entre os TFs e FCs.

4. Verificou-se um número significativamente aumentado de mastócitos nos TFs em relação aos FCs. Esse dado mostra-se como mais um critério a ser valorizado no diagnóstico diferencial entre esses dois tumores.

5. Há necessidade de mais estudos para avaliar o real papel dos mastócitos nos TFs, considerando que essas células têm sido cada vez mais reconhecidas como moduladores da biologia tumoral.

6. As recidivas dos TFs foram relacionadas ao grau histológico, porém, não ao tamanho do tumor**.**

REFERÊNCIAS

1. ESPOSITO, N.N.; MOHAN, D.; BRUFSKY, A. *et al*. Phyllodes Tumor: A Clinicopathologic and Immunohistochemical Study of 30 Cases. **Arch Pathol Lab Med**, v. 130, p. 1516-21, 2006.

2. JANG, J.H.; CHOI, M.Y.; LEE, S.K. *et al*. Clinicopathologic Risk Factors for the Local Recurrence of Phyllodes Tumors of the Breast. **Ann Surg Oncol**, DOI 10.1245/s10434-012-2307-5, 2012.
3. KHOSRAVI-SHAHI, P. Management of non metastatic phyllodes tumors of the breast: Review of the literature. **Surgical Oncology**, v. 20, p. 143-148, 2011.
4. TAIRA, N.; TAKABATAKE, T.; AOGI, K.; *et al*. Phyllodes Tumor of the Breast: Stromal Overgrowth and Histological Classification are Useful Prognosis-predictive Factors for Local Recurrence in Patients with a Positive Surgical Margin. **Jpn J Clin Oncol**, v. 37, n. 10, p. 730–736, 2007.
5. KLEER, C.G.; GIORDANO, T.J.; BRAUN, T. *et al*. Pathologic, Immunohistochemical, and Molecular Features of Benign and Malignant Phyllodes Tumors of the Breast. **Mod Pathol**. V. 14, n. 3, p. 185-9, 2001.
6. BROWN, D. C.; GATTER, K. C. Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology. **Histopathology,** v. 17, n. 6, p. 489-503, Dec 1990.
7. URRUTICOECHEA, A.; SMITH, I. E.; DOWSETT, M. Proliferation marker Ki-67 in early breast cancer. **J Clin Oncol,** v. 23, n. 28, p. 7212-20, Oct 1 2005.
8. SHPITZ, B. et al. Immunoreactivity of p53, Ki-67, and c-erbB-2 in phyllodes tumors of the breast in correlation with clinical and morphologic features. **J Surg Oncol,** v. 79, n. 2, p. 86-92, 2002/01/ 2002.
9. KUIJPER, A. et al. Progressive deregulation of the cell cycle with higher tumor grade in the stroma of breast phyllodes tumors. **Am J Clin Pathol,** v. 123, n. 5, p. 690-8, 2005/06/ 2005.
10. KARIM, R. Z. et al. Phyllodes tumours of the breast: a clinicopathological analysis of 65 cases from a single institution. **Breast,** v. 18, n. 3, p. 165-70, Jun 2009.
11. NORONHA, Y. et al. CD34, CD117, and Ki-67 expression in phyllodes tumor of the breast: an immunohistochemical study of 33 cases. **Int J Surg Pathol,** v. 19, n. 2, p. 152-8, Apr 2011.
12. NIEZABITOWSKI, A. et al. Prognostic evaluation of proliferative activity and DNA content in the phyllodes tumor of the breast: Immunohistochemical and flow cytometric study of 118 cases. **Breast Cancer Res Treat,** v. 65, n. 1, p. 77-85, 2001.
13. YONEMORI, K. et al. Correlation of p53 and MIB-1 expression with both the systemic recurrence and survival in cases of phyllodes tumors of the breast. **Pathol Res Pract,** v. 202, n. 10, p. 705-12, 2006.

14. ERHAN, Y. et al. p53 and Ki-67 expression as prognostic factors in cystosarcoma phyllodes. **Breast J,** v. 8, n. 1, p. 38-44, Jan-Feb 2002.
15. TSE, G. M. et al. Increased p53 protein expression in malignant mammary phyllodes tumors. **Mod Pathol,** v. 15, n. 7, p. 734-40, 2002/07/ 2002.
16. TAN, P. H. et al. P53 and c-kit (CD117) protein expression as prognostic indicators in breast phyllodes tumors: A tissue microarray study. **Modern Pathology,** v. 18, n. 12, p. 1527-1534, 2005.
17. TSE, G. M. et al. Increased c-kit (CD117) expression in malignant mammary phyllodes tumors. **Mod Pathol,** v. 17, n. 7, p. 827-31, Jul 2004.
18. CARVALHO, S. et al. c-KIT and PDGFRA in breast phyllodes tumours: overexpression without mutations? **J Clin Pathol,** v. 57, n. 10, p. 1075-9, Oct 2004.
19. DJORDJEVIC, B.; HANNA, W. M. Expression of c-kit in fibroepithelial lesions of the breast is a mast cell phenomenon. **Mod Pathol,** v. 21, n. 10, p. 1238-45, Oct 2008.
20. SUTHERLAND, D. R.; KEATING, A. The CD34 antigen: structure, biology, and potential clinical applications. **J Hematother,** v. 1, n. 2, p. 115-29, Summer 1992.
21. KRAUSE, D. S. et al. CD34: structure, biology, and clinical utility. **Blood,** v. 87, n. 1, p. 1-13, Jan 1 1996.
22. YAMAZAKI, K.; EYDEN, B. P. Ultrastructural and immunohistochemical observations on intralobular fibroblasts of human breast, with observations on the CD34 antigen. **J Submicrosc Cytol Pathol,** v. 27, n. 3, p. 309-23, Jul 1995.
23. MOORE, T.; LEE, A. H. Expression of CD34 and bcl-2 in phyllodes tumours, fibroadenomas and spindle cell lesions of the breast. **Histopathology,** v. 38, n. 1, p. 62-7, Jan 2001.
24. YOKOI, T. et al. Solitary fibrous tumour: significance of p53 and CD34 immunoreactivity in its malignant transformation. **Histopathology,** v. 32, n. 5, p. 423-32, May 1998.
25. CHEN, C. M. et al. CD34, CD117, and actin expression in phyllodes tumor of the breast. **J Surg Res,** v. 94, n. 2, p. 84-91, Dec 2000.
26. STEIN, H. et al. Immunohistological analysis of human lymphoma: correlation of histological and immunological categories. **Adv Cancer Res,** v. 42, p. 67-147, 1984.
27. GREGORY, C. D. et al. Identification of a subset of normal B cells with a Burkitt's lymphoma (BL)-like phenotype. **J Immunol,** v. 139, n. 1, p. 313-8, Jul 1 1987.
28. IWAYA, K. et al. Stromal expression of CD10 in invasive breast carcinoma: a new predictor of clinical outcome. **Virchows Arch,** v. 440, n. 6, p. 589-93, Jun 2002.

29. AL-MASRI, M. et al. Phyllodes tumor of the breast: role of CD10 in predicting metastasis. **Ann Surg Oncol,** v. 19, n. 4, p. 1181-4, Apr 2012.
30. KIM, J. et al. Correlation of CD10 and EGFR expression in phyllodes tumors of the breast. **European Journal of Cancer,** v. 48, p. S122-S123, 2012.
31. IBRAHIM, W. S. Comparison of stromal CD10 expression in benign, borderline, and malignant phyllodes tumors among Egyptian female patients. **Indian Journal of Pathology and Microbiology,** v. 54, n. 4, p. 741-744, 2011b.
32. TSE, G. M. et al. Stromal CD10 expression in mammary fibroadenomas and phyllodes tumours. **J Clin Pathol,** v. 58, n. 2, p. 185-9, Feb 2005.
33. GUILLOT, E.; COUTURAUD, B.; REYAL, F. *et al*. Management of Phyllodes Breast Tumors. **The Breast Journal**. v. 17, n. 2, p. 129–137, 2011.
34. AUGUST, D.A.; KEARNEY, T. Cystosarcoma phyllodes: mastectomy, lumpectomy, or lumpectomy plus irradiation. **Surg Oncol**. v. 9, p. 49–52, 2000.
35. HABERER, S.; LAE, M.; SEEGERS, V.; PIERGA, J.Y.; SALMON, R.; KIROVA, Y.M.; *et al.* Management of malignant phyllodes tumors of the breast: the experience of the Institut Curie. **Cancer Radiother**. v. 13, p. 305–12, 2009.
36. BELLOCQ, J. P.; MAGRO, G. Tumours of the Breast and Female Genital Organs. TAVASSOLI, F. A. e DEVILEE, P. Lyon
France: IARCPress: 99-103 p. 2003.
37. TAN, P. H. et al. Predicting clinical behaviour of breast phyllodes tumours: a nomogram based on histological criteria and surgical margins. **J Clin Pathol,** v. 65, n. 1, p. 69-76, Jan 2012.
38. CHAN, Y. J. et al. Expression of p53 protein and Ki-67 antigen in phyllodes tumor of the breast. **J Chin Med Assoc,** v. 67, n. 1, p. 3-8, Jan 2004.
39. TSAI, W. C. et al. CD10, actin, and vimentin expression in breast phyllodes tumors correlates with tumor grades of the WHO grading system. **Int J Surg Pathol,** v. 14, n. 2, p. 127-31, Apr 2006.
40. IBRAHIM, W. S. Comparison of stromal CD10 expression in benign, borderline, and malignant phyllodes tumors among Egyptian female patients. **Indian J Pathol Microbiol,** v. 54, n. 4, p. 741-4, Oct-Dec 2011a.
41. REINFUSS, M. et al. The treatment and prognosis of patients with phyllodes tumor of the breast: an analysis of 170 cases. **Cancer,** v. 77, n. 5, p. 910-6, Mar 1 1996.

42. LENHARD, M. S. et al. Phyllodes tumour of the breast: Clinical follow-up of 33 cases of this rare disease. **European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology,** v. 138, n. 2, p. 217-221, 2008.
43. BARTH, R. J. et al. A prospective, multi-institutional study of adjuvant radiotherapy after resection of malignant phyllodes tumors. **Ann Surg Oncol,** v. 16, n. 8, p. 2288-94, 2009/07/ 2009.
44. LIN, C. C. et al. The clinical features and prognosis of phyllodes tumors: a single institution experience in Taiwan. **International Journal of Clinical Oncology**, p. 1-7, 2012.
45. KIM, G. E. et al. Stromal matrix metalloproteinase-14 expression correlates with the grade and biological behavior of mammary phyllodes tumors. **Appl Immunohistochem Mol Morphol,** v. 20, n. 3, p. 298-303, May 2012.
46. ZAMECNIK, M.; KINKOR, Z.; CHLUMSKA, A. CD10+ stromal cells in fibroadenomas and phyllodes tumors of the breast. **Virchows Arch,** v. 448, n. 6, p. 871-2, Jun 2006.
47. OPRIC, S. et al. Phyllodes tumors and fibroadenoma common beginning and different ending. **Coll Antropol,** v. 36, n. 1, p. 235-41, Mar 2012.
48. MIETTINEN, M.; LASOTA, J. KIT (CD117): a review on expression in normal and neoplastic tissues, and mutations and their clinicopathologic correlation. **Appl Immunohistochem Mol Morphol,** v. 13, n. 3, p. 205-20, Sep 2005.
49. AMINI, R. M. et al. Mast cells and eosinophils in invasive breast carcinoma. **BMC Cancer,** v. 7, p. 165, 2007.
50. ILIC, I. et al. An approach to malignant mammary phyllodes tumors detection. **Vojnosanit Pregl,** v. 66, n. 4, p. 277-82, Apr 2009.
51. JIANG, L. et al. Role of mast cells in gynecological neoplasms. **Front Biosci,** v. 18, p. 773-81, 2013.

APRENDIZAGEM DO PROCESSO GRUPAL NA FORMAÇÃO DO ENFERMEIRO: PROCESSO NORTEADO PELO GRUPO OPERATIVO[1].

PAULA, Núbia Inocêncio de[2]; LUCCHESE, Roselma[3]; VERA, Ivânia[4]; CALIXTO, Bruno de Souza[4]; FERNANDES, Carla Natalina[5]

Orientando: Núbia Inocêncio de Paula. Universidade Federal de Goiás – *Campus* Catalão. E-mail nubiadpaula@gmail.com

RESUMO. As DCNS representam uma mudança nos movimentos educacionais no processo de formação do enfermeiro, propondo novos fundamentos na formação do profissionais um deles é o trabalho em grupos. Diante disso o curso de graduação em enfermagem da Universidade Federal de Goiás – *Campus* Catalão criou por meio do seu Projeto Pedagógico de Curso a disciplina de grupos em saúde e, pela necessidade de acompanhamento do processo de formação dos discentes, este estudo teve como objetivo de analisar a participação do aluno do curso de graduação em enfermagem do CAC/UFG na disciplina grupos em saúde no processo de aprendizagem da estrutura grupal. A disciplina aconteceu em 2012/1, sendo ministrada para o 7º período do referido curso. Trata-se de uma pesquisa descritiva de abordagem qualitativa, em que os sujeitos foram 27 aluno. Como coleta de dados foram utilizados: entrevista em grupo focal ao final da disciplina e, um instrumento de avaliação Escala dos Indicadores do Desempenho Grupal (EIDG). Os dados foram analisados por meio da Planilha de Avaliação do Desempenho Grupal e da técnica de analise de conteúdo modalidade temática. O desempenho grupal foi classificado como muito satisfatório, sendo que a

[1] Artigo revisado pelo Orientador: Profª. Dr. Roselma Lucchese

[2] Discente em Enfermagem e PIBIC CNPq. nubiadpaula@gmail.com

[3] Professor Adjunto da UFG/CAC. Doutor em Enfermagem pela EEUSP. Orientador PIBIC. roselmalucchese@hotmail.com

[4]Professor Assistente da UFG/CAC. Mestre em Ciências Nefrológicas. Doutor em Enfermagem pela FEN UFG ivaniavera@hotmail.com

[4] Discente em Enfermagem da UFG/CAC. brunodesouzacalixto@yahoo.com.br

[5]Professor Assistente da UFG/CAC. Mestre em Enfermagem pela FEN UFG. carla_natalina@yahoo.com.br

técnica de GO demonstra uma diversidade de experiências e conceitos, constituindo um ambiente de discussão e interação entre os participantes, em torno de um mesmo objetivo. Constituindo-se em um espaço de troca de experiências e sentimentos.

Palavras-Chave: Processos grupais. Grupo Focal. Educação em Saúde. Enfermagem.

1. INTRODUÇÃO

No âmbito do processo de expansão das Instituições Federais de Ensino Superior (IFES), com muitos investimentos a partir de 2005, houve o aumento dos cursos de graduação e numero de vagas percebe-se uma opção das IFES, em relação aos cursos de graduação em enfermagem, principalmente na região centro – oeste, contabilizando três cursos no estado do Mato Grosso e dois em Goiás (BRASIL, s/d). Um destes foi o Curso de Graduação em Enfermagem do Campus Catalão da Universidade Federal de Goiás (CAC/UFG).

Diante da opção pela criação do curso de graduação em enfermagem é imprescindível que se faça o reconhecimento dos desafios desta escolha. Tendo em vista que as orientações para a formação do profissional enfermeiro são no sentido de atender às demandas do Sistema Único de Saúde (SUS) com foco no desenvolvimento das competências e habilidades na efetivação das diretrizes do Sistema Único de Saúde (SUS). Sendo assim, este direcionamento está explícito nas Diretrizes Curriculares Nacionais para Graduação em Enfermagem (DCN/ENF) (LUCCHESE; VERA; PEREIRA, 2010).

As DCN/ENF representa um dos marcos de mudanças dos movimentos educacionais envolvidos no processo de formação do enfermeiro e propõem os princípios, fundamentos, condições e procedimentos que desafiam a construção de projeto amplo e complexo na formação desse profissional. Também estabelece o desenvolvimento de habilidades e competências, entre elas o trabalho em equipe, conhecer-se como coordenador do trabalho em equipe, identificar as necessidades individuais e coletivas de uma determinada população, planejar e implementar programas de educação e promoção à saúde em diferentes grupos, considerando os distintos processos de vida, saúde, trabalho e adoecimento. (BRASIL, 2001)

Em suma, o seu artigo 14ª parágrafo VII, a DCN/ENF colocada a necessidade ao estímulo às dinâmicas de trabalho em grupos, por favorecerem a discussão coletiva e as relações interpessoais. (BRASIL, 2001).

Diante do exposto e juntamente com a necessidade do profissional de enfermagem de trabalhar em equipe e com diversos grupos, foi criada uma disciplina dentro do Projeto Pedagógico do Curso (PPC) de enfermagem Campus Catalão. A disciplina denominada de 'Grupos em saúde' foi planejada segundo os fundamentos da teoria de Pichon-Rivière, psicanalista argentino que usa como tecnologia o grupo operativo (GO).

A técnica de GO demonstra uma diversidade de experiências e conceitos, constituindo um ambiente de discussão e interação entre os participantes. A prática grupal abrange uma característica marcante que é a heterogeneidade, ou seja, as especificidades expressas pelos integrantes do grupo, as quais carecem ser analisadas pelo coordenador, de modo que estas possibilitem uma visão ampliada dos participantes em busca de um desejo coletivo (CARDOSO; DALL'AGNOL, 2011).

No entanto, é necessário que a prática de enfermagem saia do papel de afazeres do modelo biomédico, indo de encontro a uma prática humanizada e integral aos mecanismos de atenção a saúde. Uma forma de realização desse atendimento biopsicossocial é com o uso da técnica de GO (DALL'AGNOL; MAGALHÃES; MANOD, 2012).

Destarte o enfermeiro é responsável por amparar meios e finalidades comuns dentro de um grupo, com mediação de saberes que vão além de estratégias simples de transmissão de informações, sendo capazes de influenciar diretamente o cotidiano de atenção e cuidado aos usuários, desenvolvendo técnicas terapêuticas capazes de desencadear autonomia e instrumentalização da realidade vivenciada (DIAS; SANTANA et al, 2010).

Nesse sentido os GO, não exercem papel apenas para que haja troca de experiências e aproximação de pessoas, mas também preencha um papel fundamental no ensino – aprendizagem, tanto para educando como para educador, em que a troca de conhecimentos acontece de forma horizontal, possibilitando ao sujeito um conhecimento consciente, favorecendo o tornar-se profissionais críticos e reflexivos capazes de gerir conhecimento. Assim é necessário que os profissionais abarquem essas novas técnicas de ensino, assumindo papeis de facilitadores ou condutores do processo ensino – aprendizagem, para que os GO sejam capazes de atender os sujeitos em seus

ambitos: social, cultural, econômico, espiritual e emocional (PEREIRA; VIEIRA; FILHO, 2011).

Para tanto o objetivo do estudo foi analisar a participação do aluno do curso de graduação em enfermagem do CAC/UFG na disciplina grupos em saúde no processo de aprendizagem da estrutura grupal.

2. METODOLOGIA

Trata-se de uma pesquisa participante, com abordagem qualitativa, desenvolvida no município de Catalão estado de Goiás. Este foi escolhido devido sua condição de abrigo do CAC/UFG. Localiza-se no Sudeste do Estado de Goiás, com uma população estimada pelo IBGE (2010) de 86.597 habitantes, e presencia uma modernização na produção agropecuária e modificações econômicas, sociais e políticas (BRASIL, 2006).

O CAC/UFG, foi criado em 17 de dezembro de 1983, por meio de convênio da Prefeitura Municipal e UFG, identificado na época como *Campus* Avançado de Catalão, a fim de concretizar a proposta de interiorização. Inicialmente funcionou com atividades de estágios e prestação de serviços à comunidade locorregional e, a partir de 1985, foram implantados cursos de licenciaturas Plenas em Letras e em Geografia, seguidas de Matemática, Pedagogia, Educação Física, bacharelado e licenciatura em História, nos anos subsequentes (1985, 1987, 1989, 1991 respectivamente). Dando continuidade a esta política de interiorização do ensino superior consolidaram-se outros cursos de graduação, efetivação de corpo docente capacitado, cursos de pós-graduação,pesquisa e extensão (BRASIL, 2006). Com a política de expansão do Governo Federal o CAC/UFG vivenciou e vivencia a ampliação de sua infraestrutura, atingindo vinte e um cursos de graduação.

Assim, o Curso de Graduação em Enfermagem foi criado em 1º de junho de 2007, por meio da Resolução do CONSUNI/UFG nº 12. Para início no primeiro semestre do ano letivo de 2008, condicionado à liberação, pelo MEC, das vagas docentes para contratação, previstas no Convênio de Expansão das IFES (UFG, 2007).

Para melhor compreensão descreve-se como ocorreu a disciplina: houve 14 sessões de GO com duração de 2 horas cada, que ocorreram no primeiro semestre de 2012. Encontros estes, em que os alunos intercalaram nas funções de coordenadores-alunos e observadores, com revezamento entre eles, distribuídos a cada sessão de grupo em dois círculos, um interno (11 participantes, 2 alunos-coordenadores e 1 professor-

coordenador) e outro externo (composto pelos 13 observadores de grupo). Cada GO iniciou com um tema disparador referente a um conteúdo teórico, em que alunos-coordenadores conduziam a explanação. Seguida da leitura da crônica da reunião anterior (constituída da análise do movimento grupal pelo professor-coordenador a partir das anotações dos observadores) que abria discussão do grupo em que a tarefa explícita era motivar uma interlocução do referencial teórico com as vivencias dos discentes, considerando as dimensões pessoais e profissionais.

Sendo assim, os sujeitos da pesquisa foram 27 alunos ingressos no ano de 2009/1 do curso de graduação em enfermagem que cursaram a disciplina de Grupos em saúde a qual está prevista na grade curricular para o 7º. período no curso. Os mesmos foram informados no início da disciplina de que esta seria acompanhada e analisada com finalidade de pesquisa, e lhes foram oferecidos os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

A coleta de dados foi realizada no ano de 2012/1 quando os alunos estavam cursando o 7º período do curso de graduação em enfermagem. Foram utilizados, entrevista em grupo focal ao final da disciplina, que estimulou o aluno a refletir e expressar o que aprendeu na disciplina, as falas foram registradas por meio de um gravador digital com média aproximada de 60 m e os relatos dos quatorze observadores do GO. Além desses foi aplicado um instrumento de avaliação Escala dos Indicadores do Desempenho Grupal (EIDG).

A escala EIDG foi construída de acordo com os pressupostos teóricos dos processos grupais que ocorram através de cinco vetores, sendo eles: afiliação/pertença, comunicação, cooperação, aprendizagem/pertinência e tele, tratando-se de um instrumento de auto-avaliação do desempenho grupal (ALVES; CAMPOS; DOMINGUES, et al, 2003).

O instrumento EIDG é uma auto- avaliação do desempenho grupal, analisado por meio das interações e situações grupais, alcançando respostas positivas ou negativas por meio do quantum de energias psicossociais o integrante possui (ALVES; CAMPOS; DOMINGUES, et al, 2003).

A escala EIDG é composta de dois grupos de indicadores, o A que se refere ao sim, sendo o maior valor de respostas sim o S5 e o menor valor S1, e o B ao não, sendo que o maior valor de respostas não é o N1 e o menor valor é N5. Ambos são subdivididos em 5 vetores sendo eles: I ao III: afiliação pertença – identificação e integração ao grupo; IV ao VI: comunicação – o como e a quem se destinam as mensagens; VII a IX:

cooperação – contribuição a tarefa grupal; X ao XII: aprendizagem e pertinência – salto qualitativo de transformação e XIII a XV: tele – disposição para trabalhar como integrante do grupo (ALVES *et al*, 2003).

Os vetores do grupo são dispositivos qualitativos que permitem analisar os conteúdos que estão subentendidos no grupo, eles estão divididos segundo Pichon Riviére (2009) e Gayotto (2003) em:

Afiliação e pertença: representa um primeiro momento do grupo, até que a pessoa se sinta integrada, quando a afiliação acontece ela torna-se pertença favorecendo a melhoria dos vínculos e relações.

Cooperação: tendo como base os papeis que devem ser assumidos por diferentes pessoas indicando um caráter flexível e interdisciplinar, representando as necessidades grupais e individuais.

Pertinência: refere ao quanto o grupo é capaz de esclarecer e se centrar na tarefa de forma criativa e produtiva.

Comunicação: abrangendo qualquer tipo dela avaliando os papeis e características comunicacionais.

Aprendizagem: que é a mudança qualitativa do grupo, em relação a resolução das ansiedades, criatividade, possibilidade de integração e superação, o desenvolvimento do próprio grupo.

Tele: è um conteúdo implícito significa a distancia entre as pessoas, como elas a ampliam ou diminuem, a tranferencia negativa ou positiva que se dá entre os membros do grupo e coordenador. Momento em que as ansiedades transcendem.

As respostas assinaladas são dividas em pontos extremos entre S5/N1, e entre S1/N5 e os pontos intermediários do S1 ao N5 (ALVES *et al*, 2003).

Para apreciação dos dados, os resultados são lançados em uma planilha de avaliação do desempenho grupal, sendo divididos nos 5 indicadores, em pontos extremos e intermediários, os pontos extremos são contados somente quando estiverem assinalados em dupla e os intermediários são contados individualmente. Com a soma dos resultados dos pontos extremos de cada indicador se obtém o perfil. Contudo deve-se multiplicar o resultado final dos pontos extremos a um peso dependendo da seguinte classificação:

Quadro 1 – Pesos e classificações conferidos aos resultados do perfil e do desempenho grupal

Resultados Numéricos	Classificações	Pesos para cálculos finais
0	Nulo	0
1 a 9	Baixo	Multiplicar por 2
10 a 20	Médio	Multiplicar por 4
a partir de 21	Alto	Multiplicar por 6

Fonte: ALVES, et al, 2003. p. 217

Com a soma dos pontos intermediários e o resultado do perfil se obtém o desempenho grupal, que deve ser considerado da seguinte forma:

Quadro 2 – Pesos e classificações conferidos aos resultados do perfil e do desempenho grupal

Resultados numéricos	Classificações
0 a 15	Muito insatisfatório
16 a 35	Insatisfatório
36 a 55	Satisfatório
a partir de 56	Muito Satisfatório

Fonte: ALVES, et al, 2003. p. 217

O processo de análise dos discursos passou pela técnica de análise de conteúdo, mais especificamente nas categorias temáticas de Bardin (2010), entendida como um conjunto de instrumentos metodológicos que se aplicam a discursos diversificados. A análise temática se constitui, como sugere a autora, em buscar os "núcleos de sentidos" inseridos em uma comunicação, e cujas presenças ou frequências de aparição podem significar alguma coisa para o objetivo analítico escolhido. Essa técnica de análise desenvolve-se em três fases: pré-análise, seleção das unidades de análise e o processo de categorização (BARDIN, 2010).

Na primeira fase foi realizada a pré-exploração do material por meio da leitura "flutuante". Segundo Bardin (2010), a leitura "flutuante" tem como objetivo estabelecer contato com os documentos e conhecer o texto, buscando impressões e orientações. Assim, foram feitas várias leituras de todo o material, buscando apreender, de uma maneira total, as idéias principais e os significados gerais.

Na segunda fase selecionamos as unidades de análise (ou unidades de significação). Em conformidade com os objetivos da investigação, o qual foram construídos os recortes das falas dos sujeitos, relatos e documentos. Esses recortes permitiram a identificação de unidades comparáveis de categorização, visando à análise temática e à modalidade de codificação para os registros dos dados. (BARDIN, 2010). Sendo assim os fragmentos de fala foram codificados em G1, G2, ... G27 (G representando grupo e o número o sujeito)

Na terceira fase houve a categorização, que corresponde a uma operação de classificação de elementos constitutivos de um conjunto por diferenciação e, posteriormente, por reagrupamento, segundo o gênero. Esse foi um processo que comportou duas etapas: a de inventário que isola os elementos e a de classificação que reparte os elementos. O primeiro objetivo da categorização consistiu em fornecer, por condensação, uma representação simplificada dos dados brutos (BARDIN, 2010).

O presente estudo obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Universidade Federal de Goiás nº. protocolo 026/2009.

3. RESULTADOS

A Escala dos Indicadores do Desempenho Grupal (EIDG) é uma auto- avaliação que demonstra como foi a efetividade, as interações e o feedback do grupo em distintos momentos, conseguindo posteriormente por meio da análise dos dados provar o que foi proposto pelo plano terapêutico. Assim ao final do grupo tem-se a avaliação satisfatória ou insatisfatória do desempenho grupal e do processo ensino- aprendizagem. Tal processo procede de como é a participação do integrante no grupo a partir de sua individualidade e expectativas, necessários para assumir uma grupalidade com objetivos comuns**.**

Nesse contexto, a partir da análise da amostra das respostas dos alunos da disciplina de grupos em saúde do curso de graduação em enfermagem da UFG/ CAC, surgiram os seguintes dados:

Tabela 1: Planilha de Avaliação do Desempenho Grupal dos sujeitos de pesquisa. UFG/ CAC. Catalão, 2012

INDICADORES	Pontos extremos				Pontos Intermediários									
	S5	N1	S1	N5	S1	S2	S3	S4	S5	N1	N2	N3	N4	N5
I a III	26	26			1		6	27	21	11	28	9	6	6
IV a VI	17	17				3	9	40	14	19	10	15	10	9
VII a IX	5	5				4	11	34	31	8	15	28	20	5
X a XII	12	12				2	12	40	19	8	28	18	12	5
XII a XV	8	8				4	13	28	29	6	24	16	18	12
Subtotais	68	68			1	13	51	169	114	52	105	86	66	37
Totais	Perfil -----136---X----6--- ---= 816				Desempenho grupal -------816-----+-----694----------= 1510 1510/27 = 56									

Legenda: 136= soma dos pontos extremos; 6= peso para cálculos finais; 816= resultado do perfil; 694= soma dos pontos intermediários; 27= numero de alunos; 56= classificação do desempenho grupal.

Com base nos dados da tabela 1, os indicadores dos itens I a III, referente a identificação e integração e aos vetores afiliação e pertença, estiveram em maior ascensão (38%), dado esse que corrobora a participação e integração dos alunos no grupo, tornando possível a realização do GO. O indicador dos itens IV a VI e aos vetores comunicação responsável, a quem se destinam as mensagens obteve um percentual de 25%, fomentando assim a integração do grupo. Fator esse elencado também por meio das narrativas dos alunos, que colocam que o acontecimento do grupo foi concretizado apenas quando o diálogo entre as partes teve inicio, constituindo assim as relações interpessoais que antes em determinados subgrupos não existiam ou que eram conflituosas.

O subgrupo VII a IX indicativo do vetor de cooperação, contribuição a tarefa grupal foi o que obteve o menor percentual (7%) confrontando, assim os outros itens, pois subtende - se que dentro do ambiente grupal se existe a interação e a comunicação, logo a cooperação entre os integrantes do grupo deveria estar em um percentual maior, o que não ocorreu. O indicador X a XII o do vetor aprendizagem e pertinência, referente ao salto qualitativo de transformação mostra um salto qualitativo do aprendizado

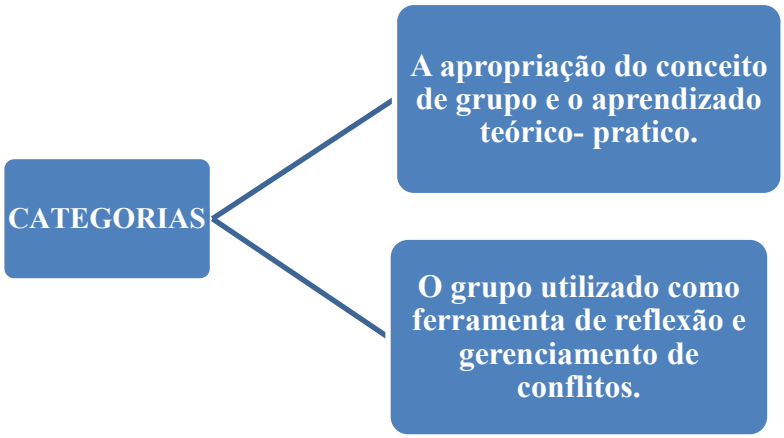
teórico- pratico dos alunos (18%) e o XII a XV do vetor tele (12%) coloca a disposição para trabalhar como integrante do grupo.

Na avaliação dos pontos intermediários, do S1 ao S5, os das respostas afirmativas, os resultados prevalecidos foram entre o S4 (24%) e o S5 (16%) obtendo um sim forte para as perguntas, confirmando uma avaliação positiva do desempenho grupal. Os pontos de negação do N1 ao N5 os valores maiores foram os N2 (15%) e N3 (12%) demonstrando que as respostas que obtiveram não, foi um não fraco, indo de encontro também de forma positiva ao desempenho grupal.

O resultado final da EIDG evidenciou uma avaliação de desempenho muito satisfatório, devido ao valor final de 56, valor esse obtido por meio da soma do perfil com os pontos intermediários, dividindo posteriormente pelo numero de alunos na disciplina, conseguindo assim o desempenho grupal.

Da analise temática emergiram duas categoria expostas na figura 1:

Figura 1 – Categorias resultantes do processo de análise temática dos dados da pesquisa. UFG/ CAC. Catalão, 2012



Quadro 3 – Categorias e respectivas unidades de registro, UFG/ CAC. Catalão, 2012

A apropriação do conceito de grupo e o aprendizado teórico- prático	O grupo utilizado como ferramenta de reflexão e gerenciamento de conflitos
G1. *"[...] Consegui tirar que o grupo é uma modalidade de trabalho terapêutico... que pode ser adotado em nossa atividade profissional... e na modalidade de pesquisa [...]"* ***G2.*** *"[...] Esses critérios utilizados... vão*	***G10:*** *"[...] durante os quatro anos o que aconteceu com todos os nossos conflitos existia um momento que os conflitos explodiam e simplesmente nós ficávamos um virávamos a cara para o outro e depois de três, quatro meses esquecia-se*

além do tradicional como palestras ... acho que isso possibilita uma visão pouco mais critica acerca de situações e objetivos [...]'' ***G1*** *"[...] Eu acho que participando de um grupo isso permitiu pra mim me avaliar como participante deste grupo, qual o meu papel diante dele [...]"* ***G4*** *"[...] Eu acho que o aprendizado foi muito além da disciplina, aprendi como coordenar um grupo aquelas crônica, tele todas essas coisas o aprendizado foi muito maior [...]"* ***G9*** *"[...] aprender a ouvir foi muito importante, observar mais [...]"* ***G12*** *"[...] A linguagem não verbal [...]"* ***G6*** *"[...] Eu acho assim a disciplina é importante porque ensinou a mediar, ser mediadora dos conflitos... aprender a mediar discussões entender o que o outro quer disser [...]"*	*aquilo que havia acontecido e pronto ninguém mais tocava neste assunto e hoje eu vi que dentro do grupo nos conseguimos trazer estes conflitos, resolve-los e tanto conseguimos nos unir mais através dessa disciplina [....]''* ***G7:*** *''[...] ensinou a ser tolerante um com o outro que a gente se permitiu conhecer o outro [...]''* ***G18:*** *''[...] aceitar a opinião do outro, não só a sua como a certa, saber ouvir o outro [...]''* ***G5*** *"[...] Nós nus permitimos ser o grupo [...]"* ***G9*** *"[...] hoje nos temos mais facilidade pra chegar e falar: olha, não concordo, e conseguir chegar a uma solução melhor [...]"* ***G5*** *''[...] você tem a oportunidade de falar de seus sentimentos... que são coisas frágeis mais importantes para cada um no grupo[...]''*

4. DISCUSSÃO DOS DADOS

O desempenho do grupo de alunos foi muito satisfatório segundo a análise da escala de EIDG, corroborando com a concepção de que o GO é um instrumento de circulação de ponderações, constituinte de uma forma simplificada de conhecimento que são introduzidos em todos os indivíduos envolvidos. Este se configura em uma técnica que refaz um caráter conjunto, amplo de vivência, bem como uma medida equânime de mudanças levando o sujeito que está inserido neste contexto a um pensar diversificado e coletivo. Assim além do grupo se tornar um espaço de integração e de comunicação, ele também se transforma em um agente provedor de ensino-aprendizagem para os integrantes (BASTOS, 2010).

Na primeira categoria **A apropriação do conceito de grupo e o aprendizado teórico- prático,** foi possível observar, que os alunos da disciplina se apropriaram do conceito de GO. Conhecimento esse acrescido durante a realização do grupo, a medida que cada encontro acontecia a compreensão e finalidade de tal técnica ficava mais clara e concisa por parte dos alunos.

O grupo torna-se operativo quando existem pessoas compartilhando o mesmo ambiente, com objetivos em comum e que trabalham coletivamente para alcançá-los, estabelecendo metas e estratégias para tanto, concentrando assim na realização da tarefa.

Neste contexto os participantes assumem e atribuem papéis permitindo a visão diversificada e o desempenho crítico diante das situações reais, bem como a construção coletiva da autonomia. Estas são condições necessárias para a abordagem em GO, constituindo em um ambiente favorável para transformação do ensino-aprendizagem (DALL'AGNOL *et al*, 2005).

A diferenciação dos seus vetores e papeis, do formato do grupo como um todo, foi outro fator vivenciado pelos alunos. Esses tiveram o aprendizado didático pedagógico de grupos, fazendo grupos.

É necessário o entendimento do papel que o sujeito desenvolveu no contexto grupal, imprescindível ao processo didático – pedagógico , possibilitando a reflexão dos conceitos e conflitos pessoais. Este aparato de respostas à aprendizagem fica claro ao assimilarem a construção de uma ponte de conhecimento estabelecido em um ambiente integrador e positivo, como a estratégia de sobreposição de papeis de componentes do grupo (FRANCO; VOLPE, 2011).

Assim, o interjogo de papéis no grupo favorece a abordagem de contextos e conhecimento diversificados, promovendo a plasticidade das relações, o sentido de coparticipação e autonomia no próprio processo de ensino aprendizagem e na condução das relações (DALL'AGNOL *et al*, 2005).

O salto qualitativo de aprendizado foi à percepção e o conhecimento que os alunos tiverem principalmente em relação aos papeis de coordenador e observador do grupo. Papeis esses interligados e de extrema importância para que o grupo aconteça e alcance os objetivos esperados.

Dentro da concepção de GO, a figura do coordenador, representa um integrante facilitador da aplicação de técnicas grupais. Este conduz o grupo e preocupa-se em manter uma atmosfera acolhedora e interativa a todos os participantes. Atentando-se também às necessidades do grupo como o desenrolar de papeis, acolhimento de ideias e reflexão, trazendo a discussão e centralização de temas para uma investigação mais complexa (OLIVEIRA; CIAMPONE, 2008).

O observador tem um papel importante na avaliação das intervenções no grupo, primordialmente de sua funcionalidade, tendo em vista sua atividade de registro e identificação do conjunto de interações no grupo. Sua função torna-se pouco ativa no *setting* grupal, contudo as expressões não verbais e sentimentos ocultos em falas revelam – se como impressões significativas. Assim o material produzido pela prática

do observador é de suma importância para a análise do desempenho grupal, bem como na revisitação do papel do coordenador na condução do mesmo. (KIND, 2004).

Na segunda categoria **O grupo utilizado como ferramenta de enfrentamento**, **reflexão e gerenciamento de conflitos,** percebe-se por meio da narrativa dos alunos que com o inicio da disciplina, os conflitos internos existentes nos diferentes subgrupos da sala, tiveram fim, ou diminuíram.

O enfrentamento de discussões e conflitos no grupo é algo inerente ao processo grupal, tanto nos níveis organizacionais, ou mesmo em grupos de indivíduos proativos, ou institucionais (PUENTE-PALACIOS; SILVA, 2010). Os alunos ao passarem por varias mudanças durante sua adequação e à rotina da Instituição vivenciam diversificadas relações, como anseios profissionais que expõem o sujeito a situações de angustia e ansiedade, causando uma sobrecarga emocional e afetiva. Deste modo graduandos necessitam de um espaço de encontro e reflexão, como o GO, espaço no qual eles podem abordar relações de conflitos, assim como a elaboração dos enfrentamentos (CORRÊIA; MELO E SOUZA; SAEKI, 2005).

Os alunos colocaram que o fator determinante para a resolução dos conflitos foi o fato de aprender a se conhecer, e principalmente aprender a ouvir o outro.

O fato de terem apreendido a ‘ouvir’ para os alunos não foi relativo à capacidade fisiológica auditiva, mas sim no sentido de saber ouvir como escuta. O escutar torna -se algo mais complexo e profundo, do ponto de vista grupal, configurando –se como um desencadeador de analise, pois refere -se a um contexto oculto e abstrato. O desenvolver de técnicas de escuta dentro do grupo permite uma instrumentalização eficaz para a resolução de questões pertinentes aos integrantes do grupo, assumindo papéis, de forma ativa dentro do contexto (BASTOS, 2011).

Esse conhecimento só foi possível a partir da comunicação interpessoal, expressão de ideias, experiências e sentimentos, a partir das sessões grupais. Essa categoria foi de fundamental importância para que a tele do grupo fosse construída, pois foi a partir desse momento que o grupo obteve a disposição, clima e ambiente favorável para desenvolvimento do trabalho.

O GO busca o ‘aprender a pensar’ nos moldes da resolução dos problemas originados e apresentados no espaço grupal no ‘aqui-agora-comigo’, é nesse ambiente de trocas de experiências teórico - pratica que se faz possível a inter-relação de aprendizagem. (PICHON, 2009).

Neste contexto a comunicação entre constituintes do grupo, permite à expressão de múltiplos conceitos, sentimentos e identificações, elencados como distribuidores e desencadeadores de crescimento e desenvolvimento da técnica grupal. Assim a identificação pessoal transforma o processo em dinâmico e aplicado, correlacionando-o com a identificação projetiva que é um ponto de referência da formação da empatia no grupo. Estes métodos estão arraigados ao desenvolvimento pessoal, à integração entre participantes e as identificações de anseios que se reportam a avaliação do método adotado (CAVALLARI; MOSCHETA, 2007).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O que se percebe atualmente nos cursos de graduação em enfermagem, é que o tema trabalho com grupos é pouco abordado, contrapondo-se com as novas proposições das diretrizes da educação especialmente em relação as ciências da saúde, que corroboram atualmente para um ensino voltado para o atendimento biopsicossocial do individuo.

Nesse contexto a criação da disciplina de grupos em saúde do Curso de Graduação em enfermagem, a partir do seu Projeto Pedagógico de Curso, torna-se inovadora ao aplicar um referencial teórico de GO com uso de estratégia didática em que se aprende grupo fazendo grupo. Para tanto conta-se com o resultado de muito satisfatório para o desempenho grupal . Demonstrando que é uma disciplina importante e necessária para a formação em saúde, sobretudo na área da enfermagem, por priorizar o agir em equipe.

O processo de ensino- aprendizagem foi de encontro aos objetivos propostos pela disciplina, os alunos aprenderam o que é grupo, o seu conceito, suas dimensões e utilização fazendo grupos, o que pode ser comprovado pelas narrativas e também pelo instrumento EIDG.

Destarte foi possível comprovar por meio das técnicas e instrumentos utilizados que os alunos tiveram apropriação do saber em relação a grupos focais, em especial o grupo operativo, o qual foi desenvolvido pela disciplina.

Os alunos obtiveram conhecimento teórico- pratico para realização de grupos, conseguindo diferenciar suas partes e seu funcionamento. Tal fato configura-se como um salto qualitativo no processo de ensino- aprendizado, principalmente em alusão ao ambiente profissional. Assim essa ferramenta grupal permitiu ao grupo a personificação

de um trabalho coletivo, além de favorecer a percepção para a necessidade da comunicação entre componentes grupais, à integração entre as diferenças, escuta e acolhimento das dificuldades, comprovando deste modo a importância de se ter essa disciplina na grade curricular de outros cursos de graduação.

6. REFERENCIAS

1. ALVES, D. R.; CAMPOS, E. A. L. C.; DOMINGUES, I.; RIBEIRO, J. C. M.; GARZILO, L.; BAKUZIZ, M. L. F. **Liderança II: aprenda a coordenar grupos.** GAYOTTO, M. L. C. (org). Petrópolis, Rio de Janeiro: Vozes, 2003. p. 212-219.
2. BRASIL. Ministério da Educação. Secretaria de Educação. Secretaria de Ensino Superior. **Programa de Expansão: Projeto de Grande Vulto.** Campus Catalão. s/d.
3. BRASIL. Conselho Nacional de Educação. Câmara de Educação Superior. **Resolução CNE/CES nº 3**, de 7 de novembro de 2001. Institui Diretrizes Curriculares Nacionais do Curso de Graduação em Enfermagem. Disponível em: <http://censo2010.ibge.gov.br/apps/atlas/.> Acesso em: 10 de julho de 2013.
4. BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Contagem Populacional ano de 2010.** Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/popul/d… Acesso em: 10 de julho de 2013.
5. BARDIN, L. **Análise de Conteúdo**. 3. ed. Lisboa: Edições 70, 2010.
6. BASTOS, A. B. B. I. A técnica de grupos- operativos à luz de Pichon- Rivière e Henri Wallon. Psicol., **Ensino** & Form. São Paulo, v.14, n. 14, p. 32-3, 2011.
7. CARDOSO, A. S. F; DALL''AGNOL, C. M. Processo grupal: reflexões de uma equipe de enfermagem. **Rev. esc. enferm. USP.** Porto Alegre, v.6, n.45, p. 1412-8, 2011.
8. CAVALLARI, M. L. R.; MOSQUETA, M. S. Reflexões a respeito da identificação projetiva na grupo terapia psicanalítica. **Revista da SPAGESP.** São Paulo, v.8, n.1, p. 43-5, 2007.

9. CORRÊIA, A. K.; MELLO E SOUZA, M. C. B.; SAEKI, T. Transição para o exercício profissional em enfermagem uma experiência de grupo operativo. **Esc. Anna Nery enferm**. Ribeirão Preto SP, v.3, n.9, p. 421-8, 2005 .

10. DALL'AGNOL, C. M.; MAGALHÃES, A. M. M.; MANOD, G. C. M., et al. A noção de tarefas nos grupos focais. **Rev. Gaúcha enferm.** Porto Alegre, v.1, n.33, p. 186-90, 2012.

11. DALL''AGNOL, C. M.; FERREIRA, S. R.; GRANDO, M. K., et al. El interjuego de papeles em el processo enseñanza- aprendizaje a partir de La técnica de grupo operativo. **Revista Panamericana de Enfermería**. México, v.2, n.3, p.146-52, 2005.

12. DIAS, D. G.; SANTANA, M. G.; SOARES, L. C., et al. Educação em saúde na modalidade grupal: relato de experiência. **Revista Ciência Cuidado e Saúde**. Pelotas – RS, v.1, n.8, p.118-123, 2009.

13. FRANCO, E. M.; VOLPE, A. J. Sentidos para formação em grupo de reflexão, S Psicol., **Ensino** & Form. São Paulo, v.1, n.2, p. 33-42, 2011.

14. GAYOTTO, M. L. C. DOMINGUES I. **Liderança: aprenda a mudar em grupo.** 3ª.ed. Petrópolis: Vozes; 1998.

1. KIND. L. Notas para trabalho com a técnica de grupos focais. **Psicologia em Revista**. Belo Horizonte, v.10, n.15, p.124-136, 2004.

2. LUCCHESE, R.; VERA, I. PEREIRA, W. R. As políticas públicas de saúde – SUS - como referência para o processo ensino-aprendizagem do enfermeiro. **Rev. Eletr. Enf**. v. 12, n. 3, p. 562-6, 2010.

3. OLIVEIRA, R. A.; CIAMPONE, M. H. T. Qualidade de vida de estudantes de enfermagem: a construção de um processo e intervenções. **Rev. esc. enferm. USP.** São Paulo, n. 42, v. 1, p. 57-65, 2008.

4. PEREIRA, A. V.; VIEIRA, A. L. S.; AMÂNCIO FILHO, A. Grupos de educação em saúde: aprendizagem permanente com pessoas soropositivas para o HIV. **Trab. Educ. Saúde.** Rio de Janeiro, v. 9 n. 1, p. 25-41, mar./jun., 2011.

5. PICHON RIVIERE, E. **O processo grupal.** 8ªed. São Paulo: WMF Martins Fontes, 2009. p. 286.

6. PICHON-RIVIÈRE H. **O processo grupal.** Trad. VELOSSO, M. A. S. 2ª ed. São Paulo: Martins Fontes; 1986.

7. SILVA, N. I. A.; PUENTE- PALACIOS, K. Desenvolvimento e validação da Escala de Conflitos Intragrupos – ECIG. **Psico USF.** v. 15, n.2, p. 205-13, 2010.

8. UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS (UFG). Campus Catalão. **Carta sem título que trata do início do Curso de Graduação em Enfermagem na UFG, encaminhada aos senhores conselheiros pelo diretor do Conselho Diretor do *Campus* Catalão da /UFG de 09 mai. 2007**. Catalão (GO), 2007.

BIOMATERIAL CARTILAGINOSO TRATADO EM SOLUÇÃO ALCALINA: OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE *IN VITRO*

Valcinir Aloisio Scalla Vulcani[1]; Panmera Almeida Helrigel[2]; Rogério Elias Rabelo[3]; Guilherme Pinheiro Santos[4];

RESUMO
Os biomateriais são materiais para utilização em organismos vivos que podem atuar como arcabouços para crescimento tecidual, estimuladores da regeneração e ou cicatrização e que são utilizados por tempo determinado ou indefinidamente. O principal critério para utilização de um material em organismos vivos é que a biocompatibilidade seja adequada e haja sincronia com a biofuncionalidade. Dentre as possibilidades mais recentes utilizadas por grupos brasileiros está o tratamento alcalino que reduz a antigenicidade de tecidos animais para serem empregados como biomateriais. Neste âmbito, utilizou-se neste trabalho o tratamento alcalino em cartilagens auriculares bovinas e verificou-se a eficácia do método em não alterar as características fibrosas do material, bem como a possibilidade de esterilização em óxido de etileno. Além disso, realizou-se testes de citotoxicidade *in vitro* como testes preliminares de biocompatibilidade. Concluiu-se que o tratamento foi eficaz, não alterou as características teciduais da cartilagem e que o material não é citotóxico.
Palavras-Chave: biomateriais; cartilagem auricular; biocompatibilidade; citotoxicidade.

[1] Orientador. Docente – Universidade Federal de Goiás, Campus de Jataí.
[2] Orientando. Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Goiás, Campus de Jataí.
[3] Docente – Universidade Federal de Goiás, Campus de Jataí.
[4] Discente do curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Goiás, Campus de Jataí.
"Revisado pelo Orientador".

1. INTRODUÇÃO

O termo biomaterial compreende qualquer substância ou combinação de substâncias, de origem natural ou sintética, idealizada para ser implantada ou incorporada por qualquer período de tempo, com a finalidade de substituir matéria viva que deixou de ter a sua função, podendo ou não servir como veículo, matriz, suporte ou estimulador para o crescimento de novo tecido.

A utilização de biomateriais para o reparo de tecidos vivos tem aumentado consideravelmente nas últimas três décadas, graças ao desenvolvimento de novos materiais e a uma melhor compreensão dos mecanismos de sua interação com os organismos vivos.

A aplicação dos biomateriais ocorre nos mais diversos campos da medicina, como em próteses ortopédicas, cardiovasculares, órgãos artificiais, materiais para reparação de tecidos e sistemas de liberação de fármacos.

Algumas características são fundamentais para se utilizar materiais em organismos vivos:

- ser biocompatível, isto é, não induzir respostas teciduais ou imunológicas;
- não ser tóxico nem carcinogênico;
- ser quimicamente estável;
- ter estabilidade mecânica adequada;
- ter peso, densidade e forma adequados;
- ser relativamente barato, reprodutível e de fácil fabricação; e
- ser biofuncional, ou seja, desempenhar a função para a qual foi projetado com o máximo de eficiência.

Quando um material estranho entra em contato com os fluídos biológicos, respostas de proteção são desencadeadas e se manifestam como processos inflamatórios ou imunológicos, visando a eliminação do corpo estranho. Portanto, o bom desempenho de um biomaterial pós-implante está associado a um equilíbrio entre biocompatibilidade e biofuncionalidade.

Segundo Hench, biocompatibilidade não é apenas a ausência de rejeição, mas envolve também a interação entre o implante e o tecido adjacente, podendo ser bioinerte quando ocorre a formação de uma cápsula fibrosa não aderente ao redor do implante, ou, bioativo, quando o material interage com os tecidos adjacentes de forma semelhante à parte natural que eles substituem.

Dependendo da aplicação do biomaterial, a biodegradabilidade é também uma característica importante, como em suportes de crescimento de tecidos e em sistemas de liberação de fármacos, nas quais a matrizes implantadas não são retiradas após término de sua função e sim degradadas pelo organismo.

Segundo SOARES et al., (2005), de uma forma geral, pesquisas em biomateriais estão sendo realizadas em departamentos de engenharias, física, química, entre outros e em departamentos ligados à área de ciências da saúde, que tendem a atuar em parceria com as áreas tecnológicas, contribuindo fortemente para o desenvolvimento das ciências básicas e aplicadas e à formação de recursos humanos.

Porém, algumas estratégias seriam necessárias para otimizar o potencial nacional na formação de recursos humanos específicos para a área de biomateriais, como:

- formação mais generalista em nível de pós-graduação;
- incentivar cursos de graduação e de pós-graduação interdepartamentais e interdisciplinares;
- definir políticas de fixação de recursos humanos qualificados.

Segundo dados do Fórum de Biotecnologia Biomateriais, realizado pela Universidade Federal do Rio de Janeiro em 2005, as matrizes extracelulares atualmente produzidas ainda estão aquém do desejado, pela dificuldade de compatibilizar propriedades biológicas com requisitos mecânicos.

Dessa forma, há espaço para os grupos brasileiros pesquisarem e inovarem. Outra vantagem apresentada pelo Brasil é a possibilidade de realização de testes em cobaias (desde que devidamente aprovados pela CONEP), etapa fundamental para se viabilizar o desenvolvimento de um produto/processo[1]. Para isto, algumas ações governamentais são necessárias para impulsionar a área, como as descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Resumo dos entraves e ações necessárias para o desenvolvimento da área de produção de enxertos e arcabouços no Brasil. Fórum de Biotecnologia Biomateriais – UFRJ, 2005.

Gargalos atuais	**Ações necessárias**
Enxertos: setor tradicional	- substituir importações - garantir qualidade do produto
Scaffolds: intensa atuação de P&D com forte interação entre os grupos ligados a "materiais" com os de formação "bio"	- identificar nichos possíveis de atuação competitiva e investir maciçamente para se chegar o mais rapidamente a produtos - incubação de empresas, inovação

Na clínica cirúrgica de pequenos e grandes animais, a incidência de pacientes que apresentam grandes perdas teciduais é significativa. Em situações emergenciais,

independentemente se a lesão é de origem traumática ou neoplásica, o grande desafio para o cirurgião veterinário é a obtenção de tecidos viáveis para promover a reparação e restauração das estruturas comprometidas.

No tratamento de injúrias passíveis de correção cirúrgica, como nas rupturas de tendões e hérnias, o método ideal é que se promova a aproximação de tecidos do próprio paciente. Porém, em situações em que não seja possível essa reconstrução, em virtude da ausência de integridade tecidual ou mesmo comprometimento de aponeuroses, o uso dos biomateriais tem sido apontado como alternativa (SILVA et al., 1999; RABELO et al., 2005; RABELO et al., 2006).

Diversos estudos têm sido realizados empregando os biomateriais, sejam estes de natureza sintética ou mesmo biológica, com resultados e intercorrências variadas. Para RICHA (1987), implantes de natureza biológica, sejam estes homólogos ou heterólogos, apesar de muitas vezes necessitarem de conservação previamente a sua implantação no receptor, têm se mostrado mais vantajosos em relação aos tecidos de natureza sintética. Tal fato estaria relacionado à maior antigenicidade dos biomateriais sintéticos, culminando em diversas complicações, com destaque para a rejeição do implante. Para BRACCIALLI et al. (2001), os materiais de origem biológica, em função das formas de obtenção, conservação e do pouco estímulo antigênico que promovem, apresentam-se como alternativa viável em cirurgias reparadoras.

Em Medicina Veterinária o uso dos implantes biológicos têm sido mais utilizados na reconstrução de defeitos da parede diafragmática, com destaque para a dura-máter homógena em cão (PIGOSSI, 1964), pericárdio eqüino e bovino em cão (STOPIGLIA et al., 1986; RANZANI, 1990; ALVARENGA, 1992), ligamento nucal bovino em cão (DALECK et al., 2000), diafragma homólogo em cão (MAZZANTI, 2000) ou mesmo nas hernioplastias umbilicais em bovinos, com importância para o uso do centro tendíneo diafragmático homólogo (RABELO, 2003) e a cartilagem auricular homóloga (SILVA et al., 2004). Destacam-se também, o uso de implantes biológicos, de origem heteróloga ou homóloga, nas tenoplastias do tendão calcanear comum em cães, com uso do peritônio bovino (COSTA NETO, 1997) e da albugínea peniana bovina (RABELO et al., 2006; VULCANI et al. 2008).

Porém, há de se considerar que nas tenoplastias, independente da espécie e porte do receptor, os implantes só terão indicação em alguns casos. Estes podem estar relacionados às extensas perdas teciduais, o que poderia dificultar ou mesmo impossibilitar uma efetiva anastomose término-terminal dos tendões lesionados, principalmente em casos de lesões

crônicas ou perda considerável dessa estrutura, respectivamente (RICHA, 1987; SARTORI FILHO et al., 1997; RABELO et al., 2006).

Mesmo sendo os biomateriais de uso consagrado, muitas são as dúvidas a serem esclarecidas, principalmente no que se refere ao comportamento histopatológico e imunoistoquímico destes materiais após implantação em diferentes espécies, uma vez que muitos relatos na literatura científica só fazem referência aos aspectos clínicos, não se elucidando o comportamento tecidual em diferentes períodos. Fatores como a antigenicidade dos implantes, resposta inflamatória, estrutura das fibras colágenas por ocasião da fibroplasia, aderências pós-cirúrgicas, com danos à funcionalidade do órgão ou estruturas adjacentes e as reações de rejeição, comumente relatadas, são alguns aspectos que ainda necessitam de estudos complementares.

2 OBJETIVOS

O presente projeto teve por finalidade utilizar solução alcalina para obter biomaterial a partir de cartilagem auricular bovina, caracterizá-lo físico-quimicamente e avaliar sua biocompatibilidade *in vitro*

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas cartilagens auriculares de bovinos abatidos em frigoríficos inspecionados da região de Jataí, GO. Este material foi dissecado com material cirúrgico, limpo e submetido em solução fisiológica durante uma hora. O material apresentou coloração variando de branco a amarelo claro, conforme as características comuns da cartilagem elástica (Figura1). Em seguida foram enxaguados, secos em papel toalha e acondicionados em embalagens plásticas individuais para serem congelados.



Figura 1. Cartilagens auriculares bovinas após retirada da pele e tecido subcutâneo (A). Em B, cartilagem auricular na qual pode-se visualizar coloração típica da cartilagem elástica, variando de branca a amarelada.

As cartilagens congeladas foram enviadas ao Laboratório de Bioquímica e Biomateriais do IQSC – USP – São Carlos para receber o tratamento alcalino por 72 horas, segundo metodologia proposta por GOISSI et al. (1999). Neste tratamento utiliza-se solução de sulfato de sódio, potássio, cálcio em um pH controlado com índice 14, afim de manter uma solução altamente alcalina para retirada de células e preservação do arcabouço fibroso de constituição da cartilagem. Em seguida o material foi caracterizado por:

Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC): Foram utilizadas amostras de aproximadamente 10 mg com uma taxa de aquecimento de 10^0C/min sob fluxo de O_2 e intervalo de temperatura de 20 a 180ºC, em equipamento DSC 2010 da TA INSTRUMENTS.

Termogravimetria: As amostras com aproximadamente 10 mg foram submetidas à análise termogravimétrica, com uma variação de temperatura de 25 à 800ºC sob fluxo de O_2 (10^0C/min) em equipamento TGA 2050 da TA INSTRUMENTS.

Avaliação da Biocompatibilidade *in vitro*

Foram realizados estudos de citotoxicidade com amostras do biomaterial esterilizado em Óxido de Etileno e acondicionadas em embalagens de grau cirúrgico e em seguida submetidos aos protocolos do teste, conforme metodologia a seguir:

Teste de biocompatibilidade *in vitro* pelo método de difusão em Agar

O teste de citotoxicidade *in vitro* foi realizado pelo método de difusão em Agar com linhagem celular VERO (CCL-81 ATCC-USA). As células na concentração 3.10^5 células/mL foram semeadas em placa de petri, no volume de 5 mL e incubada durante 48 horas a 37ºC em atmosfera úmida com 5% de CO_2. Em seguida, em capela de fluxo laminar, desprezou-se o meio de cultura e adiciona-se 5 mL do meio "overlay" em cada placa de Petri. Este meio é

composto de parte iguais de mínimo de Eagle (MEM) e Agar a 1,8% contendo 0,01% de vermelho neutro. No momento de utilização o Agar foi fundido e misturado na mesma proporção com o MEM, ambos a uma temperatura de 44ºC. Fragmentos com cerca de 0,25cm^2 de área superficial da amostra foram colocada sobre o Agar antes da sua solidificação completa. As placas de Petri foram incubadas em estufa com 5% de CO_2 a 37ºC por 24 horas. Utilizou-se como controle positivo do teste, fragmentos de látex e como controle negativo, discos de papel filtro de natureza atóxica, com área superficial de 0,25cm^2. As amostras foram avaliadas em triplicata (ROGERO et al, 2003).

4. RESULTADOS

Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria

Os resultados obtidos com a submissão das amostras da cartilagem tratada demonstraram um deslocamento do pico relativo à perda de água no material (85-110^{0}C).

A termogravimetria mostrou perda de massa em dois estágios. O primeiro estágio (da temperatura ambiente até cerca 200ºC) é atribuído a perda de água adsorvida e estrutural contida no material e o segundo estágio inicia-se próximo de 200ºC e vai até 900ºC, relativo à degradação dos biopolímeros e confirmando a presença do colágeno na estrutura do material.

Avaliação da Biocompatibilidade *in vitro* - Citotoxicidade pelo método de difusão em Agar

Os testes realizados com três linhagens celulares diferentes mostrou que o material não e tóxico para as células.

Nas figuras 2, 3 e 4 observa-se que não houve formação de halo ao redor das amostras de cartilagem, semelhante ao que ocorreu com o controle negativo, dispostos nas extremidades direita e esquerda das placas de Petri, respectivamente. A formação de halo deu-se apenas ao redor das amostras de controle positivo, colocadas ao centro da placa de Petri.

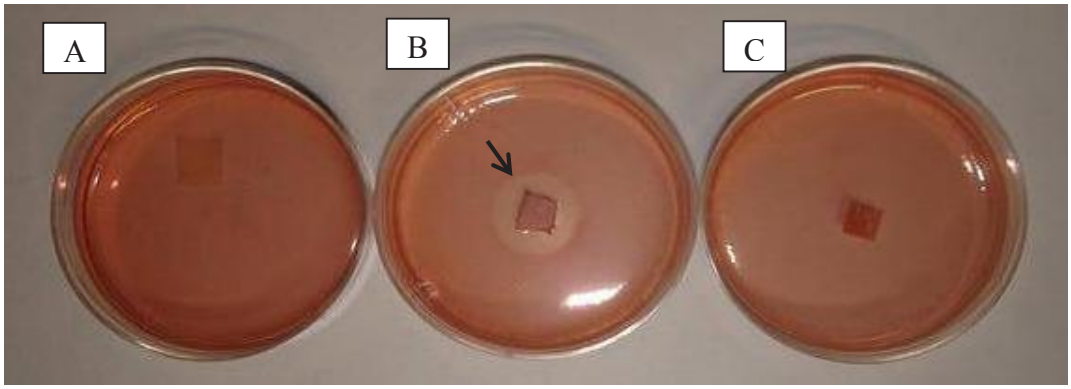


Figura 2. Fotografia digital das Placas de Petri contendo a linhagem celular HEp-2 (tumor de laringe humana) com amostra cartilagem auricular tratada em solução alcalina em A, controle positivo (látex) em B e controle negativo (papel de filtro) em C. Observou-se a formação de halo apenas ao redor do controle positivo (seta), demonstrando que as amostras não são citotóxicas.

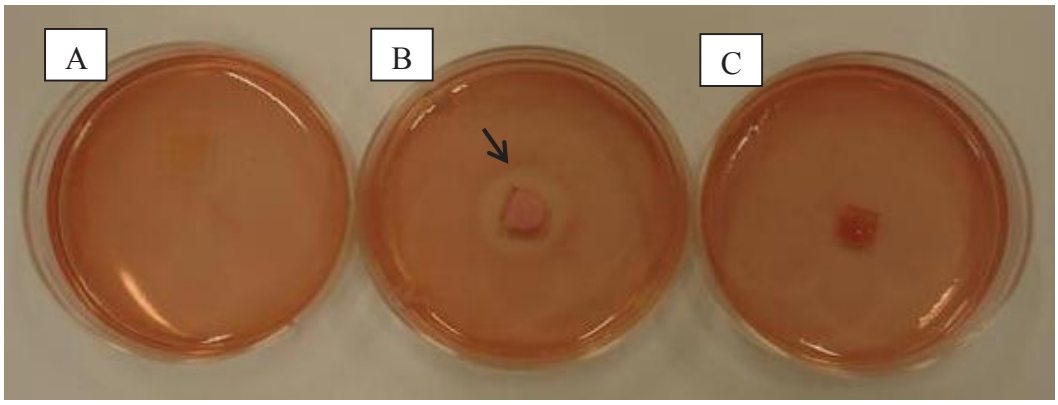


Figura 3. Fotografia digital das Placas de Petri contendo a linhagem celular Vero (células renais de macaco verde africano) com amostra da cartilagem auricular tratada em solução alcalina em A, controle positivo (látex) em B e controle negativo (papel de filtro) em C. Observou-se a formação de halo apenas ao redor do controle positivo (seta), demonstrando que as amostras não são citotóxicas.

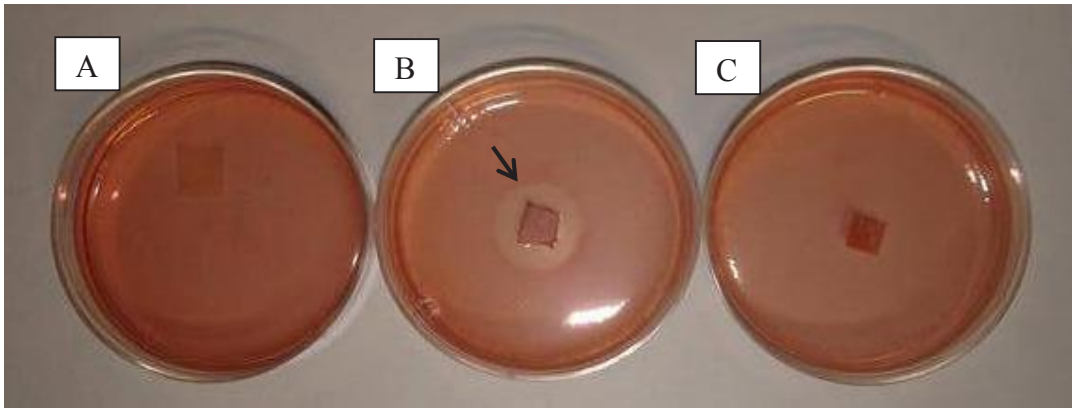


Figura 4. Fotografia digital das Placas de Petri contendo a linhagem celular McCoy (fibroblastos de camundongos) com amostra da cartilagem auricular tratada em solução alcalina em A, controle positivo (látex) em B e controle negativo (papel de filtro) em C. Observou-se a formação de halo apenas ao redor do controle positivo (seta).

5. DISCUSSÃO

A retirada da pele da orelha e tecido subcutâneo utilizando-se de bisturi, pinças e tesouras cirúrgicas foi efetiva, pois proporcionou o isolamento da estrutura de interesse, quais sejam as cartilagens auriculares. Não houve danos às cartilagens e a área da cartilagem apresenta-se interessante para utilização cirúrgica e reconstrução tecidual.

O teste de estabilidade térmica é importante para se conhecer a temperatura máxima de trabalho com o material, principalmente quando houver necessidade de esterilização para implante. Define-se como análise térmica o conjunto de técnicas em que as propriedades físicas de uma substância e/ou seus produtos de reação são avaliados em função da temperatura em que a substância é submetida, em um programa controlado de temperatura (WENDLAND, 1986).

A calorimetria exploratória diferencial é um método analítico termodiferencial no qual a ordenada, em qualquer tempo ou temperatura é diretamente proporcional ao fluxo diferencial de calor entre a amostra e a referência. Os eventos térmicos registrados em ensaio de DSC são função da composição e estrutura do material, aparecendo como desvios da linha de base na direção endo ou exotérmica. Dentre os inúmeros eventos térmicos observados por DSC, encontra-se a desnaturação de proteínas, que é geralmente acompanhada de transições térmicas induzidas (fenômeno de encolhimento). As medidas de DSC realizadas com a amostra foram baseadas na transição endotérmica característica da mudança estrutural da tripla-hélice do colágeno. Com o aumento da temperatura acima de um nível crítico, ocorre uma quebra desta estrutura cristalina, dando lugar a uma estrutura amorfa formada por cadeias polipeptídicas. Com a utilização da análise térmica, os registros mostraram que não houve alterações estruturais das fibras de colágeno após as cartilagens terem sido submetidas ao tratamento alcalino, fato este importante para manter afirmar que a integridade do material foi mantida (PRIVALOV, 1970). Ressalta-se que a esterilização das cartilagens em óxido de etileno não alteraram, da mesma forma, a estrutura tecidual cartilaginosa.

Os testes de biocompatibilidade *in vitro* constituem-se como a primeira etapa para a compreensão dos mecanismos envolvidos na aceitação, por organismos vivos, de um material empregado como implante. Além disso, as normas ISO recomendam sua utilização, antes da aplicação do material em cobaias para que o uso de animais seja reduzido e para que haja embasamento e justificativas para a aplicação em organismos vivos (ROGERO, 2003). Neste âmbito, verificou-se, para três diferentes linhagens celulares que o material não é citotóxico, estabelecendo critérios para a próxima etapa do estudo que será a aplicação em organismos

vivos para verificar o processo inflamatório na interface hospedeiro/implante por técnicas de histopatologia e imunoistoquímica.

6. CONCLUSÕES

Este projeto permitiu estabelecer os critérios para coleta de cartilagens auriculares bovinas para serem tratadas e constituírem membranas para aplicação cirúrgica experimental. Além disso, verificou-se que o método de tratamento alcalino destas cartilagens e a esterilização em óxido de etileno não alteraram as propriedades do tecido cartilaginoso e não o tornaram citotóxico de acordo com os ensaios *in vitro*.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho, considerado preliminar, foi de fundamental importância para compreender os aspectos envolvidos na preparação de um biomaterial a partir de cartilagem auricular bovina, por meio de tratamento químico alcalino. Neste sentido, foi possível aliar uma matéria prima de baixo custo com uma técnica de tratamento de tecidos animais que reduz a antigenicidade e permite a produção em larga escala.

Ressalte-se que os estudos preliminares são indicados pelas normas ISSO 10993, as quais fazem referências aos ensaios *in vitro* e são úteis para o direcionamento da pesquisa *in vivo*. Diante dos resultados produzidos nesta pesquisa, pretende-se a aplicação experimental em cobaias para verificar a biocompatibilidade e a biofuncionalidade.

8. REFERÊNCIAS

ALVARENGA, J. Possibilidades e limitações da utilização de membranas biológicas preservadas em cirurgia. In: DALECK, C. R. et al. **Tópicos em cirurgia de cães e gatos**. Jaboticabal: FUNEP-UNESP,1992. P. 33-42.

BERGER, J., REIST, M., MAYER, J.M., FELT, O., GURNY, R; **Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications**, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Vol. 57, p. 35-52, 2004.

BET, M.R. et al. Characterization of polyanionic collagen prepared by selective hydrolysis of asparagine and glutamine carboxyamide side chains. **Biomacromolecules,** v.2, p.074-1079, 2001.

BRACCIALLI, C. S. **Restauração da parede torácica de cães com cartilagem auricular de bovino conservada em glicerina.** 2002. 68 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jabuticabal da Universidade Estadual Paulista-UNESP, Jaboticabal, 2002.

CHANDY, T., SHARMA, C.P.; **Chitosan – as a biomaterial**, Biomaterials, artificial cells, and artificial organs, Vol. 18, p. 1-24, 1990.

COSTA NETO, J.M. **Tenoplastia experimental do calcâneo comum em cães com peritônio bovino conservado em glicerina a 98%**.1997.78f. Dissertação (Mestrado em Medicina

Veterinária), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal, UNESP, Jaboticabal.

DALECK, C.R.; NETO, J.M.C.; ALESSI, A.C.; VICENTI, F.A.M.; FANTINATTI, A.P.; FRANSISCO, M.M.S.; MARTINS, M.R. Reparação cirúrgica da *pars musculares* do diafragma por ligamento nucal xenólogo conservado em glicerina a 98%. Estudo experimental em cães (*canis familiaris* – Linnaeus – 11758). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, 4. 2000, Goiânia. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia: CBCAV/EV-UFG, v.1, suplemento, p.103, 2000. [resumos].

DODANE, V., VILIVALAM, V.D**; Pharmaceutical applications of chitosan, Pharmaceutical Science and Technology** Today, Vol. 1, n. 6, p. 246-253, 1998.

GOISSIS, G. et al. Surface tension controll of collagen biomaterials by the selective hydrolysis of internal carboxyamides of the protein matrix. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica,** v.15, p.55-61, 1999.

HENCH, L.L. et al. Biocompatibilidade, bioatividade e engenharia de tecidos. In: ORÉFICE, R.L. et al. **Biomateriais: Fundamentos e aplicações.** Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006. Cap.16. p.479-506.

KONEMAN, E. W.; ALLEM, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JR.,W. C. **Color atlas and textbook of diagnostic microbiology**. 5ed. Philadelphia: Lippincott Wilkins, 1997. 1395p.

MAZZANTI, A. **Músculo diafragma homólogo conservado em solução supersaturada de açúcar envolvido ou não com segmento omental para reparação do diafragma de cão.** 2000. 62f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Santa Maria.

MCT **Desenvolvimento da Nanociência e Nanotecnologia**. Capturado no URL:http//:www.mct.gov.br P.1 em 23/06/2010.

PIGOSSI, N. Implantação de dura-máter homógena conservada em glicerina. Estudo experimental em cães. Arquivos de Cirurgia e Clínica Experimental, São Paulo, n.27, p. 213-247,1964.

PRIVALOV, P.I.; TIKTOPULO, E. I. Thermal conformational transformatoin of tropocollagen. I. Calorimetric Study. **Biopolymers,** v.9, p.127-139, 1970.

RABELO, R. E. **Emprego do centro tendíneo diafragmático homológico conservado em glicerina a 98% e em glutaraldeído a 4% como implante para hernioplastias umbilicais recidivantes em bovinos.** 2003. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

RABELO, R. E.; GOMES, F.A.S.; SANT'ANA, F.J.F.; SILVA, L.A.F; LIMA, C.R.O.; GARCIA, E.C.; SILVA, M.AM. Reparação do tendão calcâneo comum em cães por meio de implante heterólogo conservado em glicerina a 98%. **Ciência Animal Brasileira**, suppl.1. Brasília, p. 205-207, 2006.

RANZANI, J.J.T., GANDOLFI, W., FRANCO, M. et al. Implante de pericárdio de equino em glicerina em solução de continuidade do diafragma de cão. **Brazilian Journal Veterninary Reserch Animal Science**, v.27, n. 01, p. 65-73,1990.

REZENDE, C. M.F.; SILVA, M.C.; LARANJEIRA, M.G.; BORGES, A.P.B. Estudo experimental do poliuretano de óleo de mamona (*Ricinus communis*) como substituto parcial do tendão calcâneo comum em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n.6, p. 695-700, 2001.

RICHA, R.V.R. Nuestra experiencia em glicerina em el tratamiento de las grandes hernias ventrales. **Revista Médica**, Panamá, v.19, n.2, p. 109-117, 1987.

SARTORI FILHO, R.; GANDOLFI, W.; BANDARR, E.P. Emprego de membrana biológica na reparação das lesões tendíneas em coelhos. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 9, p. 69-77,1997.

ROGERO, S.O.; LUGAO, A.B.; IKEDA, T.I.; CRUZ, A.S. **Teste in vitro de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias.** Mat. Res., v.6, n.3.pp.317-320, 2003.

SILVA, L. A. F.; AMARAL, A.V.C.; SILVA, O.C.; SILVA, E.D.; SOUZA, M.A.; FRANCO, L.G.; FERRAZ, H.T.; PASCOAL, L.M. ALCANTARA, A.S.; MENEZES, I.L.B.; SILVA, M.A.M.; GARCIA, A.M. Hernioplastia experimental em coelhos utilizando cartilagem auricular bovina conservada em glutaraldeído a 4%. **Ciência Animal Brasileira,** v.5 suppl., Goiânia, 94-96, 2004.

SILVA, L.A.F.; FIORAVANTI, M.C.S.; EURIDES, D.; JULIANO, R.S.; ACYPRESTE, C.S.; BORGES, G.T. Sobreposição com invaginação das aponeuroses dos músculos abdominais no reparo de hérnias umbilicais em bovinos. **Veterinária Noticias**, Uberlândia, v.5, n.1, p. 63-67,1999.

SLATTER, D. Manual de Cirurgia de Pequenos Animais, 2. ed. São Paulo: Manole.V.1, 1998. 1913p.

SOARES, G.A. et al. Biomateriais. **Fórum de biotecnologia e biomateriais, 2005**. Disponível: www.URL:http//www.anbio.org.br/pdf/2/tr10.biomateriais.pdf

STOPIGLIA, A.J.; ALVARENGA, J.; MORAIS BARROS, P.S.; GUERRA, J.L.; IWASAKI, M. Reparation chirurgical de la paroi thoracique du chein. **Le Point Vet**.; Paris, v. 18, n. 97, p. 239-243, 1986.

VULCANI, V.A.S.; MACORIS, D.G.; PLEPIS, A.M.G. Membranas biológicas homólogas preservadas em solução alcalina seguida de liofilização, glicerina a 98% e por liofilização para implantação em equinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.5, p.1329-1334, ago, 2008.

WENDLAND, W.W.M. **Thermal Analysis.** 3ed. New York, John Wiley, p1-86, 1986.

AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA DO SORO DE CAMUNDONGOS BALB/C INFECTADOS POR CISTICERCOS DE TAENIA CRASSICEPS, TRATADOS POR FÁRMACOS ANTI-HELMÍNTICOS.

Patrícia Fernandes Melo Alves[1], Vânia Beatriz Lopes Moura[2], Ruy de Souza Lino Junior[2], Marina Clare Vinaud[2].

[1]Faculdade de Medicina/UFG; [2]Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/UFG

Email: patricia.f.melo.alves@gmail.com

Palavras chaves: cisticercos, *Taenia crassiceps,* bioquímica, camundongos BALB/c.

1. INTRODUÇÃO

O parasito utilizado como modelo experimental para a cisticercose é a *Taenia crassiceps*, que apresenta como hospedeiro definitivo os canídeos, que tem como forma larval o *Cysticercus longicollis*, habitualmente encontrado em roedores que atuam como hospedeiro intermediário (FREEMAN, 1962; MAILLARD et al., 1998).

Os cisticercos multiplicam-se rapidamente por brotamento, o que facilita sua manutenção na cavidade peritoneal de camundongos sem o desenvolvimento de helmintos adultos, esclarecendo o uso dessa espécie como modelo experimental. A doença produzida pela *T. crassiceps* no homem assemelha-se à cisticercose humana, cujo agente etiológico é *T. solium*. Até mesmo os mecanismos de fuga da *T. crassiceps* à ação dos fármacos anti-helmínticos são similares aos do parasita rotineiramente humano (VINUAD, 2007; VINAUD et al. 2007), reforçando o benefício do uso da *T. crassiceps* como modelo experimental (VAZ et al., 1997).

Os fármacos anti-helmínticos que serão utilizados na pesquisa são o albendazol e o praziquantel. O albendazol atua impedindo a captação de glicose pelo parasito (PALOMARES et al., 2006). A ação anti-helmíntica do praziquantel consiste na paralisia do parasito, o que ocorre, provavelmente, por desequilíbrio da bomba de sódio e potássio e, conseqüente, intensificação da atividade muscular por aumento da concentração interna de cálcio (NOVAES et al., 1999).

Esse projeto possibilitará, portanto, analisar a interação parasito-hospedeiro em presença de fármacos anti-helmínticos através da análise bioquímica do soro dos camundongos BALB/c infectados intra-peritonealmente com cisticercos de *T. crassiceps.*

2. OBJETIVOS

Analisar as alterações bioquímicas como níveis de glicose, uréia, creatinina, transaminases hepáticas (AST e ALT), lactato desidrogenase, proteínas totais, albumina, cálcio e cloro no soro de camundongos BALB/c infectados com cisticercos de *T. crassiceps* e tratados com baixas doses de albendazol e praziquantel.

3. METODOLOGIA

A manutenção do ciclo biológico de *T. crassiceps* (cepa ORF) ocorreu no biotério do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP/UFG). O mesmo biotério foi utilizado como alojamento dos camundongos BALB/c dessa pesquisa, onde luminosidade e temperatura são controladas e a umidade e os ruídos são os do ambiente geral. Os animais receberam cuidados diários com água acidificada e ração padrão autoclavada à vontade adequada à espécie. Observaram-se todos os princípios éticos em experimentação animal preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (SBCAL/COBEA). Este projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da UFG, protocolo 008/09.

Através de seringas de 1 ml acopladas a agulhas de 25x8 foram inoculados, via intraperitonial, 10 cisticercos de *T. crassiceps*, em estádio inicial (VINAUD et al., 2008) nos camundongos BALB/c. Passados trinta dias de infecção, os camundongos foram tratados com baixas doses (2,5 e 5,0 mg/Kg) de praziquantel (MERCK®) e albendazol (VITAPAN®), sendo eutanasiados 24h após o tratamento.

Concluída a eutanásia, foi feita a punção cardíaca dos animais para a análise do soro (FERREIRA, 2006). A análise foi realizada no laboratório de bioquímica do Hospital Araújo Jorge utilizando o aparelho Cobas Mira, avaliando-se:

- Glicose (método enzimático pelo sistema da glicose oxidase);
- Uréia (método enzimático pelo sistema cinético de dois pontos);
- Creatinina (método enzimático Jaffe);
- Transaminases hepáticas – TGO/AST e TGP/ALT (método enzimático pelo sistema cinético);
- Lactato desidrogenase – LDH (método enzimático ultravioleta pelo sistema cinético);
- Proteínas totais (método do biureto modificado pelo sistema colorimétrico);

- Albumina (método do verde de bromocresol pelo sistema colorimétrico);
- Cálcio (método colorimétrico com solução de arsênico III);
- Cloro (método colorimétrico em meio ácido, na presença de mercúrio e nitrato férrico).

Os camundongos foram divididos em 10 grupos (de A a J), sendo 6 deles grupos controle (E, F, G, H, I e J): um com camundongos infectados e não tratados; outro com camundongos não infectados e não tratados; e os demais com camundongos tratados e não infectados. Foi feito um ciclo de repetição para cada grupo, sendo utilizados, pelo menos, 10 camundongos por grupo. As doses administradas aos animais foram baseadas nas recomendadas pelos fabricantes.

Os grupos foram organizados e identificados da seguinte forma:

Grupo A: 5 camundongos infectados e tratados com dose única de 5 mg/Kg de praziquantel.

Grupo B: 5 camundongos infectados e tratados com dose única de 2,5 mg/Kg de praziquantel.

Grupo C: 5 camundongos infectados e tratados com dose única de 5 mg/Kg de albendazol.

Grupo D: 5 camundongos infectados e tratados com dose única de 2,5 mg/Kg de albendazol.

Grupo E: 5 camundongos infectados e não tratados.

Grupo F: 5 camundongos não infectados e não tratados.

Grupo G: 5 camundongos não infectados e tratados com dose única de 2,5mg/Kg de albendazol.

Grupo H: 5 camundongos não infectados e tratados com dose única de 5mg/Kg de albendazol.

Grupo I: 5 camundongos não infectados e tratados com dose única de 2,5mg/Kg de praziquantel.

Grupo J: 5 camundongos não infectados e tratados com dose única de 5mg/Kg de praziquantel.

Os dados coletados na análise bioquímica foram analisados estatisticamente através do programa Sigma Stat 2.3. Foram testadas todas as variáveis quanto à distribuição normal e à variância homogênea. Foram usados testes paramétricos, quando a distribuição foi considerada normal e com variância homogênea. Nos casos em que a distribuição não foi

normal ou que a variância não foi homogênea, foram utilizados testes não-paramétricos. As diferenças observadas foram consideradas significantes quando $p < 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da metodologia proposta, foi possível causar cisticercose nos camundongos e dessa forma pode-se prosseguir o experimento fazendo a punção cardíaca para realizar a análise bioquímica dos soros dos diversos grupos propostos.

Os resultados analíticos encontrados estão resumidos e demonstrados nas tabelas 1 e 2, mostrando o valor mediano de cada item analisado para cada grupo e o desvio padrão.

Os resultados encontrados são pertinentes, sendo que as diferenças observadas podem ser atribuídas a vários fatores: local de coleta, prévia de jejum ou não, tipo de metodologia aplicada, linhagem estudada, tipo de alimentação, estado ambiental, estresse, dentre outros, mesmo quando a unidade utilizada na análise for a mesma (SPINELLI et al., 2012).

Ao longo do trabalho, algumas amostras de soro apresentaram alteração de coloração ficando levemente avermelhadas, o que sugeria a ocorrência de hemólise. A hemólise pode ser responsável por alteração nos resultados bioquímicos, em especial, nos valores de TGO, TGP e LDH (MAZZACCARA et al., 2008; MELO et al., 2012). Dessa forma, foi realizada dosagem de hemoglobina em algumas amostras de soros selecionadas aleatoriamente para afastar uma possível interferência da hemoglobina na análise bioquímica. Em nenhuma das amostras analisadas foi encontrada hemoglobina suficiente para alterar os resultados bioquímicos, o que nos respaldou a usar todos os resultados bioquímicos das amostras colhidas. A dosagem de hemoglobina foi realizada no laboratório de bioquímica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC/UFG) utilizando-se o aparelho Pentra 120ABX.

Diante da análise estatística dos resultados dos testes bioquímicos, apenas a albumina e uréia não apresentaram alterações entre os grupos, o que a princípio revela que nem a parasitose nem o tratamento anti-helmíntico influenciam em suas concentrações no sangue dos animais. Porém, os demais itens avaliados apresentaram alteração estatística o que evidencia a influência da parasitose ou do medicamento nas funções hepáticas, renais e na concentração sérica de cloro, cálcio e glicose.

4.1 GLICOSE

A partir da análise dos resultados, pudemos perceber que a infecção diminui a glicemia no hospedeiro.

Ao compararmos estatisticamente o grupo infectado e não tratado (grupo E) e o grupo não infectado e não tratado (grupo F) não se observou diferença significativa nos valores de glicemia. Entretanto, observamos uma diferença significante no valor de glicemia entre os grupos dos animais tratados e infectados e os grupos controle, sendo marcante a menor concentração de glicose no soro dos animais com parasitose.

Portanto, percebemos que o parasito quando inoculado intraperitonealmente é capaz de induzir hipoglicemia no hospedeiro, devido a sua grande necessidade energética.

O fármaco causa hipoglicemia no parasito uma vez que bloqueia o uso de glicose pelo parasito (PALOMARES, 2006). Fato esse que justifica uma glicemia maior nos camundongos infectados e tratados, se comparados aos grupos de animais infectados e não tratados.

4.2 URÉIA

De acordo com os resultados colhidos, não houve alteração significativa nos valores de uréia na comparação estatística entre os diferentes grupos.

A uréia é utilizada nos testes bioquímicos para avaliar a função renal, servindo como um importante índice preditivo de insuficiência renal ao lado da creatinina (BAYNES e DOMINICZAK, 2011). A ausência de alteração não constrói uma informação concreta (MOTTA, 2003), sendo necessário avaliar os resultados de creatinina para se afirmar se a função renal esteve preservada durante o experimento, não sofrendo influência do medicamento ou da infecção.

4.3 CREATININA

A creatinina sérica é um excelente parâmetro para avaliar a função renal, pois não sofre influência da dieta, idade, sexo ou exercício, tornando-se mais segura que a dosagem de uréia no soro (LOPES, 2006; MOTTA, 2003).

Além disso, os teores de creatinina sérica são mais sensíveis e específicos do que a medida da concentração a uréia plasmática no estudo da velocidade de filtração glomerular reduzida (BAYNES, 2011; LOPES, 2006).

Os resultados obtidos apontaram que houve diferença estatística entre o grupo (J) não infectado e tratado com praziquantel em dose maior, 5mg/kg, e os grupos de camundongos tratados com o mesmo anti-helmíntico em dose menor, 2,5mg/kg, ou com albendazol em ambas concentrações, sejam eles animais infectados ou não.

Dessa forma, podemos afirmar que o fármaco praziquantel interfere na função renal, sendo essa interferência dose dependente.

Observando os valores dos grupos tratados e infectados e dos grupos tratados e não infectados podemos perceber que a creatinina é maior nesses últimos, o que chama a atenção para a probabilidade da infecção agir como fator de proteção para os rins. O fármaco age sobre o parasito paralisando-o, o que ocorre, provavelmente, por desequilíbrio da bomba de sódio e potássio e intensificação da atividade muscular (NOVAES et al., 1999). Assim, como os animais estão infectados a atuação do praziquantel nos rins deve ser menor evitando uma maior alteração da função renal.

Tabela 1: Resultado da avaliação bioquímica do soro de camundongos BALB/c infectados por cisticercos de *Taenia crassiceps*, tratados ou não por fármacos anti-helmínticas.

GRUPOS	A	B	C	D	E
ESPECIFICAÇÕES	Camundongos Infectados e Tratados				Camundongo Infectado e Não Tratado
	Praziquantel 5mg/kg	Praziquantel 2,5mg/kg	Albendazol 5mg/kg	Albendazol 2,5mg/kg	
GLICOSE	193,05 ± 11,93*	153,60 ± 20,14*	137,95 ± 17,23*	159,30 ± 12,93*	196,90 ± 22,47
URÉIA	54,87 ± 4,97*	54,30 ± 6,62*	40,83 ± 6,37*	41,37 ± 8,38*	55,20 ± 4,02
CREATININA	0,36 ± 0,03	0,33 ±0,07	0,36 ± 0,05	0,35 ± 0,05	0,43 ± 0,06
TGO	460,71 ± 252,44*	378,67 ± 191,86	108,33 ± 73,934*	519,00 ± 123,53*	389,6 ± 183,849
TGP	166,75 ± 82,33*	95,00 ± 42,11*	384,60 ± 160,33*	161,12 ± 28,64*	98,60 ± 51,15*
LHD	3345,00 ± 1144,88*	5925,00 ± 1047,32*	6623,33 ± 709,10*	7173,75 ± 1205,31*	6396,00 ± 817,02*
ALBUMINA	2,38 ± 012	2,46 ± 0,18	2,53 ± 0,10	2,60 ± 0,19	2,11 ± 0,24
PROTEÍNAS TOTAIS	4,67 ± 0,25*	5,92 ± 0,50*	3,47 ± 0,36*	5,10 ± 1,66*	4,67 ± 0,45
CLORO	104,75 ± 1,91*	111,00 ± 12,33	100,00 ± 2,37*	110,75 ± 2,31	123,00 ± 6,59*
CÁLCIO	7,14 ± 0,47*	8,35 ± 1,54*	7,30 ± 0,41*	8,39 ± 0,79*	8,87 ± 0,79*

* p<0,05. A. camundongos infectados e tratados com praziquantel 5mg/kg; B. camundongos infectados e tratados com praziquantel 2,5mg/kg; C. camundongos infectados e tratados com albendazol 5mg/kg; D. camundongos infectados e tratados com albendazol 2,5mg/kg; E. camundongos infectados e não tratados; F. camundongos não infectados e não tratados; G. camundongos não infectados e tratados com albendazol 2,5mg/kg; H. camundongos não infectados e tratados com albendazol 5mg/kg; I. camundongos não infectados e tratados com praziquantel 2,5mg/kg; J. camundongos não infectados e tratados com praziquantel 5mg/kg.

4.4 ALBUMINA

Uma importante proteína presente no plasma sintetizada pelo fígado e que exerce funções essenciais: efeito osmótico, evitando o edema tissular; transporte e armazenamento de compostos apolares (LOPES, 2006; MOTTA, 2003; NELSON e COX, 2006).

Os resultados não revelaram alteração significativa na comparação dos grupos. Porém, observando pontualmente esses resultados, não há como excluir interferente medicamentoso ou infeccioso na função hepática. Devemos avaliar os demais parâmetros bioquímicos utilizados na pesquisa.

Tabela 2: Resultado da avaliação bioquímica do soro de camundongos BALB/c não infectados por cisticercos de *Taenia crassiceps*, tratados ou não por fármacos anti-helmínticas.

GRUPOS	F	G	H	I	J
ESPECIFICAÇÕES	Camundongo Não Infectado e Não Tratado	Camundongos Não Infectados e Tratados			
		Albendazol 2,5mg/kg	Albendazol 5mg/kg	Praziquantel 2,5mg/kg	Praziquantel 5mg/kg
GLICOSE	252,60 ± 34,24	143,25 ± 28,09*	187,80 ± 42,06*	211,08 ± 69,13*	191,37 ± 55,36*
URÉIA	53,40 ± 2,07	54,67 ± 5,50	48,19 ± 16,01	47,42 ± 16,50	95,42 ± 113,99
CREATININA	0,49 ± 0,06	0,54 ± 0,29	0,38 ± 0,25*	0,42 ± 0,39*	0,95 ± 0,39*
TGO	224,60 ± 122,37	92,4 ± 16,27*	415,37 ± 223,92*	249 ± 151,44	270,63 ± 114,37
TGP	87,20 ± 46,54*	28,20 ± 6,76*	103,37 ± 66,44*	82,90 ± 31,58*	95,22 ± 30,61*
LHD	715,20 ± 214,82*	801,80 ± 71,16*	1548,79 ± 592,40*	1676,00 ± 728,93*	1230,67 ± 777,24*
ALBUMINA	2,92 ± 0,94	2,28 ± 0,22	2,60 ± 0,38	2,57 ± 0,32	2,75 ± 0,27
PROTEÍNAS TOTAIS	4,84 ± 0,51*	5,01 ± 0,30*	4,76 ± 0,71*	5,417 ± 0,56*	5,08 ± 0,50*
CLORO	104,40 ± 4,16*	112,20 ± 10,26	105,94 ± 5,88*	103,82 ± 4,09*	104,23 ± 7,35*
CÁLCIO	11,42 ± 1,73*	8,58 ± 1,24*	7,52 ± 0,71*	7,53 ± 0,71*	7,44 ± 0,62*

*p<0,05. A. camundongos infectados e tratados com praziquantel 5mg/kg; B. camundongos infectados e tratados com praziquantel 2,5mg/kg; C. camundongos infectados e tratados com albendazol 5mg/kg; D. camundongos infectados e tratados com albendazol 2,5mg/kg; E. camundongos infectados e não tratados; F. camundongos não infectados e não tratados; G. camundongos não infectados e tratados com albendazol 2,5mg/kg; H. camundongos não infectados e tratados com albendazol 5mg/kg; I. camundongos não

infectados e tratados com praziquantel 2,5mg/kg; J. camundongos não infectados e tratados com praziquantel 5mg/kg.

4.5 TRANSAMINASE GLUTÂMICO OXALACÉTICA (TGO); TRANSAMINASE GLUTÂMICO PIRÚVICA (TGP); LACTATO DESIDROGENASE (LDH); PROTEÍNAS TOTAIS

Esses testes bioquímicos são responsáveis por avaliar a função hepática, ao lado de outros não utilizados nessa pesquisa e a albumina, que apesar de dosada em todas as amostras não mostrou alteração significativa. Dessa forma, vamos discutir os resultados dessas enzimas de forma conjunta.

O fígado apresenta centenas de funções, sendo o principal órgão com atividade sintética. Por isso, diferentes testes são utilizados para reconhecer a disfunção hepática, dentre eles, os verificados nesse projeto são os mais empregados rotineiramente (MINCIS, 2006; MOTTA, 2003).

Com base nos resultados colhidos, foi observado que a infecção e o tratamento com albendazol interferem no valor de TGO aumentando-o, sendo que a interferência do anti-helmíntico é dose dependente. As transaminases são enzimas intracelulares presentes em grandes quantidades no citoplasma dos hepatócitos, sendo que a TGP é encontrada predominantemente no citoplasma e a TGO nas mitocôndrias. Portanto, lesões ou destruição leve das células hepáticas levam à predominância da enzima citoplasmática e em lesões graves a forma mitocondrial (MINCIS, 2006).

Em relação à outra transaminase, TGP, os dados obtidos mostraram também uma interferência significativa e dose dependente do albendazol. Isso reforça o alcance maléfico desse anti-helmíntico nas células hepáticas quando administrado em doses maiores.

Continuando a análise das outras enzimas, percebemos que em relação à LDH tanto a infecção quanto ambos anti-helmínticos influenciam nos valores dessa enzima da classe oxirredutase (LOPES, 2006; MOTTA, 2003). E esses fatores se somam, mostrando que há diferença estatística entre os grupos que foram infectados e tratados e os grupos apenas tratados.

A LDH é um enzima que catalisa a oxidação reversível do lactato a piruvato estando presente no citoplasma de todas as células do organismo, principalmente miocárdio, fígado, músculo esquelético, rim e eritrócitos. Os níveis teciduais de LDH são, aproximadamente, 500 vezes maiores do que os encontrados no soro e lesões nesses tecidos provocam elevações plasmáticas significativas desta enzima (MOTTA, 2003). Sendo assim, o fato do sangue ser

colhido por punção cardíaca pode superestimar a elevação dos valores de LHD, porém não elimina a influência dos fármacos e da cisticercose nos resultados.

Outro teste bioquímico utilizado capaz de avaliar se houve degradação da função hepática é a dosagem de proteínas totais.

As funções das proteínas plasmáticas incluem transporte, manutenção da pressão oncótica, tamponamento de alterações do pH, imunidade humoral, atividade enzimática, coagulação e resposta de fase aguda. Podendo alterar sua concentração plasmática por três principais fatores: velocidade de síntese, velocidade do catabolismo e o volume de líquido no qual as proteínas estão distribuídas (MINCIS, 2006; MOTTA, 2003).

Nas amostras verificadas, houve diferença significativa mostrando que o grupo que apresentava cisticercose e foi tratado com albendazol 5mg/kg apresentou menor quantidade de proteínas no sangue. Podemos afirmar que está havendo um distúrbio de síntese protéica, sendo uma das causas de redução da síntese a insuficiência hepatocelular (MINCIS, 2006; MOTTA, 2003).

4.6 CLORO

Os cloretos, ânions mais abundantes do líquido extracelular, desempenham, ao lado do sódio, importante papel na manutenção da distribuição de água no organismo, da pressão osmótica do plasma e na neutralidade elétrica celular (BAYNES, 2011; MOTTA, 2003; NELSON e COX, 2006).

Os resultados obtidos revelam que a infecção aumentou o cloro sérico. Porém, não foi observada essa alteração nos camundongos infectados e que receberam tratamento, não diferindo dos resultados dos grupos que não foram parasitados. Assim, podemos entender que os fármacos provavelmente protegem o organismo do hospedeiro desse desequilíbrio iônico.

Com relação aos anti-helmínticos, o praziquantel tem como mecanismo de atuação a desregulação dos mecanismos que regulam o fluxo de cátions (Na^+/K^+) nas membranas celulares, causando uma diminuição do sódio sérico através do estimulo a sua entrada nas células dos vermes levando a um aumento do tônus muscular do parasito por consequente aumento do cálcio no interior do helminto (NOVAES et al, 1999). Sabe-se que a hipercloremia está, na maioria das vezes, correlacionada a hipernatremia (MOTTA, 2003). Portanto, o tratamento confere controle do aumento de sódio sérico e, consequentemente, um controle da hipercloremia equiparando os valores aos dos animais que não sofreram inoculação do cisticerco.

4.7 CÁLCIO

O cálcio é um mineral presente no esqueleto, em tecidos moles e no líquido extracelular. Tem diferentes funções fisiológicas, sendo que o cálcio intracelular é responsável, dentre outras coisas, pela condução neuromuscular, manutenção do tônus normal e na condução e relaxamento do músculo esquelético e cardíaco (BAYNES e DOMINICZAK, 2011; MOTTA, 2003; NELSON e COX, 2006).

O nível de cálcio no líquido extracelular e a integridade do conteúdo de minerais ósseos são mantidos homeostaticamente pelo longo período de ingestão variável de cálcio, através de um equilíbrio eficaz entre a formação e destruição óssea e a absorção e excreção do cálcio (LOPES, 2006; MOTTA, 2003).

Nesse estudo realizado foi utilizada a dosagem de cálcio no soro revelando que o cisticerco de *T. crassiceps* consome cálcio e o tratamento anti-helmíntico também é capaz de diminuir os níveis de cálcio no sangue. Ambas as afirmações são embasadas estatisticamente.

A hipocalcemia pode ser assintomática, porém pode ocasionar distúrbios musculares como tetania, hipotensão e convulsões (BAYNES e DOMINICZAK, 2011). É importante observar, então, que a parasitose pode gerar manifestações clínicas mais sérias.

5. CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia proposta foi possível fazer uma avaliação das alterações bioquímicas das funções hepática, renal, glicemia, cloro e cálcio causadas pela presença do cisticerco de *T. crassiceps* na cavidade intraperitoneal de camundongos BALB/c e pelo tratamento anti-helmintico com baixas doses de albendazol e praziquantel.

Diante dos resultados apresentados, conclui-se que o albendazol interfere na função hepática, sendo, portanto, um anti-helmíntico com grande probabilidade de ser hepatotóxico. Porém, devemos reforçar essa suspeita com novas pesquisas embasadas com mais amostras e dosagem de outras enzimas para análise mais criteriosa da função hepática.

A função renal também se mostrou alterada com o uso da dose maior do praziquantel. Portanto, deve-se ter cautela com o uso dos anti-helmínticos para evitar superposição de agravos à saúde. Sendo importante fazer novas pesquisas, inclusive com avaliações urinárias, para esclarecer a ação do fármaco na piora da função renal.

Esse trabalho também mostrou a interferência da parasitose no metabolismo dos minerais e dos carboidratos e no equilíbrio iônico; revelando que o cisticerco consome cálcio, aumenta os níveis plasmáticos de cloretos e, o mais relevante, é capaz de induzir hipoglicemia no hospedeiro devido a intensa necessidade energética do cisticerco inoculado

intraperitonialmente. Sendo assim, é preciso intensificar as investigações a fim de contribuir com o cenário da relação parasito-hospedeiro.

Portanto, percebe-se que o cisticerco tem atuação sistêmica no organismo do hospedeiro e que os fármacos, apesar de curarem a parasitose, devem apresentar uso monitorado devido a efeitos colaterais capazes de agravar o quadro clínico.

6. REFERÊNCIAS

1. ANDRIOLO, A.; ROCHA, M. H. Características e interpretação dos resultados dos exames laboratoriais. In: ANDRIOLO, A.; CARRAZA, F. R. **Diagnóstico laboratorial em pediatria.** 2 ed. São Paulo: Sarvier, 2007. Cap. 1; p. 3-13.

2. BAYNES, J. W.; DOMINICZAK, M. H. **Bioquímica médica.** 3ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

3. FERREIRA, C. S. **Análise bioquímica e equilíbrio ácido-base em *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), hospedeiro intermediário do *Shistosoma mansoni* (Sambon, 1907), sob a exposição ao *Stryphnodendron polyphyllum* (Martius, 1837), planta moluscocida do Cerrado Brasileiro.** Dissertação de mestrado defendida no Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical – IPTSP/UFG. 2006.

4. FREEMAN, R. S. Studies on the biology of *Taenia crassiceps* (Zeder 1800) Rudolphi, 1810 (Cestoda). **Can J Zool**, v.40, p. 969-990. 1962.

5. LOPES, A. C. (Coord.). **Diagnostico e tratamento.** 1ed. São Paulo: Manole, 2006. v. 3.

6. MAILLARD, H.; MARIONNEAU, J.; PROPHETTE, B.; BOYER, E.; CELERIER, P. *Taenia crassiceps* cysticerci and AIDS. **AIDS**, v.12, p. 1551-1552. 1998.

7. MAZZACCARA, C. et al. Age-related reference intervals of the main biochemical and hematological parameters in C57BL/6J, 129SV/EV, and C3H/HeJ mouse strains. **PLoS ONE**, v.3, n. 11, p.e3772. nov. 2008.

8. MELO, M. G. D. et al. Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (Rattus novergicus linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. **Scientia Plena**, Sergipe, v. 8, n.4, p.1-6, abr. 2012.

9. MERCK®. www.merck.com.br. Acessado em 09/03/2011.

10. MINCIS, M.; MINCIS. R. Enzima Hepáticas: aspectos de interesse prático. **Revista Brasileira de Medicina**, Rio de Janeiro, v. 63, n. 1, p.56-60, jan. 2006.

11. MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o Laboratório:** Princípios e Interpretações. 4ªed. Porto Alegre: Editora Médica Missau; São Paulo: Robe editorial, EDUCS – Caxias do Sul, 2003.

12. NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger - Princípios de bioquímica.** 4ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

13. NOVAES, M. R. C. G.; SOUZA, J. P.; ARAÚJO, H. C. Síntese do anti-helmíntico praziquantel, a partir da glicina. **Quim Nova**, v. 22, n. 1, p. 5-10. 1999.

14. PALOMARES, F.; PALENCIA, G.; AMBROSIO, J. R.; ORTIZ, A.; COOK, H. J. Evaluation of the efficacy of albendazole sulphoxide and praziquantel in comination on *Taenia crassiceps*: in vitro studies. **J Antimicrob Chemother,** v.57, p. 482-488. 2006.

15. SPINELLI, M. O. et al. Comparação dos parâmetros bioquímicos de camundongos criados em diferentes condições sanitárias. **Scientia Plena**, Sergipe, v. 8, n.1, p.1-8. 2012

16. VAZ, A. J.; NUMES, C. M.; PIAZZA, R. M.; LIVRAMENTO, J. A.; DA SILVA M. V.; NAKAMURA, P. M. Immunoblot whith cerebrospinal fluid form patients with neurocysticercosis using antigen from cysticerci of *Taenia solium* and *Taenia crassiceps*. **Am J Trop Med Hyg**, v. 57, p. 354-357. 1997.

17. VINAUD, M. C. **Vias do Metabolismo energético e respiratório em cisticercos de *Taenia crassiceps in vivo* e seu estudo *in vitro* sob ação de fármacos anti-helmínticos**. Tese de doutorado defendida no Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical – IPTSP/UFG. 2007.

18. VINAUD, M. C.; FERREIRA, C. S.; LINO JUNIOR, R. S.; BEZERRA, J. C. *Taenia crassiceps*: Energetic and respiratory metabolism from cysticerci exposed to praziquantel and albendazole *in vitro*. **Exp Parasitol**, v. 120, p. 221-226. 2008.

19. VINAUD, M. C.; LINO JUNIOR, R. S.; BEZERRA, J. C. *Taenia crassiceps* organic acids detect in cysticerci. **Exp Parasitol**, v.116, p. 335-339. 2007.

20. VITAPAN®. www.vitapan.com.br. Acessado em 09/03/2011.

21. WALLACH, J. **Interpretação de Exames Laboratoriais**. 7ª.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2000.

DETECÇÃO COLORIMÉTRICA DE PROTEÍNAS E GLICOSE EM MICRODISPOSITIVOS DE POLIÉSTER-TONER

Paula Beatriz Medrado e Silva[*,†], **Karoliny Almeida Oliveira e Wendell Karlos Tomazelli Coltro**[‡]

Grupo de Métodos Eletroforéticos, Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás

*E-mail: paulabmedrado31@gmail.com

Palavras-chave: diagnósticos clínicos, detecção colorimétrica, microplacas descartáveis.

Resumo

O presente trabalho descreve a utilização de dispositivos analíticos descartáveis para o desenvolvimento de ensaios para diagnósticos clínicos. Os dispositivos foram fabricados a partir da tecnologia de impressão direta sobre um filme de poliéster. A detecção colorimétrica dos ensaios para glicose e proteínas foi conduzida através de um scanner. O limite de detecção obtido para glicose foi de 1,2 mM e para proteínas foi de 1,4 µM. Os valores encontrados para análise quantitativa de glicose dos soros N e P foram iguais a 4,3 ± 0,5 e 14,3 ± 1,2 mM, respectivamente.

INTRODUÇÃO

Em 1990, Manz, Graber e Widmer propuseram o conceito de microssistemas para análises totais - µTAS (do inglês, *micro total chemical analysis system*), que tornou possível a integração de várias etapas analíticas em um chip. Os dispositivos microfluídicos apresentam características interessantes como a redução do consumo de reagentes, curto tempo de análise e baixos custos [2], além de ser descartável e portátil [3,4], o que facilita seu desenvolvimento e aplicação.

Os primeiros dispositivos, fabricados em materiais como vidro e quartzo [3], dependem de tecnologias de alto custo, como a fotolitografia [2]. Com isso, a tecnologia de impressão direta, tem se destacado por vários fatores, dentre eles, o baixo custo, o uso de instrumentação simples e rápida [2], além de descartar o uso de equipamentos externos para a manipulação do fluido [5]. E vem sendo amplamente utilizada na fabricação de dispositivos analíticos em plataformas descartáveis constituídas de poliéster-toner (PT) [6].

---

† Bolsista
‡ Orientador
Revisado pelo Orientador

Em regiões de baixos recursos financeiros a necessidade de equipamentos especializados, clínicos treinados, e equipe de funcionários em laboratórios locais impossibilita testes e monitoramento de doenças [7]. Com isso, o diagnóstico da doença em pacientes residentes nessas áreas é baseado principalmente nos sintomas, que podem aparecer em alguns casos, só após danos irreparáveis [7]. Microdispositivos descartáveis vêm sendo desenvolvidos e apresentam um custo tão baixo que os tornam muito viáveis para serem utilizados em laboratórios ou clínicas com recursos limitados [8].

Os microdispositivos podem ser empregados em pesquisas e acompanhamentos clínicos em áreas de difícil acesso, situações de emergência, campos militares e assistência médica em casa [6]. Requerendo apenas um centro de análise, para o qual as imagens possam ser enviadas e analisadas, em tempo real, preferencialmente [9]. Diagnósticos *point-of-care* (POC) em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, também utilizam desses microdispositivos para análises devido aos recursos financeiros limitados ou excassos [5]. Um das principais vantagens é o tempo de preparo dos dispositivos, inferior a 2 minutos, não requerendo pessoas qualificadas para a realização. Além disso, para a leitura dos resultados torna-se necessário o uso de apenas um dispositivo móvel, como um celular ou *scanner* portátil.

Várias etapas analíticas puderam ser integradas em um único chip, a partir do desenvolvimento dos μTAS, como o pré-tratamento da amostra, reações químicas, separações analíticas e detecção. [10] As reações enzimáticas também participam das etapas analíticas do método e são catalisadas por enzimas que atuam reduzindo a energia de ativação da reação, e aumentando, consequentemente, a sua velocidade. Enzimas têm sido utilizadas em uma variedade de ensaios analíticos devido a sua alta especificidade. Os dispositivos *lab-on-a-chip* (LOC) são sistemas miniaturizados nos quais o emprego de enzimas, como a glicose oxidase tem sido muito empregado. Ensaios de glicose servem como modelo para outros ensaios por serem bem caracterizados, baratos, estáveis e aplicáveis com praticidade [11].

A cinética enzimática analisa quantitativamente todos os efeitos provocados pelos diversos fatores que alteram a velocidade da reação, tais como o pH, temperatura, concentração do substrato e/ou da enzima. A existência do complexo enzima-substrato foi inicialmente proposta por Adolphe Wurtz em 1880. Este complexo é o ponto inicial para os tratamentos matemáticos que definirão a cinética enzimática, bem como seus mecanismos [12].

Os catalisadores aumentam a velocidade da reação enzimática, sem afetar o seu equilíbrio, sendo eliminados inalterados ao final da reação. Em 1913, a teoria geral da ação das enzimas foi ampliada por Leonor Michaelis e Maud Menten. Eles postularam que a

combinação inicial entre o substrato e a enzima (complexo) é reversível e relativamente rápida. Entretanto, após a dissociação da enzima do produto, etapa subsequente à reação catalisada, é irreversível e mais lenta, determinando-a como a etapa limitante da reação enzimática [12].

O substrato é o principal determinante da velocidade da reação. Ao passo que, à medida que a concentração do substrato aumenta, maior é a formação do complexo enzima-substrato. A relação obtida pela concentração do substrato *versus* velocidade da reação foi proposta algebricamente por Michaelis-Menten, como pode ser observado na equação 1. Na qual, V_0 é a velocidade inicial, $V_{máx}$ é a velocidade máxima, [S] é a concentração do substrato e K_m é a constante de Michaelis-Menten.

$$V_0 = \frac{V_{máx} \cdot [S]}{K_m + [S]} \qquad \textbf{(Equação 1)}$$

O valor de K_m determina a afinidade da enzima pelo substrato, ou seja, quanto menor o seu valor, maior é a afinidade, pois, em baixas concentrações do substrato atingirar-se-á máxima eficiência catalítica.

OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho visa a fabricação de microdispositivos analíticos alternativos a partir da tecnologia de impressão direta para a realização de bioensaios usando a detecção colorimétrica. O trabalho apresenta o estudo da cinética enzimática da glicose oxidase a partir do ensaio colorimétrico de glicose em dispositivos microfluídicos. Também foi realizado determinação de glicose nas amostras artificiais de soro em dois níveis diferentes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Fabricação das microplacas impressas

As microplacas impressas foram desenhadas no *software* Corel Draw 13.0 e impressas em uma folha de poliéster por uma impressora laser com 1200 ppp (modelo LaserJet 1102w, Hewlett Packard). A microplaca foi projetada em 36 zonas distribuídas em 6 colunas e 6 linhas, conforme apresentado na Figura 1. As zonas da microplaca impressa são delimitadas pela deposição da camada de toner sobre todo o filme de poliéster.

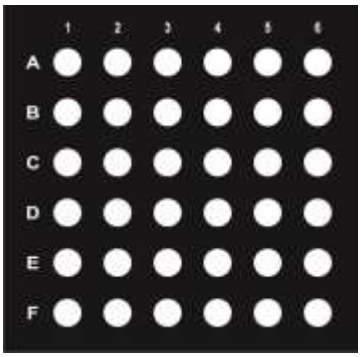


Figura 1: Configuração de uma microplaca impressa, com 36 zonas de diâmetro de 5 mm, cada zona.

Fabricação dos dispositivos microfluídicos em PT com canais integrados

O desenho dos dispositivos microfluídicos com canais integrados foi desenvolvido no programa gráfico Corel Draw versão 13.0 e impresso em uma folha de transparência com auxílio de uma impressora laser com 1200 ppp (modelo LaserJet 1102w, Hewlett Packard).

Este dispositivo consiste em três camadas de poliéster, no qual a camada intermediária foi utilizada a fim de aumentar a profundidade do canal para uma melhor distribuição da amostra por ação capilar. O corte da camada intermediária inserida no dispositivo foi realizado com o auxílio de uma máquina de corte a laser de CO_2 em uma empresa especializada (Ordones Laser Ltda, Goiânia, GO, Brasil). Posteriormente a esta etapa, procedeu-se a laminação a 150 ºC, sob uma velocidade de 50 cm/min do dispositivo.

A configuração do dispositivo utilizado (40 mm × 40 mm) consiste em oito zonas de teste interligadas por canais microfluídicos. Estes canais foram desenhados com 10 mm de comprimento da zona central a zona de detecção com 1 mm de largura (Figura 2). A camada intermediária de poliéster associada às camadas de toner delimitam a profundidade do canal em aproximadamente de 110 µm.

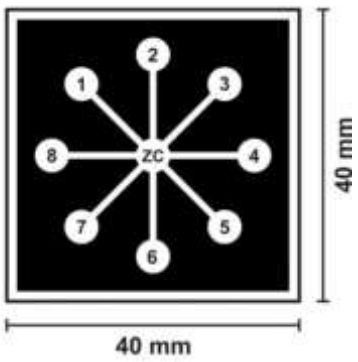


Figura 2: Configuração do dispositivo microfluídico com canais microfluídicos interligando a zona central (ZC) às zonas de detecção (1 a 8).

Ensaios colorimétricos para proteínas

O ensaio de proteínas foi realizado em microplacas impressas. As zonas foram previamente preparadas pela adição de 15 µL da pasta de celulose, 10 µL de uma solução de ácido cítrico (pH 1,8) e 10 µL de uma solução 3 mM de azul de tetrabromofenol (TBPB). A pasta de celulose foi preparada pela adição de 1 g de celulose em pó a 4 mL de água destilada e, foi adicionada às zonas de detecção com o auxílio de uma pipeta a fim de confinar os reagentes nas zonas de detecção. Logo após a secagem dos reagentes, alíquotas de 10 µL de amostras padrão de proteínas foram adicionadas nas zonas.

Ensaios colorimétricos para glicose

Os ensaios colorimétricos para glicose foram realizados no dispositivo microfluídico integrado. As zonas de detecção foram preenchidas com 10 µL da pasta de celulose, preparada conforme descrito no item anterior. Após a secagem da pasta de celulose, as zonas de detecção (enumeradas de 4 a 8) foram preparadas pela adição de 8 µL da solução de iodeto de potássio (0,6 M), seguido pela adição de 10 µL de uma mistura contendo glicose oxidase:peroxidase (5:1), preparada em tampão fosfato 100 mM (pH 6). Em seguida, as zonas foram mantidas à temperatura ambiente durante 20 minutos para promover a secagem dos reagentes. As zonas restantes (1 a 3) foram destinadas ao branco da reação, na qual, apenas o iodeto de potássio foi adicionado. Na zona central, uma alíquota de 60 µL do substrato foi adicionada. Esta percorreu os canais integrados e atingiu as zonas de detecção por capilaridade.

Estudo da Cinética da Reação Enzimática

O estudo da cinética enzimática foi realizado após a preparação do dispositivo microfluídico para o ensaio de glicose, a reação foi monitorada durante 30 minutos com o auxílio de um *scanner* de bancada. As imagens capturadas foram analisadas no programa Corel PhotoPaint de acordo com a intensidade de cor.

Análise quantitativa de glicose em amostras de soro

Para a validação dos ensaios clínicos, duas amostras artificiais de soros humano (níveis N e P) foram utilizadas. Os soros controle foram diluídos em água e uma alíquota de 60 µL foi adicionada à zona central do dispositivo para a análise quantitativa. A concentração do soro foi calculada através da curva analítica obtida, previamente avaliada na faixa de concentração entre 0 e 10 mM. Para a avaliação da exatidão do método proposto no ensaio de

glicose, também foi realizado o ensaio de recuperação em quatro níveis de concentração (2, 3, 4 e 5 mM) com cinco determinações para as duas amostras de soro artificiais.

Avaliação da Robustez dos Dispositivos

A robustez dos dispositivos microfluídicos integrados foi investigada ao longo de quatro semanas consecutivas, nas quais a reprodutibilidade foi o parâmetro analítico avaliado. Em cada semana, o ensaio de glicose foi desenvolvido em três níveis de concentração (2, 5 e 10 mM), em três dispositivos microfluídicos diferentes. Os resultados obtidos foram analisados no programa Corel PhotoPaint e comparados pelo teste de ANOVA.

Detecção colorimétrica

A detecção colorimétrica foi realizada com o auxílio do modo scanner de uma impressora multifuncional Deskjet (Hewlett-Packard, modelo F4280) com uma resolução de 600 ppp para capturar as imagens do ensaio de proteínas e glicose. As imagens capturadas foram convertidas para a escala de cinza 8-bit do programa CorelPhotoPaint e a partir dos valores obtidos da média aritmética da intensidade dos pixels de cada zona, foi quantificado a medida colorimétrica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A camada de toner depositada na superfície do poliéster cria uma barreira hidrofóbica que delimita a área da zona, além de ser eficiente em confinar a amostra adicionada. Para uma melhor leitura da reação no *scanner*, usou-se como estratégia a pasta de celulose nas zonas, para confinar os reagentes. Pois quando os reagentes eram adicionados sem a pasta de celulose a luz do scanner refletia na gota formada, atrapalhando assim a leitura.

O ensaio de proteínas foi realizado em microplacas impressas de poliéster-toner. Esse ensaio é baseado na interação entre o BSA e o TBPB que promove uma associação de interações hidrofóbicas e eletrostáticas, de modo que, o fenol do TBPB altera a coloração do corante de amarelo para azul, como pode ser observado na Figura 3.

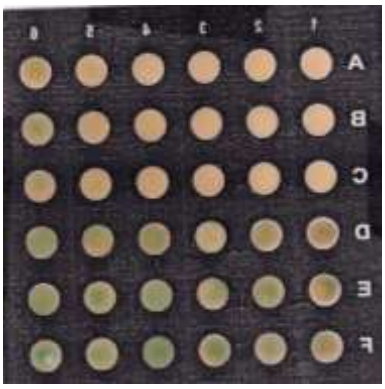


Figura 3: Microplaca impressa demonstrando as variações de cor, do amarelo para o azul esverdeado no ensaio de proteínas.

Para o ensaio de proteínas foi adicionado 10 µL da solução padrão em cada zona de detecção colorimétrica com concentrações de 2, 5, 7, 10, 15, 17 e 20 µM. Na Figura 4, pode ser observado a curva obtida do ensaio de proteínas, o qual demonstrou uma ótima relação linear entre a intensidade de cor e a concentração de proteína, apresentando coeficiente de correção (R^2) igual a 0,999. O limite de detecção (LD) encontrado foi igual a 1,4 µM. Este valor foi calculado, levando-se em consideração a intensidade de cor correspondente a três vezes o desvio padrão do branco.

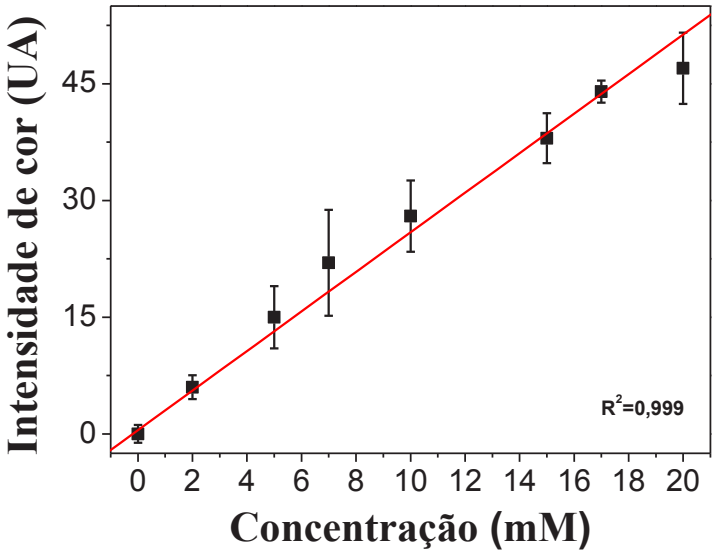


Figura 4: Curva demonstrando a variação linear entre a concentração de BSA e a intensidade de cor obtida.

O LD encontrado no presente trabalho está dentro do intervalo clínico, o qual compreende uma faixa de concentração até 4 µM, em amostras de urina, conforme reportado por Martinez e colaboradores. Essa faixa de concentração é clinicamente relevante para detecção de proteínas relacionadas com algumas doenças ou disfunções renais [9]. Nesse caso,

a quantidade de proteínas na urina pode ser um indicativo de alterações fisiológicas, e a quantificação dessas proteínas pode servir de critério para se distinguir diferentes doenças renais, como a síndrome nefrótica, microalbuminúria e proteinúria tubular [9]. A faixa clínica relevante para BSA é de 0,38 a 7,5 µM [4]. Portanto, para ensaios de diagnóstico o teste realizado em microplacas impressas abrange a faixa de interesse para realização de testes de diagnósticos.

Estudo da cinética enzimática

O dispositivo microfluídico utiliza da ação capilar para distribuir a alíquota de substrato da zona central às zonas de detecção por meio dos canais microfluídicos. A capilaridade proporciona aos dispositivos microfluídicos eficiência, rapidez e, o mais importante não requer o uso de equipamentos externos para o desenvolvimento do ensaio [5]. Essas características permitem que os dispositivos possam ser utilizados em diagnósticos *point-of-care* (POC) [5].

O ensaio de glicose é baseado em uma reação enzimática, na qual, a glicose oxidase promove a transformação da glicose em ácido glucônico e peróxido de hidrogênio (Equação 2) com subsequente redução do peróxido de hidrogênio e oxidação do iodeto em iodato, na presença da enzima peroxidase (Equação 3). A mudança de coloração da reação de incolor a castanho após a oxidação do iodeto indica a presença de glicose [9]. Esse ensaio enzimático foi utilizado a fim de monitorar a reação enzimática através da detecção colorimétrica, para determinar a atividade da enzima glicose oxidase.

$$\text{Glicose} + O_2 \xrightarrow{\text{GOx}} H_2O_2 + \text{Ácido Glucônico} \qquad \textbf{(Equação 2)}$$

$$I^- \xrightarrow[\text{Peroxidase}]{H_2O_2} I_2 \qquad \textbf{(Equação 3)}$$

A partir da mudança da intensidade de cor, a cinética enzimática foi monitorada de 0 a 30 minutos de reação, utilizando o modo *scanner* de uma impressora multifuncional. As imagens capturadas foram analisadas no programa CorelPhoto-Paint e os resultados obtidos foram analisados no programa Microcal Origin (Figura 6).Através do modelo de BoxLucas, expresso pela Equação 4, foi realizado um ajuste de curva exponencial. Os valores obtidos de R^2 variaram de 0,962 a 0,985.

$$I = I_{máx}\,(1 - e^{-bt}) \qquad \textbf{(Equação 4)}$$

Onde, *t* significa o tempo de reação, *I* a intensidade do sinal em função do tempo, *I máx* o valor máximo da reação e *b* corresponde ao tempo de aceleração constante (ou constante de velocidade de primeira ordem) [14,15].

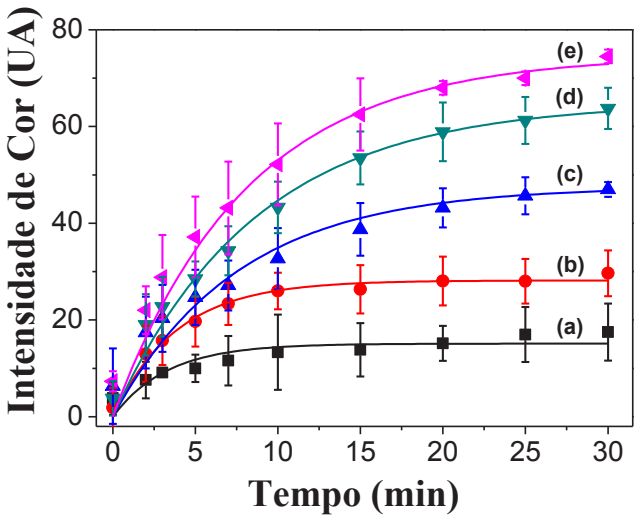


Figura 5: Reação enzimática para glicose. Representação da variação da intensidade de cor em função do tempo para as concentrações: (a) 2, (b) 4, (c) 6, (d) 8 e (e) 10 mM.

Como pode ser observado na Figura 5, a intensidade do sinal aumenta rapidamente até a estabilização. Para o cálculo da constante de Michaelis-Menten (K_m) e a velocidade máxima ($V_{máx}$), foi necessário calcular a velocidade inicial (V_0), para cada concentração da curva,definindo o tempo igual a zero na primeira derivada da Equação 5, ou seja:

$$v_0 = \frac{dI}{dt} \qquad \textbf{(Equação 5)}$$

A equação de Michaelis-Menten pode explicar o comportamento exponencial apresentado pelas curvas. A partir da equação de Michaelis-Menten, após simplicações e modicações algébricas, obtem-se a equação de Lineweaver-Burk, representada na Equação 6, que determina os valores de K_m e $V_{máx}$, como:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{máx}[S]} + \frac{1}{V_m} \qquad \textbf{(Equação 6)}$$

A Figura 6 apresenta o inverso da velocidade inicial *versus* o inverso da concentração da glicose. A inclinação da curva oferece a razão $K_m/V_{máx}$,após ser tratada por regressão linear. O K_m é o parâmetro cinético que indica a afinidade da enzima pelo substrato em condições específicas. O K_m e a $V_{máx}$ obtidos nos dispositivos microfluídicos foram iguais a 8,8 mM e 19,6 $mM.min^{-1}$, respectivamente. Wang e colaboradores imobilizaram a enzima

glicose oxidase em nanocanais e obtiveram valores de K_m entre 4,02 a 10,06 mM. Logo, o valor encontrado de K_m está de acordo com outros valores reportados na literatura.

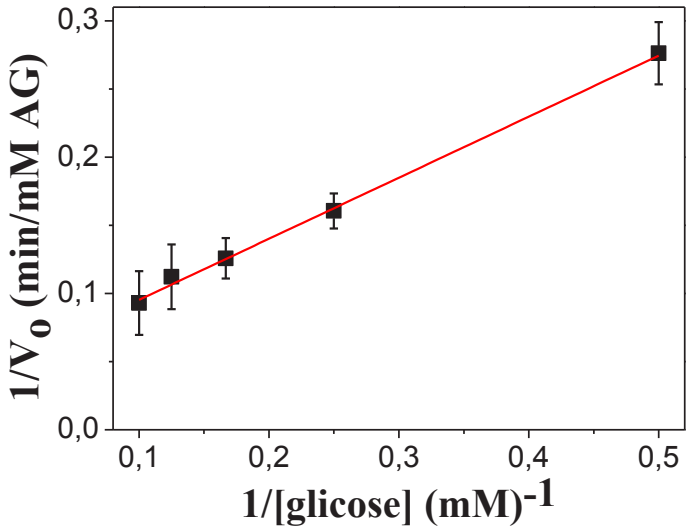


Figura 6: Representação da equação de Lineweaver-Burk para a glicose oxidase.

Após, ser realizado o estudo cinético do ensaio de glicose foi realizada uma análise quantitativa para avaliar o desempenho analítico do dispositivo. Para isso, foi adicionado à zona central 60 µL de uma solução de glicose com concentrações variando de 0 a 10 mM. A captura das imagens foi realizada após 15 minutos do início da reação, pois foi observado que após este tempo ocorre a saturação da enzima. Com isso, observa-se que a intensidade de cor permanece constante. Como pode ser observado na Figura 7, o coeficiente de correlação (R^2) encontrado foi de 0,993. O limite de detecção, calculado foi igual a 1,2 mM ou 216 mg/L. Este valor foi calculado, considerando que a intensidade de cor corresponde a três vezes o desvio padrão da resposta do branco.

Os níveis normais de glicose no sangue variam de 3,8 a 5,5 mM e de 0,1 a 0,8 mM na urina [17]. Valores acima de 7,0 mM e 1,4 mM, no sangue e na urina, respectivamente, podem servir para o diagnóstico de certas doenças, como o diabetes. A Figura 7 também ilustra que a faixa clínica se encontra dentro da faixa de concentração abrangida pela curva. O limite de detecção obtido estava abaixo dos níveis normais de glicose no sangue e acima dos níveis normais na urina. A sensibilidade analítica obtida com a metodologia proposta foi igual a 6,4 (U.A./mM).

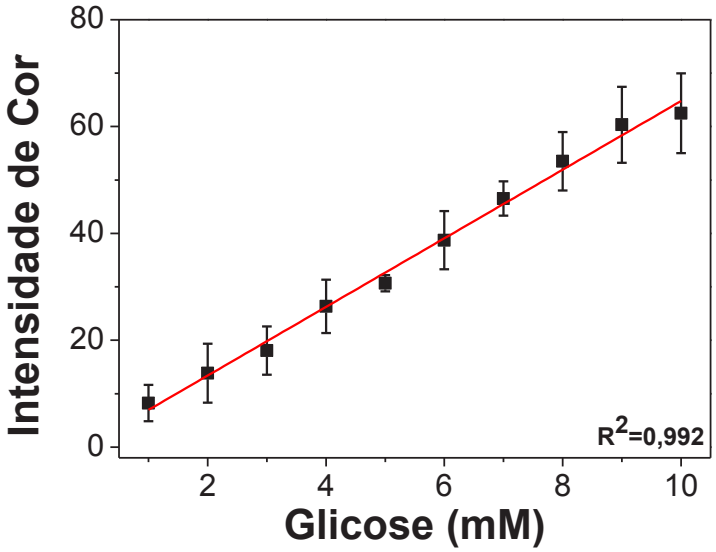


Figura 7: Curva analítica para o ensaio de glicose a partir da detecção colorimétrica.

Análise Quantitativa

O bom desempenho analítico apresentado pelos dispositivos microfluídicos possibilitou seu uso para a quantificação de glicose em amostras de soros artificiais (N e P). Esses soros apresentam composição de analitos semelhantes aos encontrados no soro humano e foram utilizados em diferentes concentrações a fim de comparar os valores obtidos com os encontrados na bula.

Os resultados obtidos pela diluição dos soros controle N e P em água foram comparados à curva analítica. Para o teste de recuperação, utilizou-se o método de adição de padrão nos soros, com concentrações de glicose variando de 2 a 5 mM. O fator de recuperação foi obtido pela razão da diferença das concentrações das amostras fortificada e não fortificada e a concentração adicionada, como está apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Comparação entre os valores certificados e encontrados em amostras artificias de soro humano.

Amostras	Valores Certificados (mM)	Valores Encontrados (mM)	Recuperação (%)
Soro N	3,5 – 4,5	4,3 ± 0,5	96,0 − 99,6
Soro P	12,0 – 15,8	14,3 ± 1,2	95,5 – 96,5

Os valores relativos às médias de cada concentração (2, 5 e 10 mM) em cada semana obtidos através do teste de variância (ANOVA) foram de 0,156; 0,075 e 0,688, respectivamente. Com nível de confiança de 95%, o valor tabelado é de 3,29. Portanto, não foi verificado estatisticamente variações inter e entre os dispositivos.

A exatidão dos resultados obtidos através da utilização dos dispositivos microfluídicos foi superior a 95% na análise de soros artificiais. Esses resultados apresentam a elevada potencialidade dos dispositivos de PT para aplicações clínicas, além de possibilitar a realização de ensaios analíticos de custo "quase zero".

CONCLUSÕES

Os dispositivos analíticos propostos apresentaram boa reprodutibilidade e ótimos coeficientes de correlação linear. Destacam-se pela simplicidade instrumental requerendo apenas um computador, uma laminadora e um *scanner* portátil. Além disso, apresentam outras vantagens singulares como o baixo custo empregado na fabricação dos dispositivos e a descartabilidade dos mesmos. Por isso, os microdispositivos são potencialmente aplicáveis para ensaios relacionados a diagnósticos. Os dispositivos microfluídicos descartáveis de PT utilizam da ação da capilaridade para o desenvolvimento rápido e eficiente da reação, o qual não exige nenhum instrumento de médio ou grande porte para promover o bombeamento.

A utilização da pasta de celulose para evitar o extravasamento da amostra é um fato inédito e proporcionou o estudo da cinética enzimática da reação entre a glicose com a glicose oxidase. Através da análise quantitativa em amostras de soro artificiais, foram obtidos resultados de boa exatidão comparados aos valores apresentados pelo fabricante. Além disso, o método de adição de padrão para o teste de recuperação apresentou mais de 95% de fator de recuperação garantindo uma boa confiabilidade analítica aos microdispositivos.

A próxima etapa desse trabalho visa à determinação quantitativa de glicose e proteínas em amostras de soro e urina artificiais a fim de comprovar a potenciabilidade dos microdispositivos para análises de diagnóstico. Vale ressaltar que parte desse trabalho resultou no depósito de um pedido de patente junto ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) sob o protocolo número BR1020130031437, de 08/02/2013.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e ao INCTBio pela bolsa e auxílio financeiro concedido.

REFERÊNCIAS

[1] A. Manz, N. Graber e H. M. Widmer, "Miniaturized Total Chemical Analysis Systems: a Novel Concept for Chemical Sensing", Sensors and Actuators, BI pp. 244-248, (1990).

[2] W. K. T. Coltro, J. A. F. da Silva e E. Carrilho, "Fabrication and integration of planar electrodes for contactless conductivity detection on polyester-toner electrophoresis microchips", Electrophoresis, v. 29, pp. 2260–2265, (2008).

[3] C. L. do Lago, H. D. T. da Silva, C. A. Neves, J. G. A. Brito-Neto e J. A. F. da Silva, "A Dry Process for Production of Microfluidic Devices Based on the Lamination of Laser-Printed Polyester Films", Anal. Chem., v. 75, pp. 3853-3858, (2003).

[4] A. W. Martinez, S. T. Phillips, M. J. Butte e G. M. Whitesides, "Patterned Paper as a Platform for Inexpensive, Low-Volume, Portable Bioassays", Angew. Chem. Int. Ed., v. 46, pp. 1318 –1320, (2007).

[5] F. R. Souza, G. L. Alves e W. K. T. Coltro, "Capillary-Driven Toner-Based Microfluidic Devices for Clinical Diagnostics with Colorimetric Detection", Analytical Chemistry, v. 84, pp. 9002−9007, (2012).

[6] W.K.T. Coltro, D.P. de Jesus, J.A.F. da Silva, C.L. do Lago e E. Carrilho, "Toner and paper-based fabrication techniques for microfluidic applications", Electrophoresis, v. 31, pp. 2487 –2498, (2010).

[7] S. J. Vella, P. Beattie, R. Cademartiri, A. Laromaine, A. W. Martinez, S. T. Phillips, K. A. Mirica e G. M. Whitesides, "Measuring Markers of Liver Function Using a Micropatterned Paper Device Designed for Blood from a Fingerstick", Anal. Chem., v. 84, pp. 2883−2891, (2012).

[8] K. A. Oliveira, C. R. de Oliveira, L. A. da Silveira e W. K. T. Coltro, "Laser-printing of toner-based 96-microzone plates for immunoassays", Analyst, v. 138, pp. 1114, (2013).

[9] A. W. Martinez, S. T. Phillips, E. Carrilho, S. W. Thomas III, H. Sindi e G. M. Whitesides, "Simple Telemedicine for Developing Regions: Camera Phones and Paper-Based Microfluidic Devices for Real-Time, Off-Site Diagnosis", Analytical Chemistry, v. 80, pp. 3699–3707, (2008).

[10] W. K. T. Coltro, E. Piccin, E. Carrilho, D. P. de Jesus, J. A. F. da Silva, H. D. T. da Silva e C. L. do Lago, "Microssistemas de Análises Químicas. Introdução, Tecnologias de Fabricação, Instrumentação e Aplicações", Química Nova, v. 30, n. 8, pp. 1986-2000, (2007).

[11] L. Blanes, M. F. Mora, C.L. do Lago, A. Ayon e C. D. García, "Lab-on-a-Chip Biosensor for Glucose Based on a Packed Immobilized Enzyme Reactor", Electroanalysis 19, No. 23, pp. 2451 – 2456, (2007).

[12] D. L. Nelson e M. M. Cox, Príncipios de Bioquímica de Lehninger, 5ª ed. Barcelona: Ediciones Omega, pp. 198 – 202 (2009).

[13] W. Wang, W.Y. Wu, W. Wang e J. Jie, "Treeshaped paper strip for semiquantitative colorimetric detection of protein with selfcalibration", Journal of Chromatography A, v. 1217, pp. 3896–3899, (2010).

[14] Z. Xiao e A. Vien, "Experimental designs for precise parameter estimation for non-linear models", Minerals Engineering, v. 17, pp. 431 – 436, (2004).

[15] B. Q. Dong, F. Xing e Z. J. Li, "The study of poling behavior and modeling of cement-based piezoelectric ceramic composites", Materias Science and Engineering a-Structural Materials Properties Microstructure and Processing, v. 456, n. 1-2, pp. 317-322, (2007).

[16] C. Wang, Z. H. Sheng, J. Ouyang, J. J. Xu, H. Y. Chen e X. H. Xia, "Nanoconfinement Effects: Glucose Oxidase Reaction Kinetics in Nanofluidics", Chemphyschem, v. 13, n. 3, pp. 762-768, (2012).

[17] W. Dungchai, O. Chailapakul e C. S. Henry, "Use of multiple colorimetric indicators for paper-based microfluidic devices", Analytica Chimica Acta, v. 674, n. 2, pp. 227-233, (2010).

AÇÕES AFIRMATIVAS E TRAJETÓRIAS ACADÊMICAS: UM ESTUDO NA UFG[1]

Paula Fernandes de Assis Crivello Neves (Bolsista PIBIC/CNPq)[2]
Gina Glaydes Guimarães de Faria (Orientadora)[3]
NEPPEC-FE-UFG
paulacrivelloneves@gmail.com
ginaggfaria@gmail.com

RESUMO

Este trabalho, em andamento, apresenta os resultados parciais de um estudo sobre trajetórias acadêmicas de estudantes da Universidade Federal de Goiás (UFG) que ingressaram à instituição por meio das ações afirmativas. Foram realizados levantamentos bibliográficos objetivando identificar e analisar relatos de pesquisas cujos autores tratassem de trajetórias de alunos que recorreram às cotas no processo seletivo ao ensino superior, de forma a subsidiar o estudo em curso na UFG. Para tanto, selecionou-se trabalhos publicados na ANPEd (2011/2012) e, por meio de levantamento na biblioteca científica eletrônica, *scielo*, trabalhos sobre a trajetória acadêmica dos alunos que ingressaram por meio das cotas na Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ), à medida que foi uma das primeiras universidades a adotar as ações afirmativas como um critério de ingresso aos seus cursos de graduação. Os resultados preliminares indicam um consenso dos autores quanto à adoção das ações afirmativas para a democratização da universidade pública, evidenciando preocupações quanto à permanência dos estudantes. Constatou-se que os desafios dos estudantes da UERJ e da UFG são semelhantes, especialmente quanto às questões financeiras para a permanência na universidade, o reconhecimento da fragilidade da formação na educação básica e às dificuldades de acompanhamento das disciplinas, sobretudo nos primeiros períodos dos cursos. Alerta-se para a necessidade do aprofundamento do estudo acerca das desigualdades sociais e escolares, especialmente em relação ao princípio do mérito no âmbito das teses da igualdade, engendradas numa sociedade de classes antagônicas (MÉSZÁROS, 2005).

Palavras-chave: Ações afirmativas. Cotas na universidade. Trajetórias acadêmicas.

[1] Trabalho revisado pela orientadora.
[2] Paula Fernandes de Assis Crivello Neves é acadêmica do 3º período do curso de Pedagogia, na FE/UFG.
[3] Gina Glaydes Guimarães de Faria é profa. de Psicologia da Educação, na FE/UFG.

INTRODUÇÃO

A Universidade Federal de Goiás (UFG), desde o ano de 2009, passou a adotar o *Programa UFGInclui* (BRASIL, 2008)[4], considerando três pontos principais: as experiências de outras universidades que já adotavam programas de ações afirmativas, a análise de dados referentes aos processos seletivos da própria UFG que apontavam para uma redução de estudantes oriundos de escolas públicas aos seus cursos de graduação, especialmente nos cursos mais concorridos e, ainda, o "pressuposto de que a proposição e o desenvolvimento de ações intencionais para incluir tais categorias no ensino superior, contempla as camadas menos favorecidas da população, entre as quais encontram-se as minorias étnicas/raciais" (BRASIL, 2008, p.8).

Previsto para dez anos, o Programa *UFGInclui* foi fortemente modificado a partir da normatização do sistema de cotas nas Instituições Federais de Ensino Superior, por meio da Lei nº 12.711/2012, regulamentada pelo

> Decreto nº 7.824/2012, que define as condições gerais de reservas de vagas, estabelece a sistemática de acompanhamento das reservas de vagas e a regra de transição para as instituições federais de educação superior. Há, também, a Portaria Normativa nº 18/2012, do Ministério da Educação, que estabelece os conceitos básicos para aplicação da lei, prevê as modalidades das reservas de vagas e as fórmulas para cálculo, fixa as condições para concorrer às vagas reservadas e estabelece a sistemática de preenchimento das vagas reservadas" (BRASIL, s/d).

Apesar desta mudança significativa, tem-se como princípio que o estudo das experiências acadêmicas dos estudantes que ingressaram ou ingressarão por meio das cotas na universidade reporta-se à efetividade histórica, implicando uma fertilidade que expõe as tensões e oposições entre o proposto nas diretrizes legais e a materialidade dos processos históricos, reciprocamente determinados. Vinculado à Pró-Reitoria de Graduação, o *Programa UFGInclui,* conforme proposto em 2008, orientava-se por alguns princípios, sendo que um dos mais enfatizados era o que se referia às desigualdades sociais e suas implicações no acesso aos bens materiais e culturais produzidos socialmente. Em relação ao processo educativo, explicitava-se que a escola pública ofereceria uma formação precária o que comprometeria o estudante oriundo desta escola no momento do processo seletivo, quando concorreria com outros alunos com uma formação básica de melhor qualidade. Partia-se do princípio de que a universidade selecionaria por meio do mérito, isto é, avaliando

[4] O Programa *UFGInclui* foi aprovado pelo Conselho Universitário mediante a Resolução Consuni nº 29 de 1º de agosto de 2008.

conhecimentos e habilidades que seriam construídos pelo estudante ao longo da Educação Básica.

As relações entre desigualdades sociais e desigualdades escolares expressam um tema clássico nos estudos acerca da produção do sucesso/fracasso escolar, das trajetórias de escolarização envolvendo estudos e pesquisas educacionais em interface com a sociologia, psicologia, entre outras, como o clássico estudo de Patto (1993), os estudos de Nogueira, Romanelli e Zago (2003) acerca das relações entre família, escola e as trajetórias de escolarização em camadas médias e populares, com referência em Bourdieu, aos trabalhos mais recentes da sociologia francesa como o de Dubet (2003; 2008). Como garantir o princípio do mérito num processo seletivo em que se reconhece que a maioria dos estudantes, oriundos da escola pública, não tem acesso a um ensino de qualidade? Atuando de forma propositiva, é que a Universidade implementou o *Programa UFGInclui*, concebido como uma política de inclusão e permanência de grupos sociais até então historicamente excluídos do acesso à educação superior, sem ferir o princípio do mérito.

Reconhecendo que as "diferenças individuais, socioeconômicas e culturais [...] influenciam no modo pelo qual os sujeitos adquirem e constroem os conhecimentos e as habilidades que compõem a sua formação", [preconiza que] as práticas educativas têm poder para transformar as pessoas" (BRASIL, 2008, p.8). Partindo de tal convicção em relação às práticas educativas, o *Programa* pretendia

> [...] assegurar o mérito como elemento fundamental do acesso e permanência no ensino superior. Tal posicionamento fundamenta-se no entendimento de que a Universidade como instituição social cuja especificidade é lidar com o conhecimento por meio do ensino, da pesquisa e da extensão, não pode subordinar o mérito acadêmico a critérios de natureza social, sob pena de perda de sua própria identidade (BRASIL, p. 8).

A discussão acerca do mérito envolve as condições de acesso e de permanência dos estudantes na universidade. A UFG, no âmbito do referido documento, indicava ações que seriam implantadas ou ampliadas, considerando ações destinadas ao estudante da escola pública para antes do ingresso à instituição, ações adotadas no momento do processo seletivo e outras posteriores ao ingresso à UFG. As ações que seriam adotadas antes do ingresso à universidade envolveriam a qualificação da formação do estudante, oriundo de escola pública, objetivando o processo seletivo, a ampliação do número de isenções de taxas, a reformulação dos programas de provas do processo seletivo mediante interlocução com o Ensino Médio, especialmente de escolas públicas, ampliação de ações voltadas para a formação de professores e para a melhoria do ensino público, criação de cursos preparatórios ao processo

seletivo da UFG, para estudantes provenientes de escolas públicas e ampla divulgação das ações de inclusão social da UFG.

Quanto às ações destinadas ao momento do processo seletivo, adotou-se o sistema de cotas aos seus cursos de graduação, exceto para aqueles cursos que oferecem menos de dez vagas, mediante os seguintes critérios: 10% para estudantes oriundos de escolas públicas, tendo cursado os dois últimos anos do ensino fundamental e os três anos do ensino médio nestas escolas;10% para estudantes auto-declarados negros passíveis de discriminação racial, oriundos de escolas públicas, tendo cursado os dois últimos anos no ensino fundamental e os três anos do ensino médio na rede pública de ensino e, segundo a demanda, uma vaga para o indígena e uma vaga para negro quilombola.[5]

Em relação às ações destinadas à permanência dos estudantes na UFG, pretendia-se a ampliação dos serviços de assistência aos estudantes de baixa renda, já existentes como

> [...] isenções de taxas acadêmicas; bolsa alimentação; bolsa de monitoria; bolsa de iniciação científica; bolsa de licenciatura; bolsa de extensão; bolsa de estágio; creche; moradia estudantil; serviço odontológico; programa saudavel*mente*; restaurante universitário; programa de incentivo a participação do estudante em eventos científicos e culturais (BRASIL, 2008, p. 19-20).

Tem-se, assim, o pressuposto de que as oportunidades iguais sob o registro das ações afirmativas garantiriam o princípio do mérito. Este trabalho, em andamento, apresenta a percepção de estudantes que ingressaram por meio das cotas na UFG, acerca de suas trajetórias acadêmicas. Ainda incipiente, indica questões relacionadas ao desempenho acadêmico nos períodos iniciais de seus cursos de graduação, às implicações da educação básica para a formação acadêmica e, ainda, questões acerca da relação professor e aluno. Objetivando subsidiar o estudo, foram realizados levantamentos bibliográficos voltados ao estudo das trajetórias acadêmicas de estudantes que ingressam ao ensino superior por meio das cotas, considerando dois campos de investigação: os Anais da Associação Nacional de Pós-Graduação e Pesquisa em Educação (ANPEd) e, por meio do *scielo*, estudos e trabalhos sobre a experiência dos estudantes que ingressaram pelo sistema de cotas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

METODOLOGIA

[5] Em todos os casos os estudantes necessitam comprovar as condições indicadas na Resolução Consuni nº 28/2009, como documentos comprobatórios em relação à trajetória em escola pública, à etnia quilombola ou indígena, entre outros. Preveem-se, também, as normas para a segunda etapa do vestibular como o caso em que os estudantes oriundos de escola pública, independentemente do critério racial, não

A ANPEd é uma associação sem fins lucrativos, criada em 1976, por um grupo de Programas de Pós-Graduação em Educação, constituindo-se de 23 Grupos de Trabalhos (GTs), organizados por temas e disciplinas e pelo Fórum de Coordenadores de Programas de Pós-Graduação em Educação (FORPRED). Tem se constituído um campo fértil para o estudo de temas educacionais, especialmente porque longo dos anos, de forma ininterrupta, tem divulgado pesquisas, qualificado o debate e a produção do conhecimento, possibilitando o intercâmbio entre pesquisadores na área educacional mediante as Reuniões Anuais e de suas publicações, especialmente por meio da *Revista Brasileira de Educação*. Por esses e outros aspectos, a própria ANPEd tornou-se um campo fértil de pesquisas educacionais, contemplando diversos temas, analisados sob diferentes perspectivas.

Para a seleção dos trabalhos da ANPEd, adotou-se dois critérios: o primeiro diz respeito à seleção dos Grupos de Trabalho (GTs) que seriam consultados, definindo aqueles que teriam maior afinidade com o tema das ações afirmativas. O segundo critério referiu-se à seleção dos trabalhos no âmbito dos GTs, optando-se pela leitura dos resumos, selecionando-se aqueles que mesmo indiretamente tratassem da temática, considerando que a discussão pudesse ocorrer por meio de temas mais amplos como a democratização da universidade, os processos de inclusão/exclusão nas trajetórias acadêmicas, a desigualdade social/escolar, entre outras.[6] Foi consultado um total de 264 resumos, sendo selecionados oito (3%), cujos trabalhos foram lidos na íntegra e analisados por meio de uma planilha de análise e documentação.[7]

Este momento do estudo possibilitou o mapeamento dos trabalhos que mais diretamente tratavam das experiências acadêmicas dos estudantes que ingressaram ao ensino superior mediante o sistema de cotas. A maioria dos autores relata pesquisas em que discutem as políticas de ações afirmativas destinadas ao ensino superior, sobressaindo a análise dos programas de inclusão das próprias universidades, articulada a procedimentos metodológicos que objetivam identificar a representação/percepção dos estudantes e professores sobre as ações de inclusão e o desempenho acadêmico dos alunos. Do conjunto dos trabalhos selecionados, quatro (50%) abordam questões voltadas às trajetórias acadêmicas de estudantes que utilizaram o sistema de cotas para ingresso à universidade (URQUIZA, BRAND, NASCIMENTO, 2011; DOEBBER, 2011; LIMA, 2011; ESTÁCIO, 2012).

[6] Na dúvida quanto à pertinência do resumo para o estudo proposto, incluía-se para posterior leitura do trabalho, na íntegra e, então, sendo o caso, o trabalho era excluído.

[7] O levantamento e a análise dos trabalhos publicados na ANPEd foram realizados em conjunto com outra bolsista de Iniciação científica, em que as planilhas de análise e documentação eram preenchidas e confrontadas entre ambas e depois com a orientadora. Após este trabalho coletivo, cada uma delas passou a dedicar-se especificamente às temáticas de estudo, propostas nos respectivos Planos de Trabalho.

Adotando a UERJ como emblema para o estudo das trajetórias acadêmicas de estudantes que ingressaram ao curso superior por meio das ações afirmativas[8], foi realizado um levantamento de trabalhos, especialmente em anais de eventos da área educacional, por meio da biblioteca científica eletrônica, *scielo*, que tratassem do sistema de cotas da referida Universidade, tendo como temática a experiência acadêmica dos estudantes. Foram selecionados e analisados cinco trabalhos em que os autores tratam especificamente de experiências acadêmicas dos estudantes ingressantes por meio das cotas na instituição (CASTRO, 2006; PENHA-LOPES, 2008; SILVA, 2010; VALENTIM, 2012; PINTO, s/d). Os trabalhos foram estudados e analisados, considerando as diretrizes para a leitura, análise e interpretação de textos (SEVERINO, 2000).

Trata-se de um campo privilegiado para o estudo das trajetórias acadêmicas no âmbito das ações afirmativas, pois ainda em meados dos anos 2000, seus estudantes já concluíam seus cursos de graduação, indicando numa experiência inaugural, os desafios enfrentados para a conclusão de seus cursos de graduação. Consultando o site da Universidade Estadual do Rio de Janeiro, constata-se que a sua história começa em 1950, com a fundação da Universidade do Distrito Federal (UDF):

> Nesse trajeto, a instituição viu seu nome mudar, acompanhando as transformações políticas que ocorriam. Em 1958, a UDF foi rebatizada como Universidade do Rio de Janeiro (URJ). Em 1961, após a transferência do Distrito Federal para a recém-inaugurada Brasília, a URJ passou a se chamar Universidade do Estado da Guanabara (UEG). Finalmente, em 1975, ganhou o nome definitivo de Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Ao longo de décadas, a UERJ cresceu e firmou-se como uma das principais universidades do País. Sua importância no espaço acadêmico brasileiro pode ser atestada pela qualidade da formação superior que oferece, pelo valor da sua produção científica, pelas centenas de projetos de extensão em desenvolvimento, pela promoção da cultura e pelos inúmeros serviços prestados à população. (site: http://www.uerj.br/institucional/)

A Universidade do Estado do Rio de Janeiro foi pioneira na adoção do sistema de reserva de vagas em função de um projeto de lei estadual com reserva de 50% de suas vagas no vestibular de 2003 para estudantes que cursaram o ensino médio em escolas da rede pública. Neste ano foram realizados dois concursos distintos (um para o SADE e outro para o vestibular tradicional), ambos com inclusão de afrodescendentes, porém sem o corte sócio-econômico. Este processo foi modificado pela Lei nº 4151, promulgada em 4 de setembro de 2003, tendo os primeiros alunos ingressados no Vestibular 2004.

[8] A escolha desses textos foi porque a UERJ e a Universidade do Estado do Norte Fluminense (UENF) foram as primeiras universidades brasileiras a instituírem cotas raciais como critério de admissão aos seus cursos de graduação "Essas medidas foram adotadas dentro de um programa de ação afirmativa que visa aumentar a representatividade dos afrodescendentes nas instituições de nível superior" (PENHA-LOPES, 2008, p.105).

Após dez anos de experiência, "45% das vagas são reservadas para cotistas -20% para alunos de escolas públicas, 20% para negros e indígenas e 5% para deficientes. O denominador comum é a renda per capita mensal de até R$ 960" (KACHANI, 2012). A instituição adota, ainda, um programa de permanência específico para os ingressantes por meio da reserva de vagas, o Programa de Iniciação Acadêmica (PROINICIAR):

> Como política de permanência para os estudantes oriundos de reserva de vagas a Universidade desenvolve o Programa de Iniciação Acadêmica (PROINICIAR) oferecendo disciplinas instrumentais, oficinas e atividades culturais. Além das atividades acadêmicas estes alunos recebem a Bolsa Permanência, atualmente no valor de R$300,00 (trezentos reais), durante todo o curso universitário e parte do material didático para realização das suas atividades (UERJ, s/d).

Quanto ao trabalho com o material oriundo do grupo focal, partiu-se de uma sistematização prévia em que os principais aspectos indicados pelos estudantes foram organizados em quadros demonstrativos, considerando-se temáticas como o desempenho acadêmico, expectativa profissional, questões financeiras, opinião sobre as cotas, a relação professor-aluno, participação na vida acadêmica e nos eventos realizados na UFG, entre outros. Estas temáticas foram analisadas distinguindo-se os dados oriundos do grupo com estudantes dos cursos mais concorridos, que mobilizaram maior número de cotas, do grupo de estudantes dos cursos menos concorridos, isto é, que mobilizaram menor número de cotas.[9]

A técnica do grupo focal, conforme Gatti (2005), refere-se a um trabalho com grupos, tendo por "objetivo captar, a partir das trocas realizadas no grupo, conceitos, sentimentos, atitudes, crenças, experiências e reações [...] permitindo a captação de significados que, com outros meios, poderiam ser difíceis de se manifestar" (GATTI, 2005, p.9).

RESULTADOS/DISCUSSÃO

A questão da permanência dos estudantes que ingressam à universidade por meio das cotas está fortemente presente nos trabalhos publicados na ANPEd. Urquiza, Brand, Nascimento (2011), sob o referencial dos "estudos culturais", investigam a formação de professores indígenas na Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS) e apesar do posicionamento favorável às cotas, indicam a preocupação com a permanência desses estudantes na universidade, enfatizando a necessidade da superação do "monoculturalismo homogeneizador" que dificultaria a construção de "experiências de interculturalidade" para a

[9] O trabalho de sistematização dos dados, num primeiro momento, foi realizado por outra estudante de IC, sendo retomado pela atual bolsista objetivando o aprofundamento das questões atinentes às trajetórias acadêmicas com ênfase à percepção dos estudantes sobre a relação professor-aluno.

formação desses estudantes. Compreende-se que os autores apontam como causa do sucesso/fracasso escolar a falta de diálogo entre o conhecimento cientifico e os saberes indígenas, sendo consequência a falta de relação entre o conhecimento apreendido na universidade com a realidade dos estudantes oriundos das cotas, especificamente os indígenas.

Estácio (2012) também é outro autor que indica preocupações com a permanência dos alunos: "Compreendemos que não basta criar vagas específicas na educação superior para serem preenchidas pelos candidatos de origem étnica, mas se faz necessário a criação de programas complementares e institucionais, os quais sejam capazes de promover tanto a permanência material quanto simbólica dos índios na universidade, e que estas sejam exitosas." (ESTÁCIO, 2012, p.16)

Doebber (2011) indica a preocupação com a permanência, especialmente a partir da dificuldade dos alunos em conciliar os estudos com o emprego:

> O estudante também conta as dificuldades encontradas para permanecer no curso, pois tem que trabalhar e tentar conciliar os horários das disciplinas que são oferecidas em sua maioria durante o período diurno. Mesmo com a organização de grupos de estudo com colegas duas vezes por semana, estudo aos finais de semana e participação no Programa de Apoio à Graduação, o estudante obteve aprovação somente em 23% dos créditos matriculados até o momento. Nesse caso o aluno já está entrando em um possível processo de recusa de matrícula, ou seja, tudo indica que perderá o vínculo com a Universidade. (DOEBBER, 2011, p.13).

A autora ainda acha necessário o desenvolvimento de ações que ajudem na permanência destes alunos na Universidade: "O caso relatado aqui mostra que a Universidade ainda foca seu Programa na ampliação do acesso, porém não possibilita as condições necessárias para a permanência desses estudantes." (DOEBBER, 2011, p.13). O que parece pertinente nesse momento é atentar para a operacionalização do programa, com especial interesse para a qualidade da permanência dos estudantes:

> Porém, no que se refere: à promoção da diversidade étnico-racial e social no ambiente universitário, ao apoio a promoção da educação das relações étnicoraciais, bem como ao desenvolvimento de ações visando a apoiar a permanência mediante condições de manutenção e orientação para o adequado desenvolvimento e aprimoramento acadêmico pedagógico, mesmo sendo aspectos centrais da política, muito precisa ser proposto, executado, avaliado e problematizado. (DOEBBER, 2011, p.9).

Lima (2011) analisa o currículo vivido, considerando a inserção de alunos indígenas através do sistema de cotas, tendo em vista a busca pela construção de um currículo voltado para o reconhecimento e a desnaturalização das diferenças culturais. Destaca, ainda, as fortes dificuldades financeiras para a permanência na universidade, pois deslocam-se da aldeia para a cidade, sendo tal dificuldade "muito pouco amenizada pelas bolsas de permanência e a

adaptação ao novo ambiente, [sugerindo que] a denominação "evasão" e suas causas precisam ser explicitadas (LIMA, 2011, p.3). Constata-se em todos os trabalhos a preocupação com a permanência dos estudantes cotistas na universidade. Implicada nesta preocupação está a questão de como garantir o princípio do mérito numa efetividade histórica marcada pela desigualdade social.

Trajetórias acadêmicas na UERJ e na UFG: uma leitura inicial

Considerando a diversidade de enfoques teórico-metodológicos das diferentes pesquisas que impõem perspectivas distintas na análise sobre a trajetória acadêmica dos estudantes que ingressam à universidade por meio das cotas, é possível indicar algumas semelhanças em relação à trajetória acadêmica dos estudantes da UERJ e da UFG. Apresentam-se aquelas relacionadas à formação básica em escolas públicas e implicações para o desempenho acadêmico na universidade e ao acompanhamento das disciplinas nos primeiros períodos dos cursos de graduação.

Penha-Lopes (2008) apresenta os resultados preliminares da pesquisa sobre a primeira turma de formandos que ingressaram pelo sistema de cotas na UERJ, indicando a percepção dos estudantes sobre questões como o tipo de escola que estudaram, os motivos da escolha da UERJ, as questões financeiras, familiares e, sobretudo, questões relacionadas à trajetória acadêmica. Trata-se de estudo comparativo sobre as experiências de estudantes das Faculdades de Odontologia e Ciências Sociais. A escolha dessas Faculdades deveu-se ao contraste entre uma Faculdade considerada de elite e outra Faculdade, menos competitiva, isto é, com menor relação aluno/vaga.

Conforme relatado pela autora, a maioria dos entrevistados, em suas trajetórias acadêmicas, passou por escolas públicas e somente três estudantes do curso de Odontologia e seis das Ciências Sociais fizeram curso pré-vestibular: "Mas a maioria dos entrevistados não só não fez cursinho como também reconhece que a existência das cotas facilitou a entrada deles" (PENHA-LOPES, 2008, p.112).

Destacando a trajetória dos alunos, as questões reportadas referiram-se às dificuldades iniciais de adaptação à Universidade: "vários deles, principalmente os alunos das ciências sociais, reclamaram da qualidade do ensino que receberam nas escolas públicas, o que tornou ainda mais desafiador acompanhar as leituras exigidas nas disciplinas" (PENHA-LOPES, 2008, p.118).

Pinto (s/d) apresenta a pesquisa realizada na UERJ por meio de um estudo etnográfico, utilizando a observação direta e entrevistas semi-estruturadas. Os cursos selecionados foram Medicina, Direito e Odontologia por serem cursos de "prestígio social elevado" e Pedagogia e Ciências Sociais por serem de "baixo prestígio social". Indica que as trajetórias acadêmicas dos estudantes cotistas não podem ser compreendidas sob uma dimensão pedagógica estrita. O estudo sobre a temática deve levar em consideração as relações de poder e os processos de exclusão/inclusão que atravessam as práticas acadêmicas, específicas de cada curso ou áreas de conhecimento. Citando um trabalho de sua autoria afirma que

> [...] enquanto os cursos de História e de Ciências Sociais definem o mérito a partir da exibição performática de capacidades especulativas e críticas, de preferência aliada a uma aguda consciência de responsabilidade política e social; no curso de Medicina o mérito é visto como uma performance de habilidade técnicas aliada a um saber enciclopédico, podendo ser representado como uma expressão tanto do esforço e da disciplina, quanto da genialidade individual (PINTO, s/d, p.3)

O percurso de um aluno na academia e em seguida a sua entrada no campo profissional, dependerá tanto de sua competência em entrar em grupos de relações pessoais, quanto de operar de maneira ativa as técnicas de apresentação do eu, sabendo conter as atitudes, dominar positivamente as impressões que ocorre no conjunto individual ou coletivo.

Uma aluna de curso com "baixo prestígio social" aponta dificuldades encontradas no ensino universitário relacionado ao acesso de bens:

> Passar não é impossível, difícil é se manter aqui. Como a gente vai ter um desempenho melhor se a gente não tem acesso aos livros, não tem biblioteca funcionando aqui dentro, se não tem dinheiro pra passagem? Pra xerox? Mas será que o nosso desempenho é tão ruim assim mesmo ou é só mais baixo? [...] (PINTO, s/d, p. 7)

Já um aluno veterano de um curso com alto prestígio social ressaltou o problema do custo dos cursos na área da saúde como um grande problema da universidade: "Se entrar não consegue se manter [...] o cara tem que comprar material caríssimo, logo no terceiro período" (PINTO, s/d, p.7). Ressalta a presença do debate acerca do desempenho acadêmico entre cotistas e não cotistas que, ao final, seria difícil de ser superado especialmente porque de forma geral a UERJ, segundo professores entrevistados, apresentaria problemas estruturais que afetariam o desempenho acadêmico de todos os estudantes e, além disso, no âmbito da sala de aula, não teriam informações acerca da identificação dos estudantes cotistas.

> Na sua maioria, os professores se mostravam relutantes em fazer uma avaliação categórica do desempenho dos cotistas, pois na situação pedagógica da sala de aula eles não sabem quem é ou não cotista, pela impossibilidade de dissociar os efeitos das cotas de outros fatores estruturais que estão afetando a universidade, e pelo alto teor polêmico e político do assunto (PINTO, s/d, p.7).

Evidenciam as dificuldades quanto ao acesso a livros, biblioteca, textos, materiais de pesquisas, entre outros.

> Apesar de muitos alunos terem se dedicado a refutar ou ponderar os resultados das pesquisas da UERJ, boa parte dos alunos cotistas usou este tema para apontar para as dificuldades encontradas no ensino universitário, ressaltando o papel das dificuldades de acesso a bens culturais como livros, textos, material de pesquisa, ou instrumentos profissionais em inviabilizar uma boa performance ou, mesmo, a própria trajetória acadêmica. Os alunos cotistas mostraram uma consciência aguda da desvantagem acadêmica criada pela penúria e pelo funcionamento excludente das instâncias de armazenamento e repartição de bens culturais na universidade como as bibliotecas, os laboratórios e os locais de aprendizado prático (PINTO, s/d, p.9).

Entretanto, o autor ressalta a importância da implantação de reserva de vagas:

> [...] podemos dizer que as políticas de ação afirmativa, tais como foram concretizadas na criação de cotas na universidade, têm se constituído tanto em canais de acesso a bens culturais e econômicos para grupos socialmente desfavorecidos, de um lado, quanto em uma arena de debates, reflexão e ação sobre as próprias categorias raciais que demarcam a sua inserção e posição na sociedade brasileira, de outro. (PINTO, s/d. p.11)

Silva (2010) objetiva compreender a trajetória dos alunos, as estratégias adotadas para superação das possíveis dificuldades financeiras, de relacionamento interpessoal e, ainda, dificuldades acadêmicas. Para tanto, acompanhou a vida acadêmica dos estudantes, realizando entrevistas e aplicando questionários. Os dados apresentados restringem-se às entrevistas com uma estudante do curso de Nutrição que estava no 6º período e outra do curso Direito, cursando à época da entrevista, o 2º período.

As entrevistas foram direcionadas ao dia-a-dia acadêmico, questionando quais seriam as principais dificuldades enfrentadas pelas estudantes. Destacaram-se as dificuldades em relação ao acompanhamento do conteúdo das disciplinas e às relações interpessoais. As dificuldades financeiras também foram indicadas, mas seriam minimizadas pela bolsa oriunda do PROINICIAR que conforme citado, tem como objetivo apoiar o estudante cotista da UERJ de modo a garantir-lhe não só a permanência, mas também sua inserção com sucesso na vida acadêmica.

Quanto às dificuldades acadêmicas enfrentadas durante o curso, a aluna do Direito acredita que as dificuldades enfrentadas no início do curso seriam comuns a todos os alunos, independente se são cotistas ou não. Já a aluna do curso de Nutrição disse que passa por uma série de dificuldades acadêmicas, especialmente em relação à língua estrangeira. Cita, como exemplo, uma atividade de inglês em uma prova e que não conseguiu realizar. Castro (2006) aborda o tema das políticas de cotas na UERJ, partindo da premissa de que o problema não é apenas o difícil acesso à universidade, mas o da permanência na universidade.

> Para além dos procedimentos de acesso às universidade, há a necessidade de se aferir os processos de acompanhamento e avaliação dos estudantes, há a necessidade de se aferir os processos de acompanhamento e avaliação dos estudantes de cotas, colocando-se como desafio a permanência destes alunos na universidade (CASTRO, 2006, p.4).

Afirmando a importância das políticas de assistência aos estudantes, ressalta que seria necessária uma "infraestrutura material, suportes de escuta e pedagógicos para equiparar estudantes com históricos distintos, independentes de serem ou não cotistas" (CASTRO, 2006, p.10). Voltando a discussão aos "jovens afro-brasileiros" e a questão da desigualdade, afirma que uma política pública educacional, além de enfrentar os desafios da educação básica, necessitaria efetivar ações destinadas especificamente ao desempenho na universidade objetivando a constituição de uma sociedade igualitária e democrática.

> Uma política de assistência aos estudantes de cotas com monitoramento e acompanhamento de suas trajetórias acadêmicas, auxiliando-os com bolsas de estudo, cursos suplementares, alojamento e alimentação. Seria o mínimo para que as cotas não resultem em meros arroubos políticos de caráter populista. (CASTRO, 2006, p.14).

Semelhante aos estudantes da UERJ (PENHA-LOPES, 2008), os estudantes da UFG evidenciaram maiores dificuldades nos primeiros semestres dos cursos, afirmando que a situação se modificava a partir do segundo ano porque conseguiriam se adaptar à universidade. Sobre esta questão, um estudante de um curso que mobilizou menor número de cotas na UFG, diz:

> [...] me adaptei ao modo de estudar, de me dedicar mais àquelas matérias complicadas; [...] é assim, no meu curso, no primeiro período foi complicado pra mim. No primeiro período e primeiro ano. No terceiro período eu me adaptei à universidade, mas foi só por questão de estudar mesmo.

Outro estudante de um dos cursos que mobilizaram maior número de cotas, também expressa a mesma dificuldade: "Eu estou numa reta muito boa agora, tive notas baixas durante a trajetória, principalmente no início do curso, acho que por imaturidade; [...] tirando isso estou conseguindo acompanhar bem o curso e estou indo muito bem."

De forma geral, "no que tange ao desempenho acadêmico, apesar de terem sido considerados bons alunos no ensino básico, os estudantes dos cursos menos concorridos, encontraram dificuldades nos primeiros semestres do curso, não só quanto ao conhecimento, mas também quanto à metodologia de estudo (QUEIROZ, FARIA, 2012, p.11). De modo semelhante aos estudantes da UERJ (PENHA-LOPES, 2008; CASTRO, 2006), é recorrente uma comparação entre uma boa qualidade de ensino em uma escola privada e uma má qualidade de ensino em uma escola pública, que implicaria no ritmo de estudo na

universidade. Para um estudante de curso menos concorrido, por exemplo, as dificuldades de adaptação à universidade, nos primeiros períodos, seria decorrente de sua formação nesta escola:

> [...] muitas vezes o pessoal que não entra pelo sistema de cotas eles já tem um ritmo totalmente diferente, porque eles já estudam em colégio particular e tem uma preparação diferente né, que as vezes os alunos de escola pública não tem.

A má qualidade do ensino médio é recorrente, como afirma outro estudante:

> [...] a maioria das vezes a gente [...] muito, muito pouco sabe; o professor passa na sala coisa que a gente nunca nem viu. Aí, ainda pega e fala: Vocês já viram isso no ensino médio. Ai você tem que pegar o livro lá do ensino médio, e aí vê o que é aquilo entendeu?

Para o outro grupo, dos cursos mais concorridos, os relatos dos estudantes indicam dificuldades no 1º ano, mas tais dificuldades seriam mais voltadas para a metodologia de estudo na universidade do que em relação ao acompanhamento das disciplinas, conforme indica um aluno:

> Eu mesmo já levei muito tempo a faculdade de qualquer jeito, tem muita matéria que eu achei muito fácil que não estudei quase nada e acabava passando. Desde que eu melhorei um pouco minha visão eu comecei a estudar pra aprender mesmo [...]

Quanto às reprovações, todos os estudantes dos cursos menos concorridos tinham sido reprovados em pelo menos uma disciplina, ainda no primeiro ano de seus cursos, sendo que em relação ao outro grupo, apenas um afirmou: “quase reprovei por falta devido a uns problemas pessoais. Mas consegui melhorar e acabei não reprovando”. Sobre a evasão, pelo menos em um curso que mobilizou menor número de cotas, um estudante relatou um alto índice de evasão, especialmente devido às dificuldades com uma disciplina relacionada ao cálculo. Entretanto, neste caso, evadiram-se os que ingressaram por meio do sistema de cotas e aqueles que ingressaram pelo sistema universal: “hoje de minha turma acho que de trinta alunos não tem nem quinze alunos mais, saíram alunos que entraram por cotas, que não entraram por cotas. [...] dificuldade em cálculos [...]”.

Há certa diferença entre os cursos menos e mais concorridos, no âmbito da própria UFG, quando os alunos se reportam à relação professor-aluno. Por exemplo, ao dizer do interesse de participar de grupos de estudo ou de projetos de pesquisa, um estudante de curso menos concorrido, relata:

> “[...] gostaria muito de me envolver mais com um grupo de estudo; eu queria assim fazer uma pesquisa com um professor. Só que isso lá é meio complicado também [...]. É porque depende muito dos professores, e eu tenho uma certa dificuldade assim para também chegar no professor. [...] aí assim as pessoas mais persistentes as vezes tem a coragem de chegar e falar, eu já não tenho essa coragem.”

Outro estudante, graduando de um curso "mais concorrido", evidencia maior facilidade para se aproximar dos professores, ao afirmar:

> Não sou bolsista, eu sou pedinte [rsss] mostrei interesse por uma pesquisa lá e o prof. me colocou na pesquisa [...] assim, tranquilo; também, as vezes tem um professor mais apático, que não dá tanta abertura, mas vai de cada um, como o aluno 1falou. [10]

De fato, tal relação "vai de cada um", envolvendo, ainda, outros elementos que não serão discutidos aqui. Ilustra esta questão, o relato de um aluno que mesmo sendo de curso menos concorrido, afirma:

> [...] eu estou participando da universidade; estou fazendo pesquisa com um professor lá que está desenvolvendo um projeto; agora eu estou crescendo, fazendo estágio também. Aos poucos eu estou evoluindo muito, no quinto período agora, da Faculdade [...] tem até futebol com os professores de vez em quando.

Indica-se a necessidade de maior aprofundamento quanto à análise da relação professor-aluno, reconhecendo, entretanto, um limite a este estudo tendo em vista que não foi previsto, até o momento, nenhum procedimento de pesquisa destinado aos professores. Um ponto que parece aproximar os estudantes dos cursos menos concorridos da UERJ e os da UFG é que se refere às condições financeiras para a permanência na universidade. Conforme indicado na maioria dos trabalhos citados, apesar da existência do Programa PROINICIAR, os alunos explicitam dificuldades para o acesso aos bens materiais e culturais da UERJ. Em relação aos estudantes da UFG, todos deixaram os empregos para se dedicarem à formação acadêmica.

Apesar de maioria ter tido acesso à bolsa permanência e a outros serviços da universidade, explicitam claramente o desconforto por tal condição, especialmente porque com seus empregos ajudavam financeiramente suas famílias.[11] Diferentemente dos estudantes da UERJ, os estudantes da UFG, incluindo os dos cursos mais concorridos, parecem satisfeitos com os serviços da UFG.[12] Pode-se afirmar que no âmbito das ações afirmativas, as tensões e contradições vigentes numa sociedade de classes engendradas numa sociedade capitalista, repõem-se com o mesmo vigor na própria universidade, à medida que são reciprocamente determinadas, implicando um limite ao processo de inclusão.

[10] Outro estudante, do mesmo curso, participante do grupo focal.
[11] Há aqui um forte apoio familiar para que o estudante ingresse e conclua o curso na UFG. Trata-se de um projeto familiar que garantiria a longevidade escolar do estudante oriundo das chamadas classes populares (NOGUEIRA, ROMANELLI, ZAGO, 2000).
[12] Este é um ponto que está sendo aferido mediante aprofundamento do estudo.

Esta discussão, polêmica, não será realizada neste trabalho. Alerta-se para a necessidade deste estudo, pois uma educação para além do capital implica, desde a raiz, o rompimento com a lógica do próprio capital (MESZAROS, 2005). Como compreender a questão do mérito que não se subordinaria a critérios sociais à medida que as ações e práticas educativas na universidade vinculam-se intrinsecamente às relações de produção e às relações sociais correspondentes? Trata-se de um estudo necessário especialmente porque se o princípio do mérito fosse transgredido, a universidade "perderia sua própria identidade" (BRASIL, 2008).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A preocupação com a permanência dos estudantes que ingressam na universidade por meio das cotas é uma das questões mais recorrentes nos estudos e pesquisas selecionados. É consenso entre os autores que as ações afirmativas podem contribuir para a democratização da universidade pública, preservando-se a qualidade acadêmica uma vez que o mérito não se subordinaria aos critérios sociais estabelecidos para o processo seletivo.

Garantido o mérito no âmbito da igualdade de oportunidades regida pelas cotas sociais, raciais/étnicas, entre outras, estudantes até então excluídos da universidade seriam incentivados em sua formação acadêmica pela implantação de programas que ofereceriam bases materiais e culturais para sua permanência na instituição. De acordo com o estudo realizado, tais programas parecem muito incipientes. Mesmo na UERJ que está mais avançada em relação às ações específicas aos estudantes cotistas, foi possível identificar limitações significativas quanto ao acesso à biblioteca, laboratórios, entre outros.

Quanto aos estudantes da UFG que participaram dos grupos focais, evidenciou-se as dificuldades quanto ao desempenho acadêmico, especialmente no primeiro ano do curso e quanto às condições financeiras. Foi possível perceber que os alunos reconhecem os desafios enfrentados no cotidiano da instituição, quer no âmbito do conhecimento como no das relações com os professores. A má qualidade da escola pública é, sem dúvida, o ponto que mais aproxima os estudantes da UERJ e da UFG, repercutindo na trajetória acadêmica, especialmente nos primeiros períodos do curso.[13]

Pretende-se aprofundar, entre outros, o estudo sobre os pressupostos teóricos que orientam os estudos e pesquisas sobre as ações afirmativas e suas implicações para a

[13] É o que se afirma, mas é preciso aprofundamento na análise, pois sabe-se que a qualidade da educação básica está implicada na formação acadêmica.

compreensão das relações entre indivíduo e sociedade e, particularmente, apreender como estes estudos tratam as trajetórias acadêmicas dos estudantes que ingressam à UFG por meio das ações afirmativas. Trata-se de analisar criticamente os limites de tais ações engendradas numa sociedade de classes antagônicas, considerando-se, sobretudo, um dos princípios basilares da sociedade moderna: a questão do mérito no marco dos estudos acerca das desigualdades sociais e das desigualdades escolares.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ensino superior. Entenda as cotas para quem estudou todo o Ensino Médio em escolas públicas. Disponível em: <cotashttp://portal.mec.gov.br/cotas/perguntas-frequentes.html> Acesso: 1 ago. 2012.

BRASIL. MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO. UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS. Resolução CONSUNI Nº 29/2008 de 1º de agosto de 2008. Cria o Programa "UFGInclui" na Universidade Federal de Goiás e dá outras providências. Disponível em: <http://www.ufg.br/this2/uploads/files/89/Resolucao_CONSUNI_2008_0029.pdf>. Acesso em: 03 mai. 2011.

DOEBBER, M. B. Do ideário do branqueamento ao reconhecimento da negritude: biopolítica, educação e a questão racial no Brasil. Natal: **ANPEd,** GT21, Educação e relações étnico-raciais, 2011. Disponível em: http://34reuniao.anped.org.br/index.php?option=com_content&view=article&id=133:trabalhos-gt21-educacao-e-relacoes-etnico-raciais&catid=47:trabalhos&Itemid=59 Acesso em: 26 fev. 2013.

CASTRO, Alba Tereza Barroso. Estudantes de Cotas: um convite à reflexão. **Revista Virtual Textos & Contextos**, nº5, p. 1-14, novembro, 2006.

DUBET, F. **As desigualdades multiplicadas.** Ijuí: Ed. Unijuí, 2033.

_____.**O que é uma escola justa?** A escola das oportunidades. São Paulo: Cortez, 2008.

ESTÁCIO, M. A. F. Quotas, sim. Só quotas, não! Análise das ações afirmativas do tipo quotas para indígenas no Amazonas. Porto de Galinhas: **ANPEd**, GT21, Educação e relações étnico-raciais, 2012. Disponível em: http://35reuniao.anped.org.br/trabalhos/133-gt21 Acesso em: 11 mar. 2013.

GATTI, B. **Grupo focal na pesquisa em Ciências Sociais e Humanas**. Brasília: Liber Livro Editora, 2005.

LIMA, P. G. A inclusão social à universidade brasileira. Natal: **ANPEd**, GT11, 2011. Disponível em: http://34reuniao.anped.org.br/images/trabalhos/GT11/GT11-331%20int.pdf Acesso em: 27 fev. 2013.

MÉSZÁROS, I. **A educação para além do capital**. São Paulo: Boitempo, 2005.

MIRANDA, Marília Gouvea; RESENDE, Anita C. Azevedo.Igualdade, equidade e educação. In: FLORES, R.; NOVAREZ, C. (org.). **Educacion y Universidade desde la complejudad em la globalización.** Cidade do México – México: Universidade Autônoma do México – Ed. Porruá, 2009, p.201-224.

NOGUEIRA, Maria Alice, ROMANELLI, Geraldo, ZAGO, Nair. (orgs.). **Família e escola:** trajetórias de escolarização em camadas médias e populares. Petrópolis, RJ: Vozes, 2000.

PATTO, M. H. de S. **A produção do fracasso escolar:** histórias de submissão e rebeldia. São Paulo: T.A . Queiroz, 1993.

PENHA-LOPES, Vânia. Universitários cotistas: de alunos a bacharéis. In: ZONINSEIN, Jonas; FERES JÚNIOR, João (org.). *Ação afirmativa no ensino superior brasileiro*. Belo Horizonte: Editora UFMG; Rio de Janeiro: IUPERJ, 2008.

PINTO, Paulo Gabriel Hilu da Rocha. *Ação Afirmativa, Identidades e Práticas Acadêmicas: Uma Etnografia das Cotas Para Negros na UERJ.* S/D. Disponível em: http://sites.multiweb.ufsm.br/afirme/docs/Artigos/es03.pdf Acesso em 5 abril 2013.

QUEIROZ, E. M. O. de. e FARIA, G. G. G. de. F. Ações afirmativas e trajetórias escolares: com a palavra os sujeitos. Porto de Galinhas: **ANPEd**, GT20, Psicologia da Educação, 2012, 35ª Reunião Anual. Disponível em: http://35reuniao.anped.org.br/trabalhos/131-gt20 Acesso em: 12 mar. 2013.

SEVERINO, A. J. **Metodologia do trabalho científico**. São Paulo: Cortez, 2000.

SILVA, Patrícia Costa Pereira Da. Cotidiano ou cotidianos? *Percepções de duas alunas cotistas*. GT 21. Educação e Relações Étnico-Raciais, 2010. 33ª Reunião Anual. Disponível: http://www.anped.org.br/33encontro/app/webroot/files/file/P%C3%B4steres%20em%20PDF/GT21-6281--Int.pdf Acesso em: 01 abril 2013.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO DE JANEIRO. Institucional – Sistema de cotas. Disponível: http://www.uerj.br/institucional/ Acesso em: 1 ago. 2013.

URQUIZA, A. H. A.; BRAND, A. J; NASCIMENTO, A. C. Acadêmicos Indígenas em Mato Grosso do Sul – Saberes Tradicionais e as lutas por autonomia de seus povos. GT11, Política de Educação Superior, 2011, 34ª Reunião Anual.

VALENTIM, Daniela Frida Drelich. Ex-alunos negros cotistas da UERJ: o que dizem sobre suas relações com os professores. XVI Endipe. UNICAMP. Campinas, 2012.

Materiais Híbridos Luminescentes à base de Silicona Sobre Fibras Têxteis: Propriedades e Aplicações.

Paulo Alves da Costa Filho (IC)*,[1], Tatiana Duque Martins(PQ)[1]

[1]*Universidade Federal de Goiás - UFG, Instituto de Química, Caixa Postal 131, CEP 74001-000 – Goiânia/GO - Brasil.*

*email: pauloacff@hotmail.com

Resumo: A silicona pode ser modificada com moléculas luminescentes através de reações de hidrossililação dando origem a um novo material que possui diversas aplicações. Uma delas é empregá-las como revestimento de fibras têxteis para confecção de roupas esportivas ou EPI's, outra aplicação é como camada ativa em dispositivos eletroluminescentes. As fibras têxteis utilizadas neste trabalho foram o nylon e a viscose. Para a verificação das propriedades mecânicas deste material aderido às fibras foram realisados testes de resistência a solventes e análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Já com foco na aplicação em dispositivos eletroluminescentes a análise da fluorescência deste material foi realizada, com o material depositado sobre vidro e sobre eletrodo de óxido de estanho e índio (ITO). Verificou-se que a respota óptica do material é determinada pela ligação da silicona ao material luminescente e que ela informa sobre a microestrutura do material viscoelástico ou vítreo, obtido após a cura da silicona pelo processo de hidrossililação. Além disso, a microscopia eletrônica de varredura evidencia que sua adesão é diferente em cada fibra.

Palavras-Chave: Silicona, hydrossililação, nylon, viscose, ITO.

Introdução

Diferentes materiais podem ser misturados para se obter um novo material que una as propriedades de seus precursores. Os polissiloxanos ou siliconas são polímeros inorgânicos muito utilizados na indústria devido a suas propriedades mecânicas, resistência térmica, elétrica e química e alta flexibilidade. A esse polímero pode-se adicionar corantes luminescentes para se obter um novo produto que sirva como revestimento de tecidos para roupas esportivas ou EPI's ou revestimento de dispositivos eletroluminescentes e participante da camada ativa de células solares.

A modificação da silicona se dá através de processos de cura, dentre eles a hidrossililação. Neste processo, compostos vinílicos orgânicos ou inorgânicos contendo insaturações são adicionados à cadeia polimérica contendo hidretos de silício (figura 1)[1].

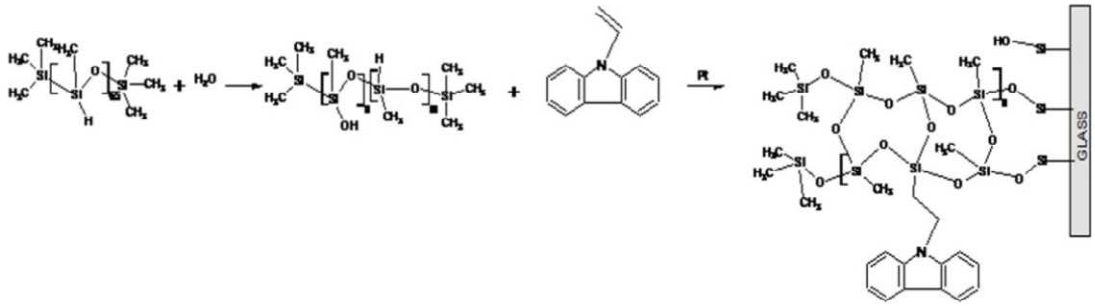


Figura 1: Esquema de reação de hidrossililação[1].

Ao contrário da policondensação hidrolítica e da abertura do anel por polimerização, a reação de hidrossililação se processa em meio neutro, é um processo 'puro' (não há utilização de HCl, que ocorre na policondensação), possibilitando a adição de compostos sensíveis a ácidos fortes. Dessa forma, é possível a adição de uma maior variedade de compostos ao polissiloxano[1].

O mecanismo mais aceito para a reação de hidrossililação foi proposto por Chalk e Harrod, e baseia-se num ciclo catalítico envolvendo a adição oxidativa da ligação Si-H ao centro metálico e eliminação redutiva do produto, conforme representado na Figura 2[2].

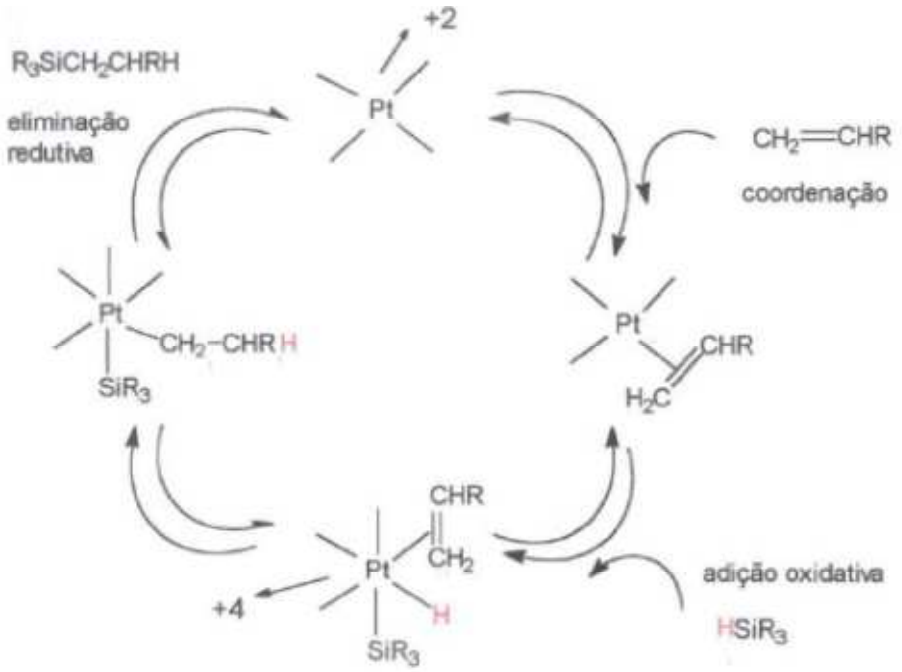


Figura 2: Ciclo catalítico para a reação de hidrossililação proposta por Chalk e Harrod.

Este polímero luminescente desenvolvido encontra diversas aplicabilidades, e uma delas é a revestimento de fibras como o nylon e viscose. O nylon é um polímero (Figura 3) que possui boas propriedades físicas, boa resistência térmica e excelente resistência química[3].

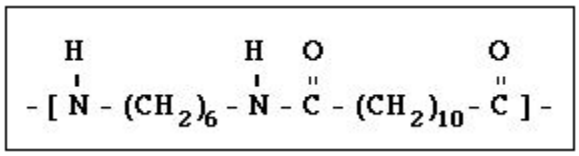


Figura 3: Estrutura química do nylon[4].

Já a viscose é uma fibra artificial obtida a partir da celulose (figura 4)[5]. A viscose é sensível aos ácidos aumentando a degradação com a concentração e a temperatura da solução, é razoavelmente resistente, mas sua resistência é reduzida quando está molhada.

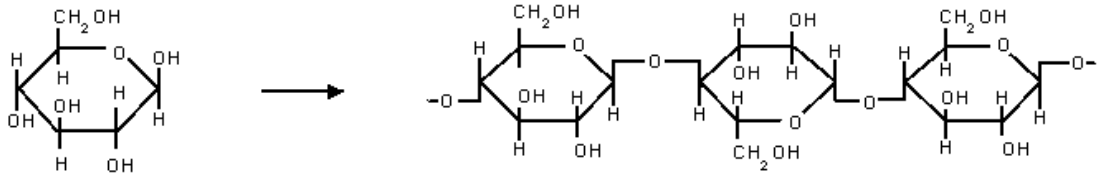


Figura 4: Esquema simplificado de obtenção da viscose.

Outra aplicação deste material é ancorá-lo em eltrodos de ITO (óxido de estanho dopado com índio [6]) para uso em dispositivos eletroluminescentes e como participante da camada ativa de células solares. Os eletrodos de ITO são finas películas trasperesntes condutoras de eletricidade que podem ser depositadas em vidros.

O objetivo deste trabalho foi modificar a silicona com um corante luminescente através de reações de hidrossililação. O material foi aderido a fibras de viscose e nylon e a eletrodos de ITO. As propriedades mecânicas deste material aderido à fibras foram estudadas através de testes de resistência a solventes e utilizou-se análises de microscopia para verificar a adesão do mesmo,assim como estudou-se a luminescência do material em eletrodos de ITO.

Metodologia

Para o preparo da silicona modificada utilizou-se o polissiloxano e o corante Poli[(9,9-dioctil-fluorenil-2,7-diil)-alt-co-(9,9-di-(5-pentanil)-fluorenil-2',7'-diil)] ADS-American Dye Source. Como catalisador foi utilizada a platina complexada em diviniltetrametildissiloxano (catalisador de platina, 3-3,5% concentração de platina em poli (dimetilsiloxano)-vinil, Dow Corning. Como solvente foi utilizado Clorofórmio da Labisynth produtos para laboratórios LTDA e foram utilizadas fibras de viscose e filmes de nylon 6,12.

A modificação do polissiloxano ocorreu concomitante à adição das fibras. O polissiloxano foi colocado em recipientes de Teflon®, para sua pesagem. Ao silicone adicionou-se algumas gotas de solução de corante, preparada com corante sólido dissolvido em clorofórmio. À essa mistura adicionou-se as fibras de viscose ou de nylon. Posteriormente, a platina foi diluída em clorofórmio e adicionada ao recipiente de Teflon® sob atmosfera de nitrogênio.

Os testes de resistência a solventes foram realizados no filme de nylon e silicone, filme de viscose e silicone, viscose "pura" e nylon "puro". Cada teste foi feito com três solventes: água, etanol e clorofórmio; sendo realizados testes para solventes líquidos e testes no vapor dos solventes. Também, realizou-se testes em ácido clorídrico.

Nos testes em solventes líquidos pesou-se as amostras secas. Mergulhadas nos solventes, as amostras foram deixadas em um frasco com tampa. Após cerca de 2 horas, foram secas para tirar o excesso de líquido e pesadas; essa pesagem foi repetida em intervalos de tempo de 15 minutos, 30 minutos, 1 hora e 2 horas. As amostras foram colocadas na estufa a 60ºC, em um vidro de relógio, por cerca de 48 horas. Após esse tempo foram pesadas.

Nos testes em vapor de solventes pesou-se as amostras secas. As amostras foram mergulhadas nos solventes e deixadas em um frasco com tampa. Em um pesa filtro, colocou-se aproximadamente 10% de solvente e com um fio suspenso na boca do pesa filtro colocou-se a amostra. Isso foi feito por aproximadamente 2 horas. Retirou-se a amostra e pesou-se imediatamente depois, 15 min, 30min, 1 h e 2h. As amostras foram colocadas na estufa a 60ºC, em um vidro de relógio, por cerca de 48 horas. Após esse tempo foram pesadas.

Os testes com ácido foram realizados nas quatro amostras. Pesou-se as amostras secas. Mergulhadas em ácido permaneceram por 30 min. As amostras foram retiradas do ácido, secas para retirar o excesso de solvente. Através de análises de infravermelho, verificou-se alterações na estrutura decorrentes do ataque ácido.

A adesão da silicona modificada com PFO às fibras de viscose e nylon foi verificado através de testes de resistência a solventes utilizando frascos de vidro com tampa, fita veda rosca, etanol da Labisynth produtos para laboratórios LTDA, clorofórmio da Labisynth produtos para laboratórios LTDA, ácido clorídrico e água destilada, balança analítica. Além disso, foram realisadas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram realisadas no Laboratório multiusuário de microscopia de Alta Resolução (LABMIC/UFG) em equipamento modelo JSM – 6610 da marca JEOL equipado com EDS, ThermoScientific NSS Spectral Imaging.

A silicona ainda líquida foi depositada em camadas de ITO ativadas suportada em vidro ou PET. A essa superfície, adicionou-se gotas de solução de corante, solução de catalisador e manteve-se esse sistema sob atmosfera de nitrogênio. Assim, o silicone reticulou na superfície de ITO.

Além disso, testes de adesão foram realizados na superfície de ITO com a silicona reticulada, baseando-se nos métodos aplicados por Chadha[7], em que a fratura, o estresse e fricção foram avaliados e comparados a uma escala intuitiva de adesão de modo a fornecer qualitativamente, a força de adesão do polissiloxano à superfície do ITO.

Para a caracterização espectroscópica do material híbrido foram utilizadas as técnicas espectroscópicas de IV e de UV/Vis, realizadas nos equipamentos Perkin elmer Precisely Spectrum 400 e Perkin elmer Precisely Lambda 45, respectivamente, pertencentes à Central Analítica do IQ- UFG e medidas de espectros de excitação e fluorescência em condições fotoestacionárias foram realizadas em equipamento Fluorolog Horiba com lâmpada de Xe de 450 W de potência, pertencente ao Grupo de Materiais e Cristalografia do IF- UFG.

Resultados e discussão

Em um trabalho anteriormente desenvolvido[8], estudou-se através de técnicas espectroscópicas as propriedades luminescentes do novo material desenvolvido, constituído de silicona, corantes e fibras. Testes mecânico-morfológicos foram necessários para a compreensão da natureza das interações entre a silicona e as fibras e para a avaliação das melhorias obtidas. Os primeiros testes realizados foram de resistência a solventes.

Em água líquida, as massas das quatro amostras apresentaram alterações ao longo do teste (Tabela 1). Já no etanol líquido, a alteração das massas ao longo do teste foi maior nos filmes que nas fibras puras (Tabela 2), como os filmes são preparados com silicona, isso indica uma possível afinidade da silicona a esse solvente. O mesmo comportamento apresentado para o etanol pode-se observar para o clorofórmio líquido (Tabela 3). Para os três testes em solventes líquidos, após a estufa, a massa das amostras apresentou um pequeno decrescimento em relação à massa inicial, havendo uma secagem, o que indica uma possível afinidade das amostras a umidade do ambiente.

Tabela 1: Pesagens das amostras durante a realização de testes de resistência a solventes – Água líquida

Massas	Seco	Depois	15min	30min	1h	2h	Estufa
Sil-Vis	0,12151	0,12970	0,12345	0,12172	0,12142	0,12122	0,11955
Sil-Nyl	0,09544	0,11506	0,10834	0,10486	0,10102	0,09733	0,09494
Viscose	0,00702	0,01378	0,01213	0,01084	0,00882	0,00717	0,00717
Nylon	0,01982	0,02002	0,01985	0,01986	0,01985	0,01983	0,01983

Tabela 2: Pesagens das amostras durante a realização de testes de resistência a solventes – Etanol líquido

Massas	Seco	Depois	15min	30min	1h	2h	Estufa
Sil-Vis	0,09868	0,14003	0,13627	0,12372	0,09764	0,09710	0,09703
Sil-Nyl	0,07771	0,12757	0,11309	0,10618	0,07941	0,07806	0,07749
Viscose	0,00755	0,00765	0,00762	0,00765	0,00762	0,00757	0,00731
Nylon	0,00689	0,00703	0,00697	0,00695	0,00696	0,00695	0,00684

Tabela 3: Pesagens das amostras durante a realização de testes de resistência a solventes – Clorofórmio líquido

Massas	Seco	Depois	15min	30min	1h	2h	Estufa
Sil-Vis	0,24951	0,33814	0,31740	0,25696	0,25670	0,25634	0,23585
Sil-Nyl	0,03768	0,05034	0,03796	0,03714	0,03710	0,03697	0,03650
Viscose	0,00686	0,00682	0,00680	0,00685	0,00683	0,00678	0,00657
Nylon	0,02184	0,02232	0,02232	0,02232	0,02226	0,02216	0,02177

Para os testes no vapor dos solventes (Tabelas 4, 5 e 6) o mesmo comportamento das amostras quando em solvente líquido pôde ser observado. O silicone apresentou afinidade ao etanol e ao clorofórmio e o silicone apresentou afinidade com a umidade ambiente.

Tabela 4: Pesagens das amostras durante a realização de testes de resistência a solventes – Vapor de água

Massas	Seco	Depois	15min	30min	1h	2h	Estufa
Sil-Vis	0,33422	0,33537	0,33514	0,33492	0,33458	0,33461	0,33362
Sil-Nyl	0,12062	0,12095	0,11891	0,11876	0,11855	0,11345	0,11315
Viscose	0,00497	0,00504	0,00502	0,00496	0,00492	0,00502	0,00487
Nylon	0,00395	0,00393	0,00395	0,00392	0,00397	0,00400	0,00396

Tabela 5: Pesagens das amostras durante a realização de testes de resistência a solventes – Vapor de etanol

Massas	Seco	Depois	15min	30min	1h	2h	Estufa
Sil-Vis	0,15434	0,14695	0,14594	0,14505	0,14465	0,14326	0,14165

Sil-Nyl	0,02466	0,02460	0,02451	0,02442	0,02421	0,02401	0,02364
Viscose	0,00521	0,00540	0,00532	0,00530	0,00528	0,00526	0,00512
Nylon	0,02493	0,02541	0,02525	0,02525	0,02526	0,02523	0,02485

Tabela 6: Pesagens das amostras durante a realização de testes de resistência a solventes – Vapor de clorofórmio

Massas	**Seco**	**Depois**	**15min**	**30min**	**1h**	**2h**	**Estufa**
Sil-Vis	0,11915	0,16484	0,14457	0,13572	0,12460	0,11124	0,11530
Sil-Nyl	0,02804	0,02916	0,02790	0,02783	0,02787	0,02780	0,02717
Viscose	0,00755	0,00765	0,00759	0,00762	0,00763	0,00765	0,00742
Nylon	0,02087	0,02105	0,02102	0,02102	0,02101	0,02101	0,02069

Em ácido acético as massas das amostras quase não sofreu alteração antes e depois do teste (Tabela 7). A força ácida do ácido acético não foi suficiente para alterações nas estruturas dos materiais. Dessa forma teste com ácido mais forte foi necessário, sendo escolhido o ácido clorídrico. Foram feitas análises de infravermelho das amostras submetidas ao teste com ácido clorídrico para a detecção de possíveis mudanças na estrutura (figura 5).

Tabela 7: Pesagens das amostras durante a realização de testes de resistência a solventes – Ácido líquido

Massas	**Antes do ácido**	**Depois do Ácido**
Sil-Vis	0,13066	0,12404
Sil-Nyl	0,03085	0,02797
Viscose	0,00726	0,00725
Nylon	0,02261	0,02288

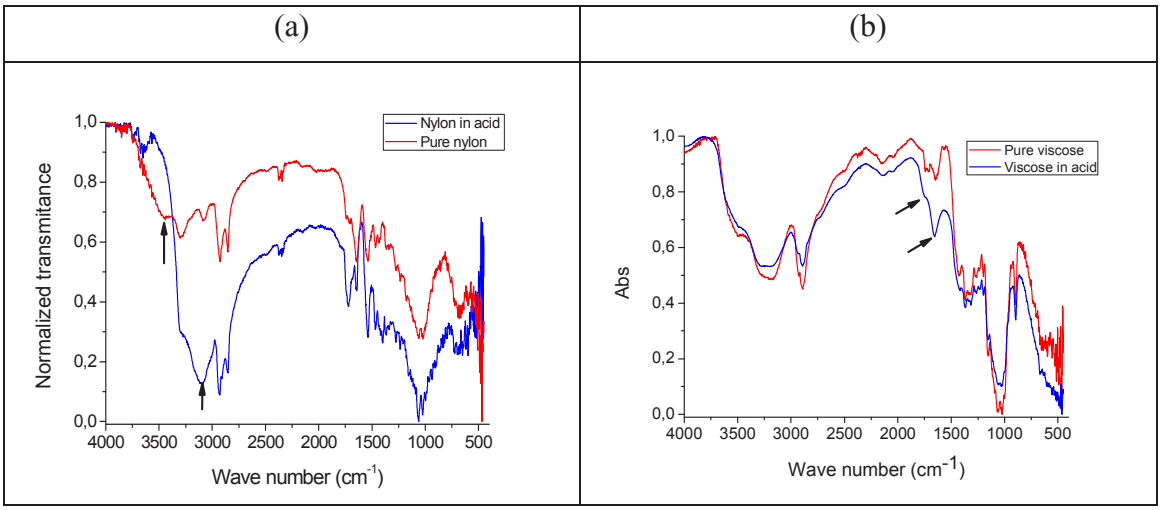


Figura 5: Espectros de infravermelho: (a) Nylon, (b) Viscose

O espectro de infravermelho do nylon (Figura 5) apresentou alterações quando o material foi analisado antes e depois da exposição ao ácido. A primeira alteração mais significativa foi na banda destacada com a seta. Esta banda, por volta de 3456 cm $^{-1}$ [8], corresponde a alcoóis e fenóis em ligação intermolecular. A outra alteração foi por volta 3101 cm $^{-1}$ [8], o que corresponde alcoóis e fenóis em ligações intermoleculares. No espectro da viscose (Figura 5), as alterações mais siginificativas foram em 1744 e 1650 cm $^{-1}$ [8], o que corresponde a alqueno. Com base na estrutura do nylon e da viscose, essas alterações são resultado do ateque ácido, principalmente, às hidroxilas presentes nas moléculas.

Com as análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi possível verificar a adesão das fibras ao silicone. O silicone é amorfo (figura 6), o nylon apresenta algumas fibras, porém também é amorfo (figura 7), e a viscose apresenta-se toda em fibras (figura 8).

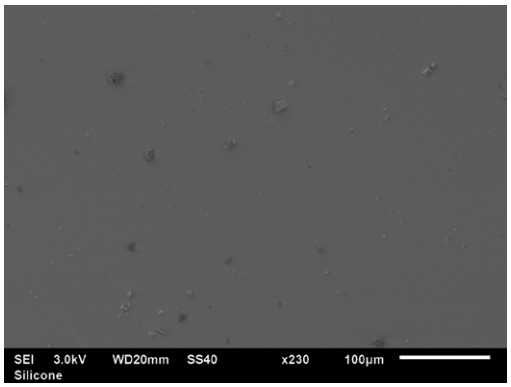


Figura 6: Imagem obtida através de MEV do filme de silicona reticulada.

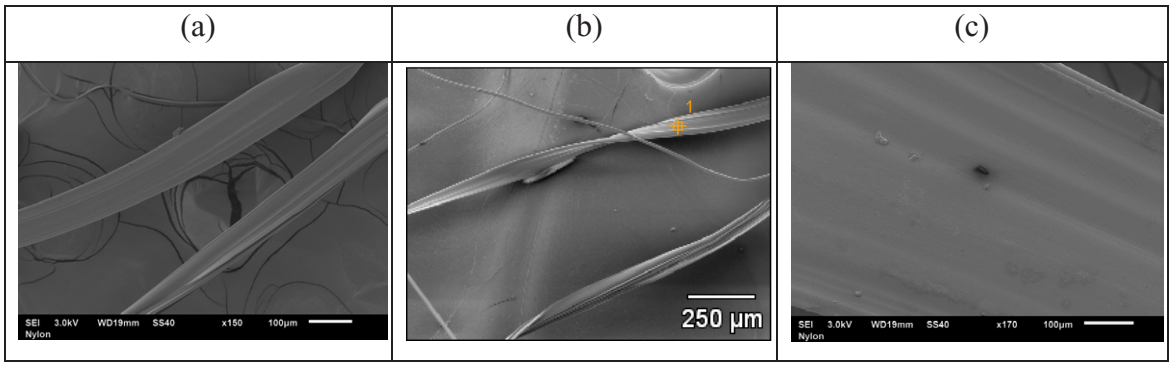


Figura 7: Imagens obtida através de MEV do nylon: (a) e (b) fibras e (c) amorfo.

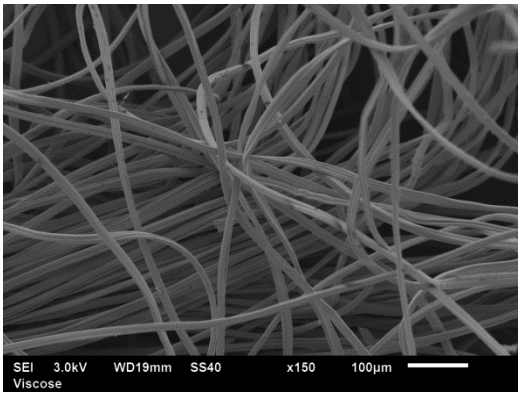


Figura 8: Imagem obtida através de MEVda viscose.

As imagens do nylon aderido à silicona (Figura 9) mostram que a adesão é eficiente, visto que o espaço entre as fibras e o polímero é pequeno. A silicona revestiu bem a fibra, o que pode ser observado na figura 5-c. Já a adesão da viscose à silicona (figura 10) não foi tão eficiente quanto o nylon. O espaçamento entre as fibras e o polímero foi maior em relação ao nylon.

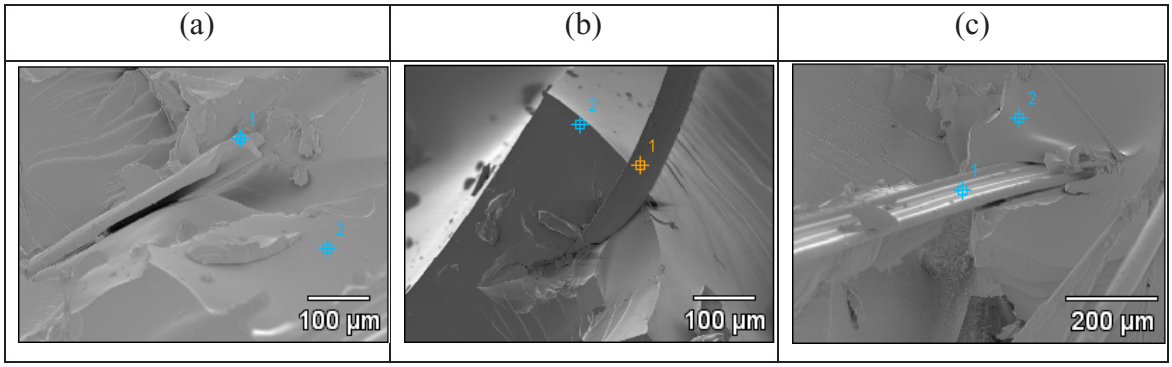


Figura 9: Imagens obtidas através de MEV para o filme de nylon com silicona.

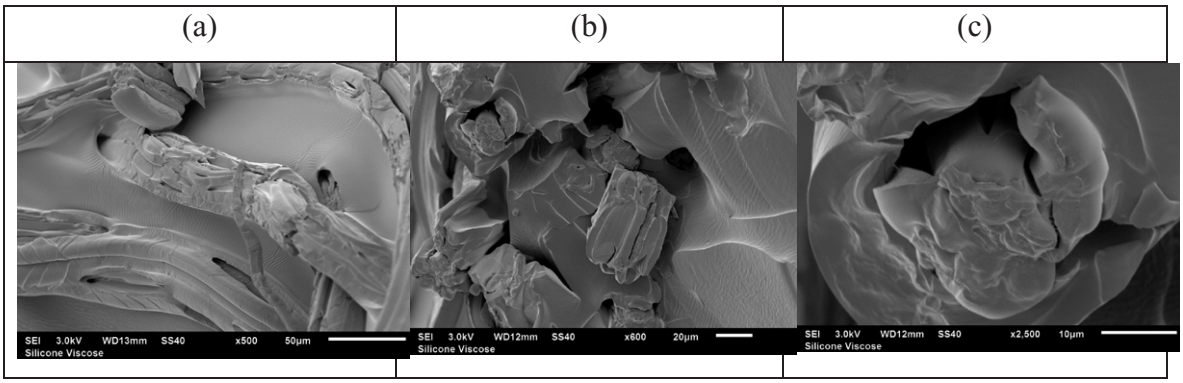


Figura 10: Imagens obtidas através de MEV da viscose revestida com silicona.

Análises de composição realizadas nas amostras de nylon e viscose foram necessárias para identificar os elementos presentes nos pontos analisados, com base na estrutura química de cada composto ele pode ser determinado. Os gráficos gerados (figura 11) por estas análises se assemelham para todos os filmes analisados, ou seja, é um dado reprodutível. A seguir tem-se o gráfico de composição para a figura 9-b. Assim, nas imagens da figura 9, os pontos marcados em 1(Base(6)_pt1) correspondem ao nylon e em 2 (Base(6)_pt2) à silicona. A caracterização mais evidente é a da inversão das intensidades dos picos de Carbono e de Oxigênio, identificando a viscose como a amostra com mais oxigênio.

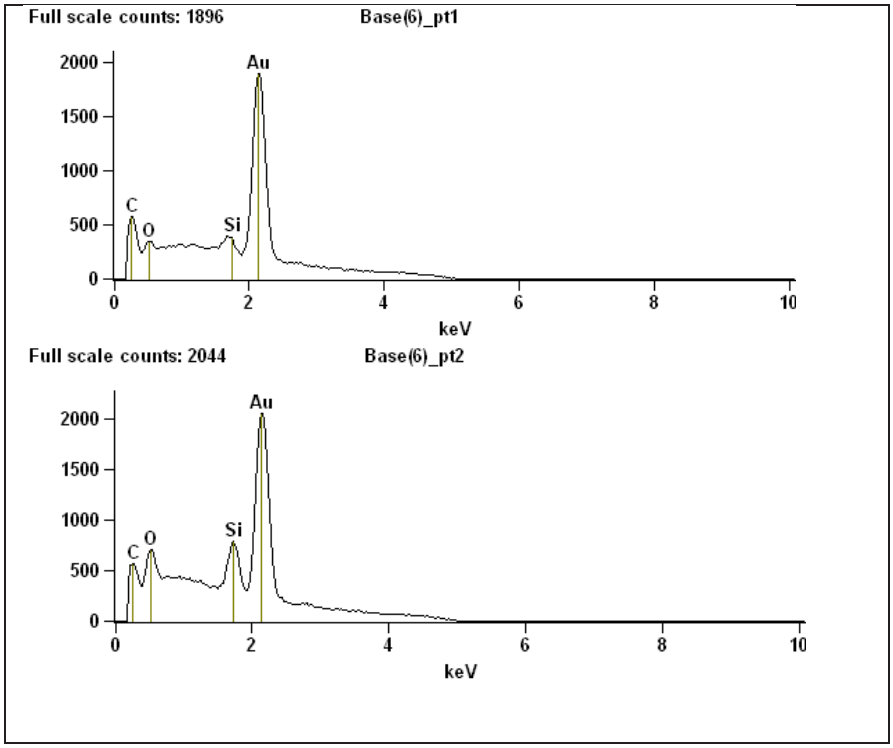


Figura 11: Gráficos gerados pela análise de composição das imagens de MEV, do filme de nylon e viscose revestidos por silicona.

A camada de ITO coberta por silicona reticulada não emite luz na região do UV-Vis. Assim, a emissão ocorre devido à modificação da silicona com o corante PFO (figura 12). Há uma similaridade na estrutura espectral entre PFO puro e Sil-PFO. O espectro de excitação de Sil-PFO é alargado e deslocado para a região mais energética (*blue-shift)* quando comparado ao do PFO em solução, a fluorescência também é deslocada (*blue-shift)* com a funcionalização.

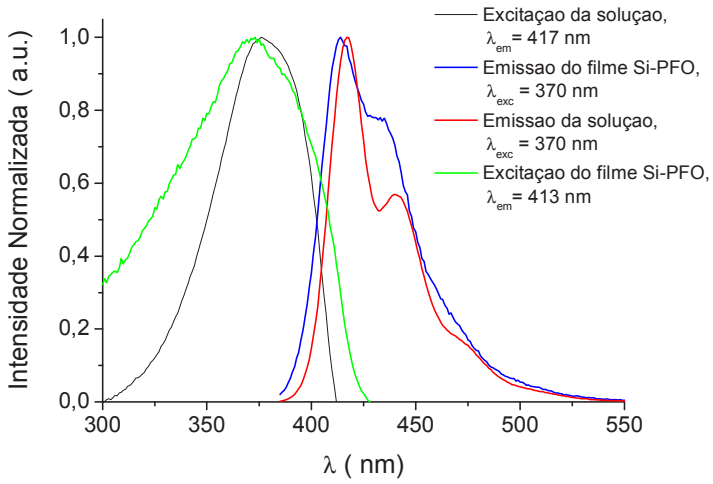


Figura 12: Fluorescência da solução de PFO 10^{-7}M e do filme Sil-PFO

No teste de fratura, o suporte de vidro foi fraturado e as partes lentamente separadas, de modo que o filme de silicona sobre ele sofresse peeling. Como não houve peeeling e sim fratura do filme sobre as partes do eletrodo com a aplicação da força, na escala de adesão (figura 13), o filme estava bem aderido.

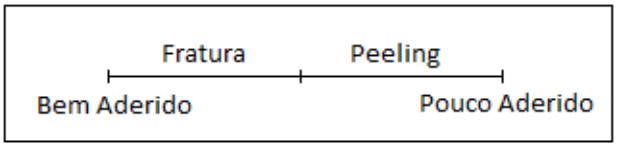


Figura 13: Escala de adesão.

No eletrodo de ITO sobre PET, o peeling foi observado quando da aplicação de estresse, promovendo-se a curvatura do polímero/matriz e, como houve necessidade de

múltiplas curvaturas para que o peeling fosse eficaz, o filme foi considerado, novamente, fortememte aderido ao ITO.

A fricção do filme de silicona sobre a superfície de ITO suportado em vidro foi procedida com o auxílio de um estilete. Como escamas do polímero foram facilmente removidas, mas a total remoção até atingir a superfície do eletrodo só foi alcançada após uma série de 15 fricções, a adesão à supercífie foi avaliada como forte. No entanto, as camadas de silicona sobre silicona não são fortemente aderidas umas às outras, por isso a escamação mais fácil.

Conclusões

Em trabalho anteriarmente desenvolvido[9], modificou-se a silicona com corantes luminescentes. Através de análises de fluorescência, verificou-se que essa modificação foi bem sucedida uma vez que o novo material apresentava as mesmas prropriedades luminescentes do corante. Dessa forma, a modificação através de reações de hidrossililação foi uma forma adequada de realizar a modificação.

Quando esse material desenvolvido foi aderido a fibras têxteis, as mesmas características luminescentes foram preservadas, uma vez que o espectro de luminescência deste material aderido preservou as características do fluoróforo puro. Assim, o material não sofreu alterações em suas propriedades luminescentes quando aderido a fibras.

A aplicação dos materiais nas fibras foi verificada através de testes de resistência a solventes e de técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Com os testes de resistência a solventes pode-se constatar o comportamento do material diante de meios líquidos diferentes. O material híbrido formado apresenta afinidade a solventes polares e apolares, como clorofórmio e etanol. Além disso, a umidade ambiente já é suficiente para que o material sofra alterações em sua massa. O material não é sensível a ácidos fracos, mas quando exposto a ácidos fortes apresenta alterações estruturais.

As análises de MEV foram necessárias para se verificar a adesão do material às fibras. As imagens mostram espaços maiores entre as fibras de viscose e a silicona que entre as fibras de nylon e a silicona, desta forma, o material híbrido apresenta uma maior aderência ao nylon que à viscose.

A fluorescência do filme de SIL-PFO emite luz na região do UV-Vis bastante similar à observada para o corante isolado. Como o material (silicona) antes opticamente inativo passou a ter resposta óptica bem definida e apresenta características

mecânico-morfológicas que podem ser controladas por processos de cura, levando a um material vítreo ou viscoelástico, dependendo das condições de preparo, conclui-se que ele pode ser uma boa alternativa para atuar como camada ativa de dispositivos.

Os testes de adesão ao eletrodo de ITO evidenciaram ser este um revestimento de boa aderência, maleável, se adaptando a dispositivos rígidos e flexíveis.

Considerações finais

A silicona modificada preserva as características da silicona e do material luminescente. Quando aderida em determinados tipos de fibras apresenta boa aderência e resistência a solventes. Testes mecânicos adaptados também revelaram, qualitativamente, fortes forças de adesão entre a silicona e o ITO suportado tanto em PET quanto em vidro. No teste de estresse realizado nas amostras suportadas em PET, também ficou evidenciada a capacidade do filme de silicona reticulado de se moldar à forma do suporte e de se moldar mesmo a brucas curvaturas do suporte, sofrendo peeling após sucessivas curvaturas.

Deste modo, os testes mecânicos e químicos mostraram que o material luminescente à base de silicona, além de possuir as vantagens da resposta óptica, objeto de estudo do trabalho a que este era continuidade, também possui características mecânico-morfológicas bastante adequadas para as aplicações propostas a que este material se destina.

Referências

[1] Matisons, J.; Marciniec, B., *Hidroslylation – A Comprehensive review on Recent Advances*. Poland, Springer, 2009. 408 p.

[2] Chalk, A. J., Harrod, J. F., *Homogeneous Catalysis, 2 Mechanism of Hydrosilation of Olefins Catalyzed by Group 8 Metal Complexes*, J. Am. Chem. Soc., 87, 16, 1965

[3] San Diego Pastics, INC. Acessado em 03/09/2012. Disponível em: <http://www.sdplastics.com/nylon.html>

[4] Polimer Processing. Acessado em 03/09/2012. Disponível em: <http://www.polymerprocessing.com/polymers/PA612.html>

[5] Tex site.info. Acessado em 03/09/2012. Disponível em: <http:/inovaç/pt.texsite.info/Fibra_de_viscose>

[6] Inovação tecnológica. Acessado em : 01/06/2013. Disponível em: <http://www.inovacaotecnologica.com.br/noticias/noticia.php?artigo=eletrodos-transparentes-eletronicos-flexiveis&id=010110110106>

[7] Chadha, H. S., *Quantitative Evaluation Of Thin Film Adhesion Using The Probe Test*,Virginia Polytechnic Institute and State University, Dissertação de Mestrado, 2006

[8] Pavia, D. L., et al. Introdução a Espectroscopia. Ed. Gengage, 2010, 716 p.

[9] Costa Filho, P. A., Martins, T. D. *Materiais híbridos luminescentes à base de Silicona sobre fibras têxteis: Desenvolvimento e propriedades.* In: CONPEEX: Congresso de ensino, pesquisa e extensão –. 9, 2012, Goiânia. Anais. Universidade Federal de Goiás. 2012. p.4050-4063

POTENCIAL DE TRANSFERÊNCIA DE SEDIMENTOS DA REDE HIDROGRÁFICA DO ALTO RIO ARAGUAIA, POR MEIO DE PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS

Paulo Eduardo Gonçalves (orientando)[1]

Márcio Henrique de Campos Zancopé (orientador)[2]

Instituto de Estudos Sócio-Ambientais – IESA

[1] pauloeg.geoambiental@gmail.com

[2] zancope@iesa.ufg.br

Resumo

Nos últimos anos tem-se verificado um aumento da carga do leito no trecho do médio curso do rio Araguaia. Diferentes origens estão interligadas para o agravamento desse quadro, onde desmatamento e práticas agrícolas são apontados como principais causas do relativo crescimento no número de processos erosivos e consequente lançamento de detritos na rede de drenagem. Diante dessa situação, este trabalho tem por objetivo, avaliar o Potencial de Transferência de Sedimentos das sub-bacias do alto curso Rio Araguaia e apontar trechos da sua rede hidrográfica suscetíveis a assoreamentos. Potencial baixo de transferência de sedimentos indica capacidade baixa de transporte, por consequência, suscetibilidade elevada de assoreamento dos cursos fluviais. Os potenciais de transferência foram determinados, em ambiente SIG, por meio do cruzamento de paramentos morfométricos da rede de drenagem: densidade hidrográfica (Dh), densidade de drenagem (Dd), extensão do percurso superficial (Eps) e gradiente fluvial (Gd). Admitiu-se que sub-bacias com a combinação de valores reduzidos de Dd, Dh e Gd e valores elevados de Eps possuem potencial baixo de transferência de sedimentos, enquanto que sub-bacias com valores elevados de Dd, Dh e Gd e valores reduzidos de Eps possuem potencial baixo de transferência de sedimentos. O estudo das formas dos perfis longitudinais permitiu apontar que tais potenciais não são uniformes em cada sub-bacia, indicando trechos suscetíveis ao assoreamento da carga sedimentar. A bacia do alto Rio Araguaia apresentou 3 sub-bacias com potencial médio-baixo de transferência de sedimentos, 3 sub-bacias com potencial médio, 2 com médio-alto e 4 sub-bacias com potencial alto.

Palavras-chave: capacidade de transporte fluvial, assoreamento, perfil longitudinal.

1. INTRODUÇÃO

No trecho do médio curso do Rio Araguaia, entre as cidades goianas de Aragarças e Luiz Alves, foi verificado o aumento de 31% da carga do leito (fundo) no período de 1965 a

1998 (LATRUBESSE et al., 2009). Significa que a carga passou de 6,6 milhões de toneladas de sedimentos em 1965 para 8,8 milhões de toneladas em 1998. Este aumento estaria ligado a resposta do sistema fluvial do Rio Araguaia ao desmatamento do Cerrado e a práticas agrícolas não-conservacionistas durante o mesmo período. Essas ações teriam intensificados os processos erosivos nas vertentes, lançando maior quantidade de detritos nos afluentes do alto curso do Rio Araguaia, os quais acabariam sendo transportados para o médio curso.

Cabe mencionar que, Aquino, Stevaux e Latrubesse (2005) observaram comportamentos morfohidráulicos distintos entre o alto e médio curso do Rio Araguaia. O alto curso escoa sobre leito rochoso enquanto que o médio Araguaia escoa sobre aluviões de extensa planície, demonstrando a suscetibilidade para mudanças nos mecanismos de transporte e/ou deposição da carga sedimentar.

De fato, há ocorrência elevada de focos de erosão acelerada na região da bacia do alto curso do Rio Araguaia (BORGES; et al., 2009; OLIVEIRA; CASTRO, 2005; MARINHO; CASTRO; CAMPOS, 2006). Tais focos de erosão acelerada são resultado do conflito (discordância) entre os condicionantes físico-naturais (solos arenosos, vertentes longas e convergentes dos fluxos hídricos superficiais e subsuperficiais e pluviosidade concentrada na estação chuvosa) e o manejo agrícola. As incompatibilidades entre a capacidade de uso ou aptidão agrícola e o manejo empregado pelos empreendimentos agropecuários desencadearam a ocorrência elevadas de processos erosivos acelerados na bacia do alto curso do Rio Araguaia (CASTRO, 2005).

Este artigo apresenta uma avaliação do Potencial de Transferência de Sedimentos da rede hidrográfica do alto curso do Rio Araguaia e aponta trechos dos cursos fluviais suscetíveis ao assoreamento. O Potencial de Transferência de Sedimentos indica a capacidade de uma rede de drenagem em transportar sua carga sedimentar de montante para jusante (ZANCOPÉ; BAYER, 2012). Uma sub-bacia cuja rede de drenagem possui um potencial baixo de transferência de sedimentos tem capacidade baixa de transporte, estando suscetível a depositar sua carga sedimentar ao longo dos cursos d'água, causando assoreamentos. Tal avaliação ajuda verificar se os rios do alto curso do Rio Araguaia possuem condições de transportar os sedimentos, resultantes dos processos erosivos acelerados, até o médio curso, de modo a corroborar a hipótese (LATRUBESSE et al., 2009) de que o aumento da carga do leito deste trecho está ligado aos processos erosivos acelerados da bacia do alto curso. As sub-bacias com potencial baixo de transferência de sedimentos não colaboram com o aumento da carga do médio Araguaia, revelando estarem suscetíveis a ocorrência de assoreamentos em sua rede de drenagem.

2. METODOLOGIA

2.1. ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo encontra-se no sudoeste goiano, região da Bacia do Alto Rio Araguaia, a montante da confluência do Rio Babilônia, no município de Santa Rita do Araguaia (Figura 1). As sub-bacias a montante desta confluência, compreende as seguintes coordenadas geográficas: 17°13'S e 53°09'W (Araguaia-Babilônia) e 18°02'S e 53°04'W(nascente do Araguaia). É importante observar que a área de estudo não compreende toda a região da Bacia do Alto Araguaia, mas somente os cursos d'água e as sub-bacias da margem direita, ou seja as sub-bacias goianas. Explica-se a escolha em razão deste estudo estar vinculado a um projeto de pesquisa apoiado financeiramente pela Fapeg, cujo edital faz tal restrição.

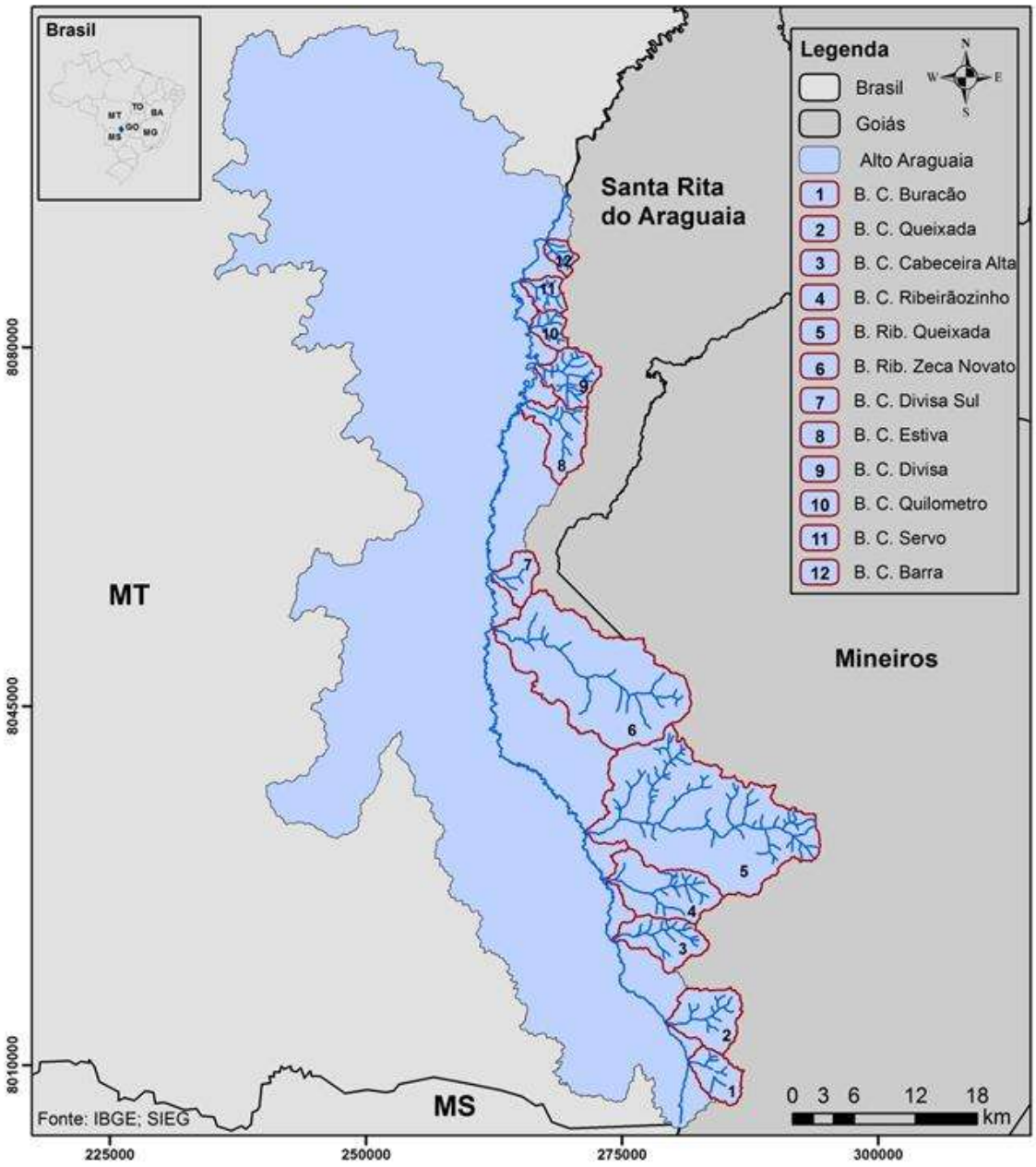
Essa região é conhecida por apresentar um relevo predominante de colinas baixas e amplas com rampas longas e baixa declividade, com ressalva nas proximidades dos divisores da Bacia do alto Araguaia, que constituem relevo escarpado com presença de cornijas em alguns locais. Se tratando dos solos, a área apresenta solos frágeis, decorrentes da associação de Neossolos Quartzarênicos Órticos e subordinariamente Argissolos Vermelho-Amarelos Distróficos e Neossolos Quartzarênicos Hidromórficos (CASTRO, 2005; OLIVEIRA; CASTRO, 2005; CASTRO; CAMPOS, 2006).

2.2. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O presente trabalho fundamentou-se na determinação e análise de variáveis morfométricas da bacia hidrográfica do alto curso do Rio Araguaia e seus respectivos afluentes do estado de Goiás. Sua determinação se deu a partir do refinamento e ajuste da rede de drenagem obtidos pela análise das ortoimagens Alos 2011, disponibilizados pelo IBGE na escala 1:100.000. Para a obtenção das variáveis, os dados foram tratados em ambiente SIG, e teve como base a utilização do software ArcGis 10.

Os parâmetros investigados foram densidade hidrográfica (Dh), densidade de drenagem (Dd), extensão do percurso superficial (Eps) em gradiente total dos rios principais das sub-bacias (Gd). Esses parâmetros foram utilizados por permitirem estimar variáveis, ligadas às suscetibilidades de transferência e retenção dos sedimentos transportados pela rede hidrográfica (ZANCOPÉ & BAYER,2012).

Figura 1: Mapa de Localização das Sub-Bacias do Alto Araguaia



Segundo Christofoletti (1969), por meio da análise de Dh, e Dd, é possível quantificar os cursos d'água aptos a receber os detritos oriundos dos processos erosivos nas vertentes, enquanto o Eps revela a distância que os detritos devem percorrer sobre as encostas até seu lançamento nos cursos d'água e consequente transporte à jusante. O Gd indica a declividade geral de cada curso d'água. O cruzamento dos parâmetros permite a diferenciação das bacias quanto ao potencial de transferência de sedimentos.

Dessa forma, para o calculo da densidade hidrográfica (Dh), proposto por Horton (1945), e seguindo a ordenação hierárquica de Strahler (1952), chega-se por meio da fórmula:

Dh = N/A, onde N corresponde à quantidade de rios de primeira ordem e A é a área da bacia considerada. Para o calculo da densidade de drenagem (Dd), método também proposto por Horton (1945), utiliza-se a equação: Dd = Lt/A, em que Lt representa o comprimento total dos canais, e A é a área da bacia. A extensão do percurso superficial (Eps) representa a distância média percorrida pelas enxurradas entre o interflúvio e o canal permanente, sendo calculado da seguinte maneira: Eps = 1/(2Dd). Por fim, o gradiente (Gd), obtido pela seguinte equação: G = Δ alt/ compr., que vem a ser a relação entre a diferença máxima de altitude entre a nascente e a desembocadura do segmento fluvial (Δ alt) e o comprimento (compr) do respectivo segmento (CHRISTOFOLETTI, 1969).

A análise dos dados seguiu a metodologia utilizada por Meliani (2006), estabelecendo intervalo de classes dos parâmetros morfométricos para cada sub-bacia. Para a definição das classes utilizou-se a fórmula de Sturges (k = 1 + 3,3 x log n), onde "k" é o número de classes, "n" é o número total de ocorrência e "log" é o logaritmo para a base 10. No estudo proposto, considerando que se trata de 12 sub-bacias, ou seja, n = 12, temos que k = 4,05 em que se estabeleceu 4 classes. Para se determinar o intervalo de classes de cada parâmetro, foi necessário identificar a média aritmética como medida de tendência central, e o desvio padrão como medida de dispersão.

A média aritmética foi calculada adicionando-se o valor referente a cada sub-bacias, e dividindo-se o resultado pelo total de sub-bacias analisadas, para a obtenção do desvio padrão foi necessário o cálculo do desvio de cada ocorrência em relação a media aritmética, e o calculo da variância de cada um dos parâmetros analisados. A variância foi obtida por meio da divisão da soma dos desvios da média elevados ao quadrado pelo número de sub-bacias. O desvio padrão que é uma medida do desvio dos valores individuais em relação ao valor central do conjunto de dados, foi obtido por meio da raiz quadrada da variância (MELIANI, 2006).

Conhecido o desvio padrão, calculou-se quanto cada sub-bacia varia em relação ao desvio padrão, e assim obteve-se a proporção de desvio padrão que cada sub-bacia apresenta em relação à medida de tendência central. O intervalo entre as 4 classes foi elaborado depois de dividir a amplitude total das proporções de desvio padrão pelo número de classes e assim multiplicar pelo valor do desvio padrão (MELIANI, 2006). Como resultado, foi obtido 2 classes de parâmetros morfométricos que se estabeleceram acima da média aritmética, sendo denominadas como classes "Alto" e "Muito Alto", enquanto que as 2 classes estabelecidas abaixo da média foram denominadas como "Médio" e "Baixo". A tabela 1 apresenta as

classes e seus respectivos intervalos de valores para cada parâmetro morfométrico determinado.

Tabela 1 – Intervalo de classes dos parâmetros morfométricos para as sub-bacias do alto curso do Araguaia.

Dd			Dh		
>	1,8	Muito Alto	>	1,26	Muito Alto
1	a 1,8	Alto	0,5	a 1,26	Alto
0,2	a 1	Médio	-0,26	a 0,5	Médio
<	0,2	Baixo	<	-0,26	Baixo
Eps			**Gd**		
>	602	Muito Alto	>	0,809	Muito Alto
601	a 602	Alto	0,009	a 0,809	Alto
601	a 600	Médio	-0,791	a 0,009	Medio
<	600	Baixo	<	-0,791	Baixo

Estabelecido os intervalos de classes dos parâmentros morfométricos, aplicou-se aos valores encontrados para cada sub-bacia. Uma vez encontrado a classe de cada sub-bacia, aplicou-se na matriz de avaliação do Potencial de Transferência de Sedimentos (Figura 2), elaborado por Zancopé e Bayer (2012).

Figura 2 – Matriz de Avaliação do Potencial de Transferência de Sedimentos (PTS)

Parâmetros Morfométricos				Potencial de Transferência de Sedimentos (PTS)
Dh	**Dd**	**Eps**	**Gd**	
Alto ⇕ Baixo	Alto ⇕ Baixo	Alto ⇕ Baixo	Alto ⇕ Baixo	Alto ⇕ Baixo

(ZANCOPÉ; BAYER, 2012)

De acordo com a matriz, sub-bacias ou trechos fluviais onde ocorre a combinação de Dh e Dd elevados e Eps baixo, associado com Gd elevados possuiriam potencial de transferência de sedimentos elevado. Nesses casos, os cursos d'água dessas sub-bacias poderiam contribuir efetivamente com a carga sedimentar excessiva no médio Rio Araguaia. Na situação inversa, ou seja, sub-bacias ou trechos fluviais onde ocorrem a combinação de Dh e Dd baixo e Eps elevado, associado com Gd baixos possuiriam potencial de transferência de sedimentos reduzido, estando suscetíveis a retenção da carga sedimentar (assoreamentos) ao longo dos seus cursos.

A aplicação da matriz permitiu encontrar o Potencial de Transferência de Sedimentos (PTS) para cada sub-bacia. Porém, esse potencial pode variar no interior de cada sub-bacia. Para identificar essa variação interna do PTS foi estudada a forma dos perfis longitudinais dos cursos d'água, eixos da drenagem das sub-bacias, associado a distribuição das planícies de fluviais (ZANCOPÉ; PEREZ FILHO, 2006; ZANCOPÉ; PEREZ FILHO; CARPI JÚNIOR, 2009). Os perfis longitudinais mostram a variação do gradiente fluvial dos cursos d'água e as planícies fluviais indicam trechos com predomínio de sedimentação da carga transportada. Com isso foi possível identificar trechos dos eixos das sub-bacias susceptíveis de assoreamento, por meio da associação de planícies largas assentadas em segmentos do perfil com gradientes fluviais menores.

Para esta última etapa, foi necessária a utilização do modelo digital de terreno (MDT), disponibilizados pela Agência Espacial dos Estados Unidos (NASA) e Serviço Geológico dos Estados Unidos (USGS), onde foram traçados no ArcGis 10, as planícies fluviais e os perfis longitudinais relativos as 12 sub-bacias. Gerados os histogramas com altitude e distância, esses dados foram exportados para o Excel, com o intuito de se eliminar os exageros decorrentes de imperfeições do MDT e assim criou-se os gráficos dos perfis longitudinais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. DADOS DOS PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS

Os valores obtidos a partir da análise dos parâmetros morfométricos e a aplicação da matriz do Potencial de Transferência de Sedimentos (PTS) permitiram a construção da Tabela 2, relativo aos índices morfométricos indicadores do PTS. Das 12 sub-bacias estudadas, 3 sub-bacias apresentarem potencial médio-baixo de transferência de sedimentos, 3 sub-bacias com potencial médio, 2 com médio-alto e 4 sub-bacias com potencial alto.

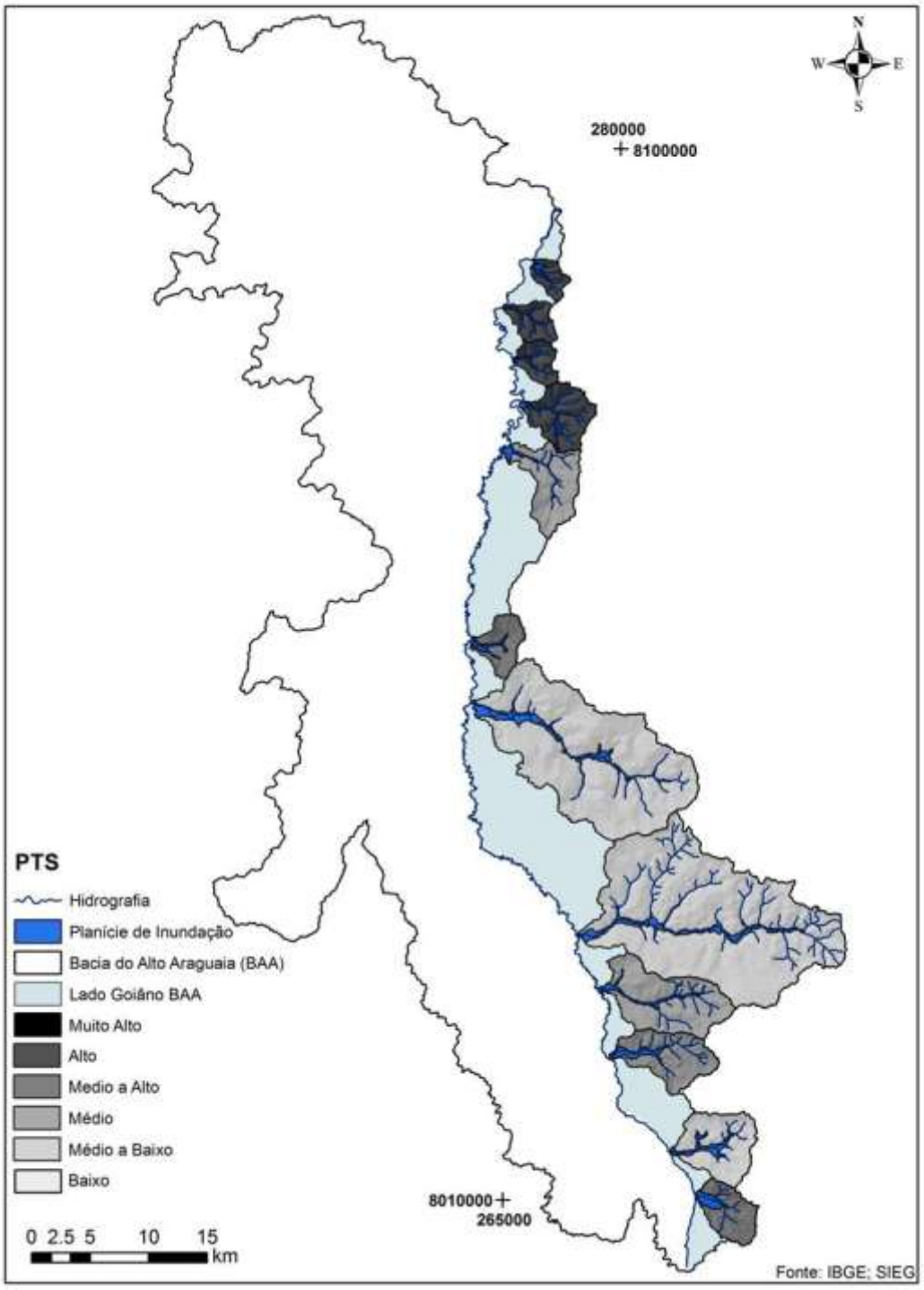
As sub-bacias Rib. Zeca Novato, Rib. Queixada e Córrego Queixada apresentaram PTS médio a baixo, pois o Eps (muito alto) forçou uma tendência para baixo. Caso inverso das sub-bacias Córrego Buracão e Córrego Divisa Sul, cujo Eps foi baixo forçou uma tendência para cima, aliado com elevados Gd e Dd nas respectivas sub-bacias.

Tabela 2 - Índices Morfométricos Indicadores do Potencial de Transferência de Sedimentos (PTS)

Sub-bacias	Dd (km/km²)	Dh (N° de canais /km²)	Eps (metros)	Gd (m/m)	PTS
Ribeirão Zeca Novato	0.343	0.096	1457.725	0.004	Médio a baixo
	Médio	Médio	Muito Alto	Médio	
Ribeirão Queixada	0.561	0.272	890.954	0.006	Médio a baixo
	Médio	Médio	Muito Alto	Médio	
Córrego Ribeirãozinho	0.829	0.359	588.472	0.006	Médio
	Médio	Médio	Baixo	Médio	
Córrego Cabeceira Alta	0.906	0.441	551.876	0.008	Médio
	Médio	Médio	Baixo	Médio	
Córrego Queixada	0.701	0.31	712.891	0.007	Médio a baixo
	Médio	Médio	Muito Alto	Médio	
Córrego Buracão	0.849	0.373	588.472	0.012	Médio a alto
	Médio	Médio	Baixo	Alto	
Córrego Divisa Sul	1.196	0.208	418.05	0.009	Médio a alto
	Alto	Médio	Baixo	Médio	
Córrego Estiva	0.851	0.311	587.32	0.006	Médio
	Médio	Médio	Baixo	Médio	
Córrego Divisa	1.444	0.903	346.208	0.006	Alto
	Alto	Alto	Baixo	Médio	
Córrego Quilometro	1.514	0.893	330.039	0.014	Alto
	Alto	Alto	Baixo	Alto	
Córrego Servo	1.193	0.744	419.018	0.017	Alto
	Alto	Alto	Baixo	Alto	
Córrego Barra	1.542	0.841	324.181	0.023	Alto
	Alto	Alto	Baixo	Alto	

A Figura 3 mostra o mapa da distribuição do Potencial de Transferência de Sedimentos para as sub-bacias do alto curso do Rio Araguaia.

Figura 3: Potencial de Transfererência de Sedimentos (PTS)

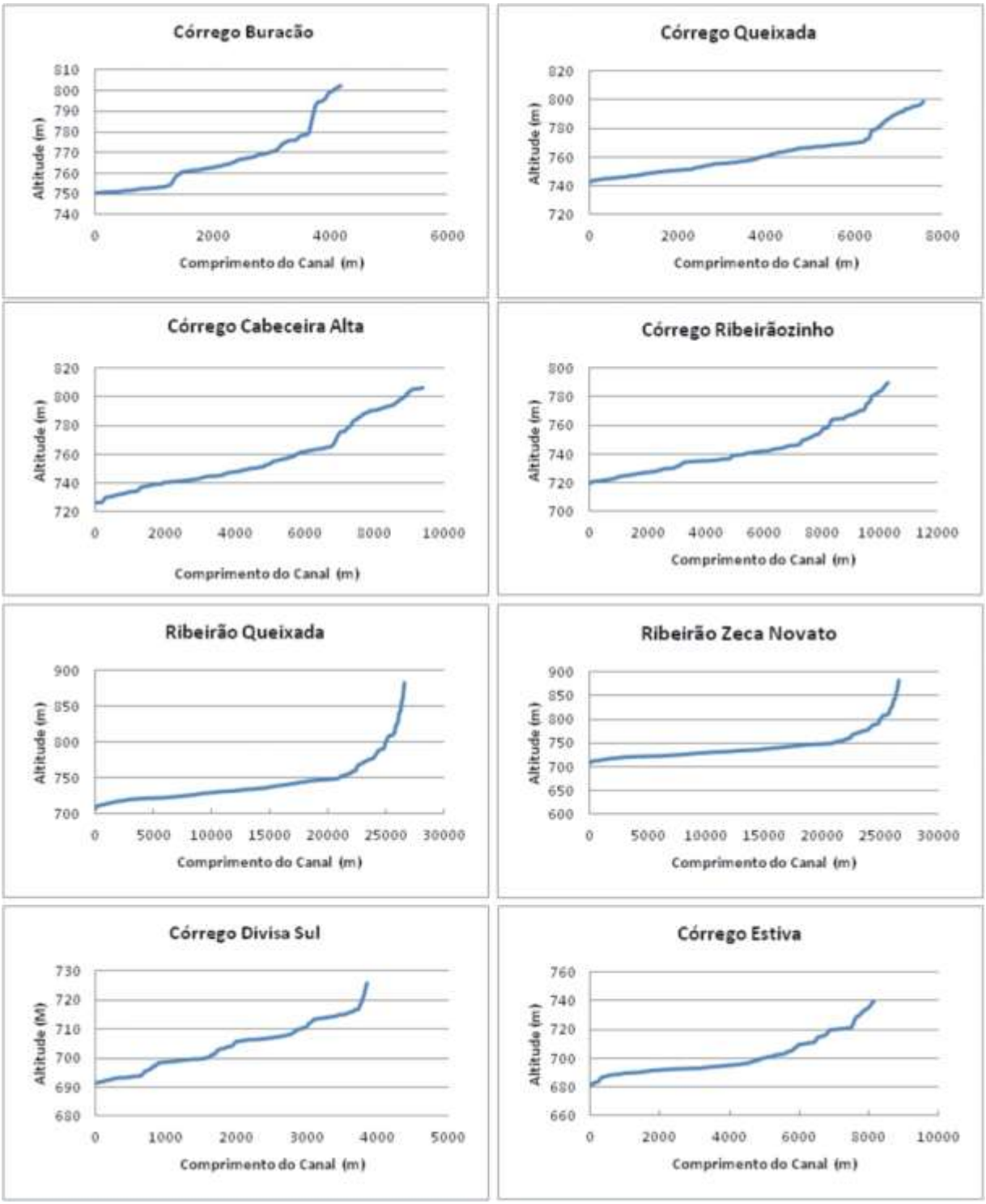


3.2. PERFIL LONGITUDINAL E DISTRIBUIÇÃO DAS PLANÍCIES

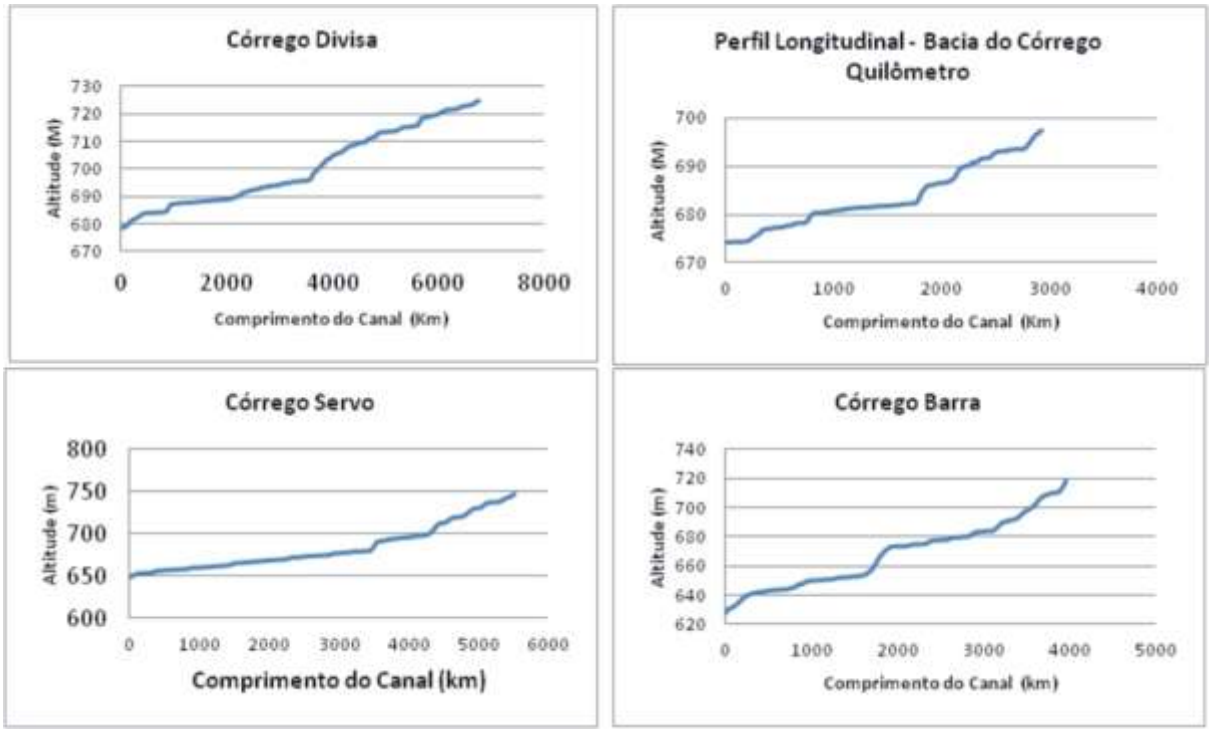
Muito embora, os PTS's das sub-bacias variaram de médio-baixo até alto, cada sub-bacia pode apresentar variação interna. A correlação da forma dos perfis longitudinais e da distribuição das planícies fluviais indica essa variação interna, apontando trechos onde os

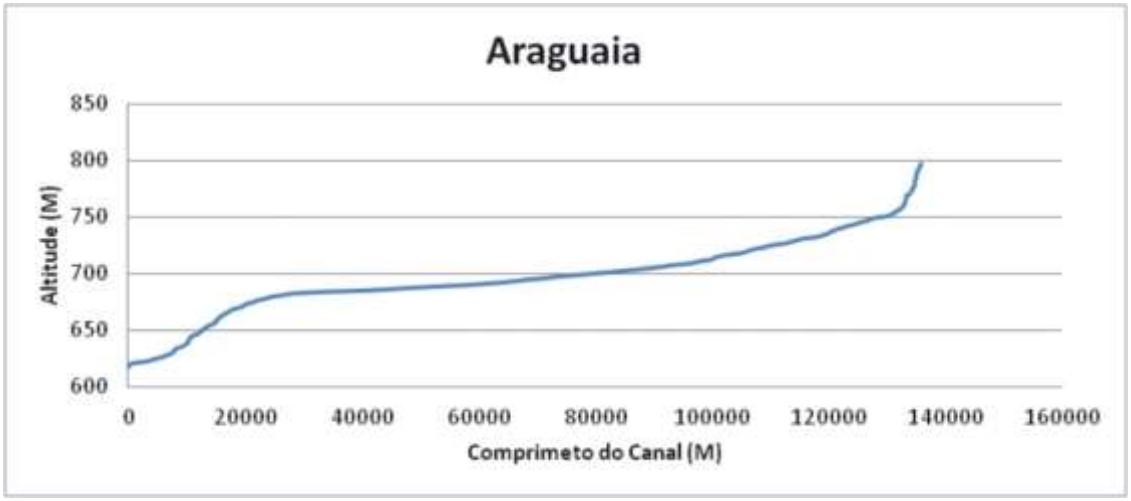
PTS's podem ser reduzidos, indicando suscetibilidade a assoreamentos. As figuras 4 e 5 comparam os perfis das sub-bacias avaliadas e a distribuição das planícies da área de estudo.

Figura 4 – Perfis longitudinais dos eixos das sub-bacias do alto Araguaia



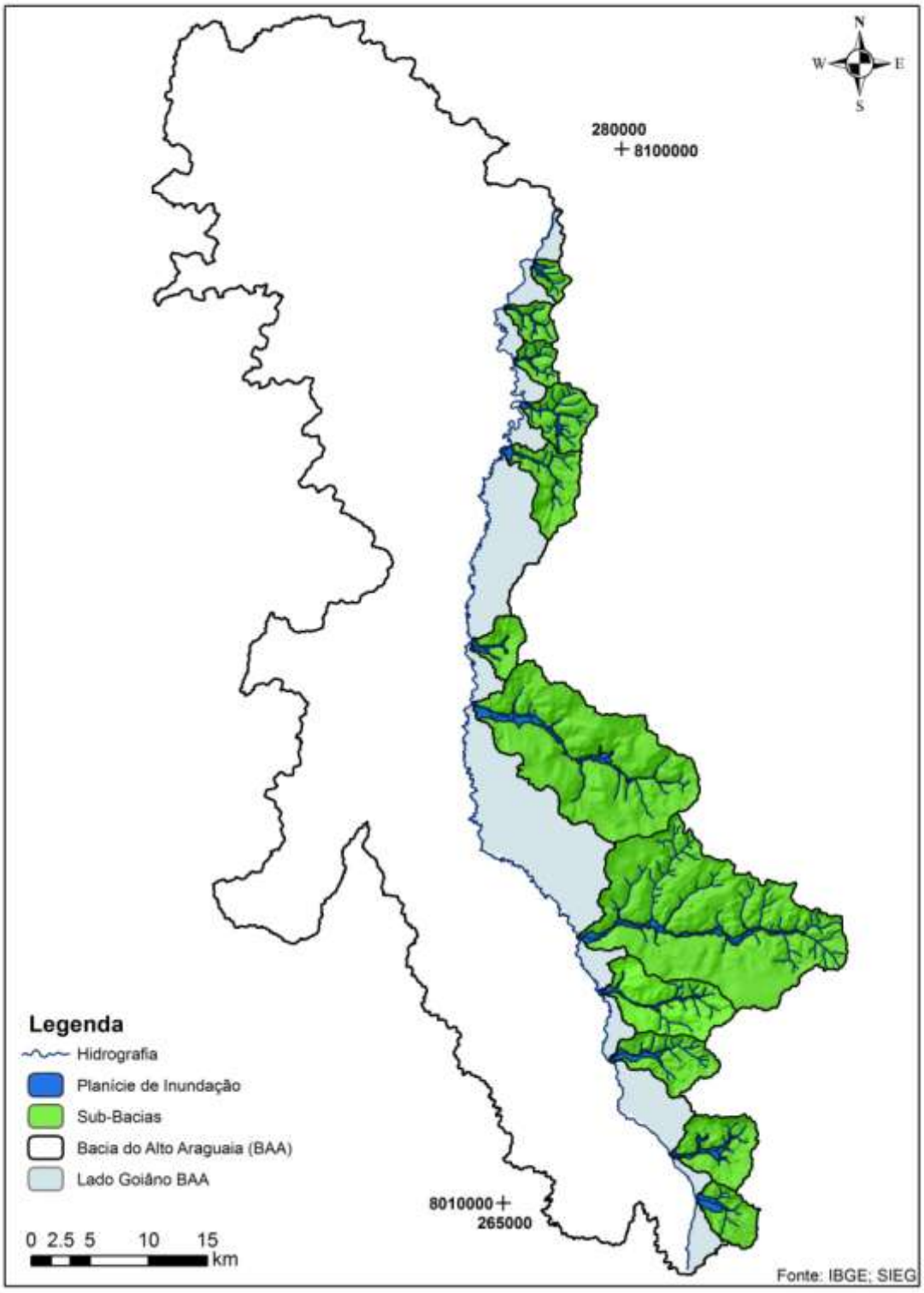
cont. Figura 4





Observando a forma dos perfis longitudinais da Figura 4 percebeu-se que ocorrem variações dos gradientes ao longo dos eixos das sub-bacias. Essa variação indica que o PTS de cada sub-bacia não é uniforme, podendo variar de acordo com mudanças do gradiente em diferentes segmentos do perfil longitudinal. A distribuição das planícies fluviais (Figura 6) é um indicativo da variação interna do PTS.

Figura 5: Distribuição das Sub-Bacias



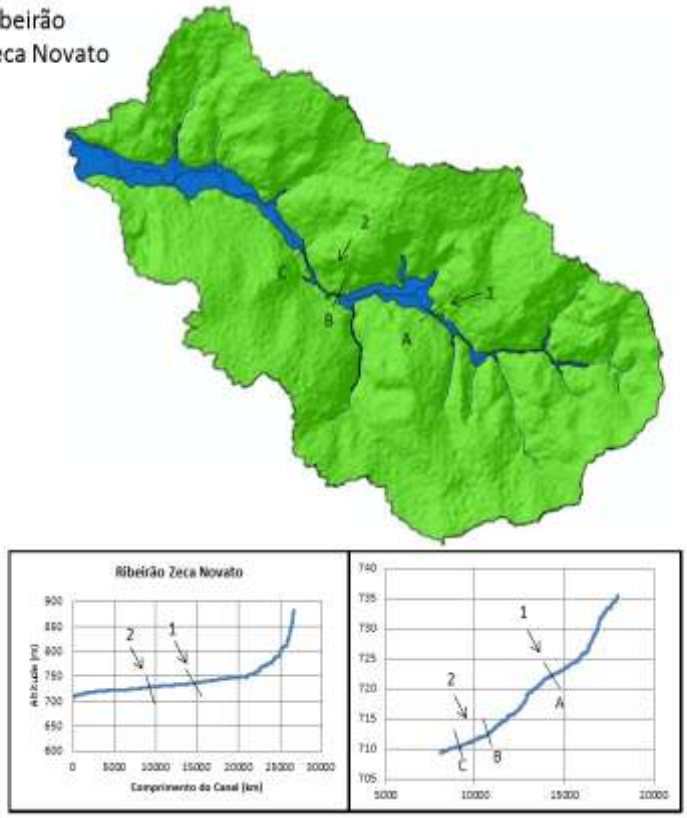
A variação da largura das planícies fluviais demonstra mudanças das condições de transporte da carga sedimentar dos rios. Segmentos fluviais com planícies amplas indicam predomínio de condições de sedimentação, enquanto que segmentos com planícies restritas indicam predomínio de condições de transporte (ZANCOPÉ; PEREZ FILHO, 2006).

3.3. SUSCETIBILIDADE AO ASSOREAMETO

Foram analisadas 3 sub-bacias do alto Araguaia, por meio da associação entre a forma dos perfis longitudinais e a distribuição das planícies fluviais. Com isso, percebeu-se a variação do PTS no interior da cada sub-bacia e respectiva mudança nas condições de transporte, com consequente predomínio de sedimentação (assoreamento). Dessa forma, foi possível inferir trechos com suscetibilidade a assoreamento, onde ocorreu a combinação de trechos com planícies largas com trechos com gradiente reduzido.

A Figura 6 mostra a sub-bacia do Ribeirão Zeca Novato com a distribuição das planícies fluviais (em azul) e seu respectivo perfil longitudinal. O perfil da direita mostra um detalhamento do segmento 1–2 do perfil da esquerda. A sub-bacia do Zeca Novato apresenta um PTS médio com tendência a baixo (Tabela 2), indicando relativa suscetibilidade ao assoreamento. A observação sobre os perfis é possível verificar, que há trechos com gradientes mais acentuados e trechos com gradientes menos acentuados. No ponto 1, observa-se uma redução do gradiente juntamente com o alargamento da planície, indicando uma maior suscetibilidade ao assoreamento entre A e B. Entre os pontos B e C, ponto 2, destaca-se o estreitamento da planície associado a um gradiente mais acentuado, revelando maior energia da corrente fluvial e assim favorecendo a transferência de sedimentos nesse trecho. A jusante

Figura 6: Ribeirão Zeca Novato



da seção C, a planície volta a alargar-se e o gradiente se reduz, indicando novo trecho mais suscetível a assoreamento.

A sub-bacia do Córrego Estiva (Figura 7) apresentou um PTS médio, com indicado na Tabela 2. A análise da distribuição das planícies e a forma do perfil longitudinal mostra que tal potencial médio não é uniforme para toda sub-bacia. Observa-se no ponto 1 uma planície estreita e um segmento do perfil longitudinal com forma côncava (transição entre um gradiente acentuado em A e um gradiente reduzido em B como visto no perfil da direita), o que leva-se a acreditar que nesse trecho a energia da corrente favorece o transporte da carga. Justamente a jusante de B, há um alargamento da planície, associado a um gradiente mais reduzido. Muito embora a sub-bacia tenha um PTS médio, a montante de 1 o PTS seria mais elevado, enquanto que a jusante de 1 o PTS seria mais baixo, indicando maior susceptibilidade ao assoreamento.

Figura 7: Córrego Estiva

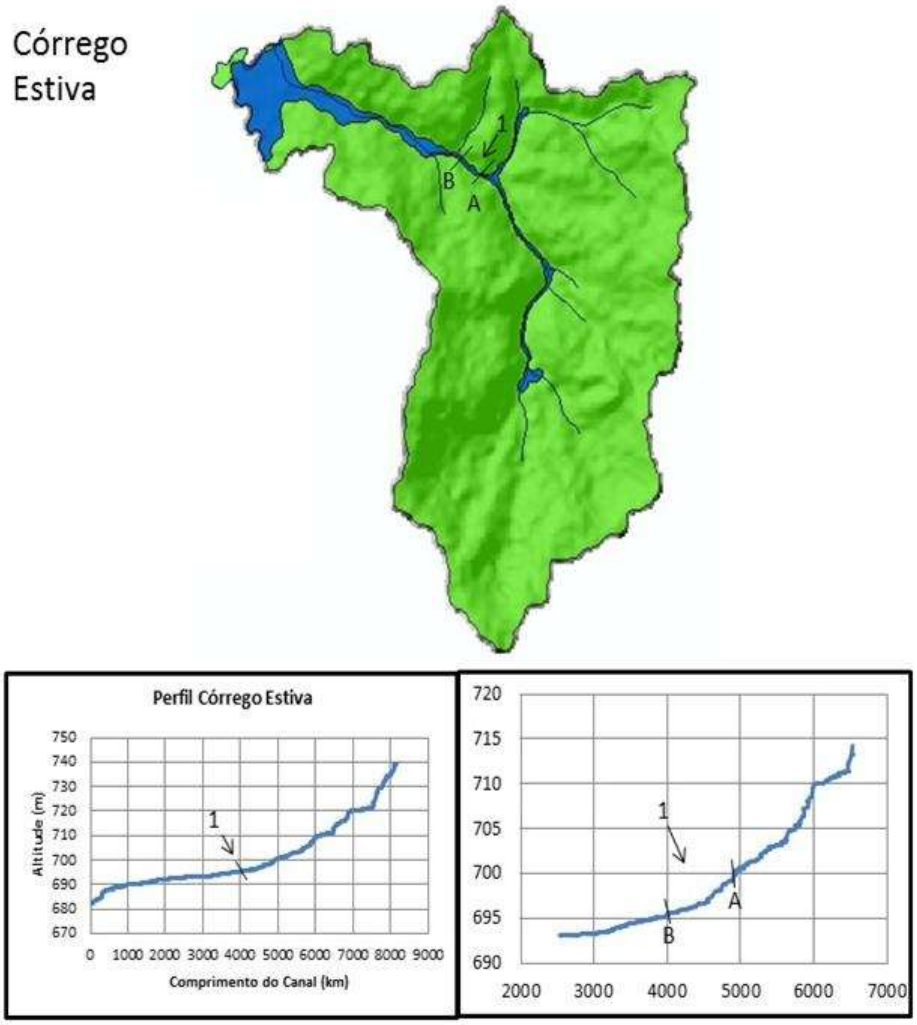
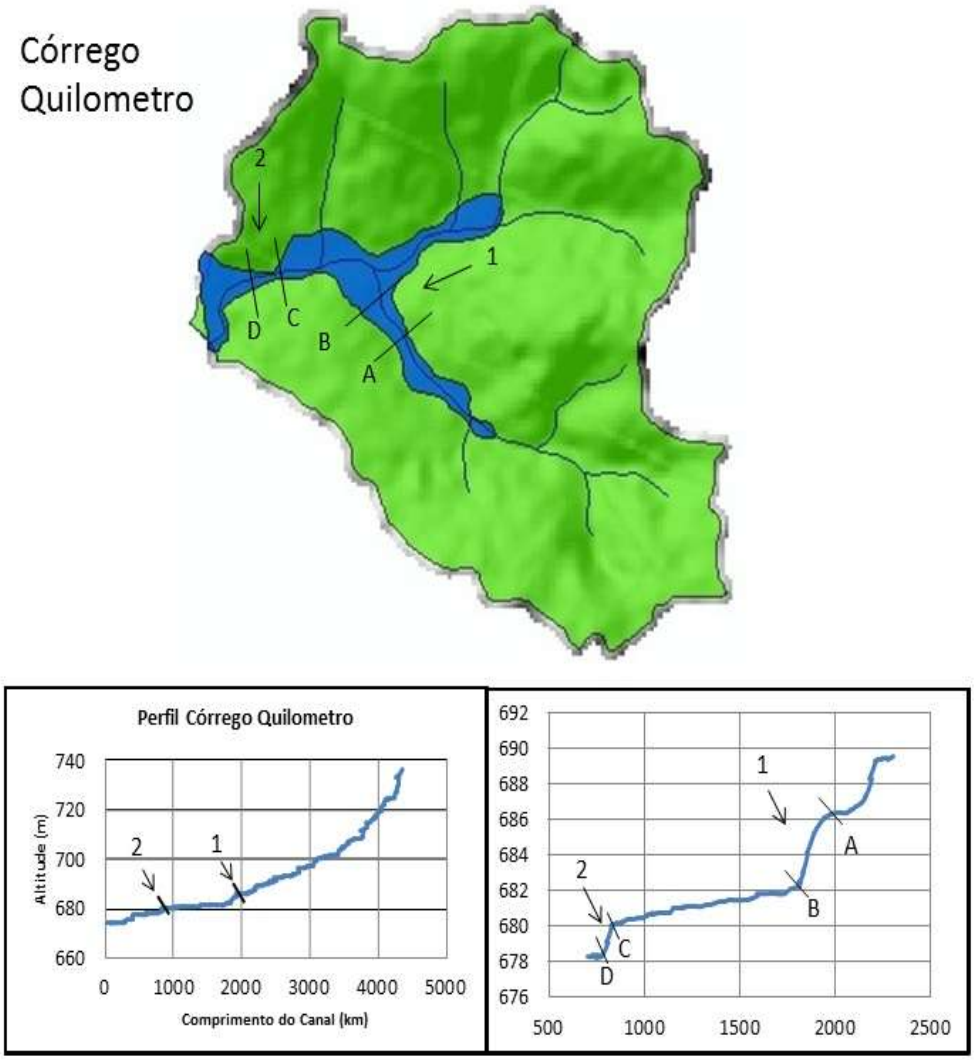


Figura 8: Córrego Quilometro



Por fim, analisou-se também a susceptibilidade ao assoreamento da sub-bacia do Córrego Quilômetro, por meio da associação da forma dos perfis longitudinais e a distribuição das planícies fluviais (Figura 8). Para esta sub-bacia encontrou-se um PTS alto, como verificado na Tabela 2. No entanto o trecho entre 1 e 2 mostra grande variação no gradiente fluvial. O perfil longitudinal da direita na Figura 8 mostra detalhe da variação do gradiente entre os pontos 1 e 2. Entre A e B (perfil da direita) verifica-se um gradiente muito acentuado. O mesmo se observa no trecho C–D, tendo em ambos trechos planícies mais estreitas. No trecho B–C o gradiente é mais suave (perfil da esquerda), associado a planícies mais largas. Esta associação indica que no trecho B–C ocorre um PTS menor que o encontrado para toda a sub-bacia, indicando elevada suscetibilidade ao assoreamento. Ao se aprofundar o estudo da associação entre o perfil longitudinal e a distribuição das planícies foi possível verificar a variação dos PTS ao longo dos trechos fluviais e inferir possíveis locais de assoreamento.

Na Figura 8, entre os pontos 1 e 2, existe uma mudança consideravelmente brusca na largura das planícies, bem como no gradiente. De acordo com as observações de Zancopé e Perez Filho (2006) e Zancopé, Perez Filho e Carpi Júnior (2009), formas anômalas no gradiente dos perfis, como as verificadas na sub-bacia do Córrego Quilômetro, podem revelar trechos dos cursos d'água, que apresenta alterações na energia da corrente, o que tornaria entre os pontos 1 e 2 como sendo locais de baixa energia do fluxo. Revela-se nessa situação, o predomínio de processos agradacionais que promovem a retenção temporária da carga sedimentar, ocasionando assoreamento.

4. CONCLUSÃO

Na determinação do Potencial de Transferência de Sedimentos, constatou-se que ao longo das 12 sub-bacias referente ao lado goiano houve certa variação de potencial ao longo da Alta Bacia. Dentre a área de estudo, tivemos 4 casos de alto PTS, referentes a parte jusante da bacia do Alto Araguaia. Foram contabilizados 3 de potencial médio além de outras 3 com tendências que variavam de médio para baixo, e 2 com tendências de PTS médio para alto. Sendo assim, pode se dizer que a bacia apresenta um quadro geral variando de PTS médio a alto. No entanto, pela análise comparativa entre a forma dos perfis longitudinais e a distribuição das planícies fluviais, as sub-bacias apresentam trechos dos eixos fluviais com relativa suscetibilidade ao assoreamento.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (Fapeg) e ao Ministério Público do Estado de Goiás (MPGO) pelo auxílio financeiro (FAPEG AUX PESQ 003/2010), bem como ao CNPq pela concessão de bolsa junto ao Programa Institucional de Iniciação Científica (PIBIC) da UFG, os quais tornaram possível o desenvolvimento desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

AQUINO, S.; STEVAUX, J.C.; LATRUBESS, E.M. Regime hidrológico e aspectos do comportamento morfohidráulico do Rio Araguaia. **Revista Brasileira de Geomorfologia**, v. 6, n. 2, p. 29-41, 2005.

BORGES, R.O; SILVA, R.A.A.; CAMPAGNOLI, F.; CASTRO, S. Mapeamentos da evolução da produção de sedimentos no setor Sul da Alta Bacia do Rio Araguaia. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE CONTROLE DE EROSÃO, 8. São Paulo, 2009. **Anais do**. São Paulo: Acqua, 2009.

CASTRO, S.S. Erosão hídrica na alta bacia do Rio Araguaia: distribuição, condicionantes, origem e dinâmica atual. **Revista do Departamento de Geografia**, São Paulo, n. 17, p. 38-60, 2005.

CHRISTOFOLETTI, A. Análise morfométrica das bacias hidrográficas. **Notícia Geomorfológica**, Campinas, v. 9, n. 18, p. 35-64, 1969.

LATRUBESSE, E.M.; AMSLER, M.L.; MORAIS, R.P.; AQUINO, S. The geomorphology response of a large pristine alluvial river to tremendous deforestation in the South American tropics: the case of the Araguaia River. **Geomorphology**. v. 113, n. 3-4, p. 239-252, 2009.

MARINHO, G.V.; CASTRO, S.S.; CAMPOS, A.B. Hidrology and gully process in the upper Araguaia River basin, Cenral Brazil. **Zeitschrift für Geomorphologie**, v. 145, n. suplementar, p. 119-145, 2006. (edição especial – Tropical Geomorphlogy: with special reference to South America).

MELIANI, P.F.; Mapeamento da rede hidrográfica e análise dos parâmetros da densidade de drenagem aplicados ao estudo ambiental: o caso da bacia do Rio Jeribucassu, Itacaré, Bahia. **Geografia**, Rio Claro, v 31, n. 1, p.119-136, jan./abr. 2006.

OLIVEIRA, V.C.V.; CASTRO, S.S. Susceptibility and risks to water erosion in the upper of Araguaia River basin (GO/MT), Brazil. **Sociedade & Natureza**, Uberlândia, v. 1, n. 1, p. 697-708, 2005. (edição especial – International Symposium on Land Degradation and Desertification).

ZANCOPÉ, M.H.C.; BAYER, M. Proposta metodológica para avaliar o potencial de transferência de sedimentos de bacias hidrográficas a partir de índices morfométricos. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE GEOMORFOLOGIA, 9, Rio de Janeiro, 2012, **Anais do**. Rio de Janeiro: UFRJ/UGB, 2012. P. 1-3.

ZANCOPÉ, M.H.C.; PEREZ FILHO, A. Considerações a respeito da distribuição das planícies fluviais do Rio Mogi Guaçu. **Revista Brasileira de Geomorfologia**, v. 7, n. 1, p. 65-71, 2006.

ZANCOPÉ, M.H.C.; PEREZ FILHO, A.; CARPI JÚNIOR, S. Anomalias no perfil longitudinal e migração dos meandros do Rio Mogi Guaçu. **Revista Brasileira de Geomorfologia**, v. 10, n. 1, p. 31-42, 2009.

INFLUÊNCIA DA INCUBAÇÃO E DA IDADE DA MATRIZ SOBRE O DESENVOLVIMENTO INTESTINAL DO PINTO NEONATO

PAZ, P.H.S.[1*], GOMES, N.A.[2], ROMACHELI, L.A.[1], LEANDRO, N.S.M.[3]

[1*] Acadêmico de Medicina Veterinária - EVZ/UFG (Orientando)

[1]Acadêmico de Medicina Veterinária - EVZ/UFG

[2] Aluna do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal - EVZ/UFG

[3] Professora Associada do Departamento de Produção Animal - EVZ/UFG (Orientadora)

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do tipo de máquina de incubar e da idade da matriz sobre os parâmetros de incubação e sobre desenvolvimento intestinal de pintos neonatos. No primeiro experimento foram utilizados 300 ovos de matrizes da linhagem Cobb500, os quais foram distribuídos em duas incubadoras (estágio único e estágio múltiplo), o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo um ovo a parcela experimental. Ovos incubados em máquina de estágio único deram origem a pintos mais pesados, no entanto, ovos incubados em máquinas de estágio múltiplo deram origem a pintos com maior comprimento de intestino. No segundo experimento foram utilizados 500 ovos de matrizes Cobb500, distribuídos em delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 3x2 (três idades x duas máquinas de incubação), totalizando seis tratamentos, sendo a parcela experimental um ovo e as incubadoras os blocos. Pintos oriundos de ovos de matrizes mais velhas e incubados em máquinas de estágio único são mais pesados, no entanto possuem menor altura de vilo e menor área de vilo do intestino quando comparados aos outros tratamentos.

Palavras-chave: histomorfometria intestinal, máquinas de incubar, diferentes idades

INTRODUÇÃO

De acordo com a UBABEF o consumo de carne de frango no Brasil no ano de 2012 foi de 45 kg per capita e foram produzidas 12,64 toneladas de carne (UBABEF, 2013), para otimizar essa produção é necessário produzir pintos de boa qualidade, fator muito importante na cadeia de produção e que está diretamente relacionado ao desempenho produtivo do frango (DECUYPERE et al., 2001).

A produção de pintos de qualidade é um processo complexo e abrangente que envolve desde genética, nutrição e manejo das matrizes, manejo dos ovos férteis, condições de incubação dos ovos, manejo dos pintos, transporte, entre outros. Os padrões estabelecidos de qualidade de pinto de corte podem estar associados aos aspectos físicos, microbiológicos e sorológicos da ave recém-eclodida (CERVANTES,1994).

O desenvolvimento inicial dos pintos de corte é um dos eventos mais importantes durante toda a vida da ave, já que a maioria das mudanças fisiológicas destes animais ocorre nesta fase. Vários são os fatores que podem influenciar no desenvolvimento do trato gastrointestinal das aves, tais como a idade da matriz, tamanho, peso do ovo dentre outros (HAYASHI et al., 2011).

Tipos de máquina

A incubação em estágio único é a melhor escolha para as atuais linhagens que detêm alto rendimento e metabolismo (BOERJAN, 2004). De acordo com CALIL (2007), os equipamentos de incubação de estágio único são capazes de melhorar ainda mais os resultados zootécnicos de incubatórios, pois conseguem atender de forma mais eficiente as necessidades fisiológicas do embrião moderno.

GONZALES (2008) afirmou que além de conservar a temperatura ótima do embrião e ajustar as trocas gasosas para a adequada atividade metabólica, as máquinas de estágio único permitem melhorar a condição sanitária da incubação, manter constante a perda de umidade e, ainda, possibilita a revisão técnica da máquina com uma periodicidade maior, minimizando as perdas de incubação por quebra do equipamento no meio do período de desenvolvimento embrionário.

As condições ambientais inapropriadas da máquina de incubar devido a não uniformidade da temperatura, ventilação, concentração de CO2 e umidade relativa no interior da incubadora são consideradas os principais agentes estressores que afetam o desenvolvimento embrionário.

Na incubação em estágio múltiplo, uma mesma máquina é utilizada para comportar embriões em diferentes estágios de desenvolvimento, normalmente três ou seis lotes de ovos são incubados em diferentes dias do período de incubação. Nesse sistema as cargas com embriões em desenvolvimento mais avançado cedem calor aos embriões mais jovens, proporcionando um equilíbrio térmico dentro da máquina (GONZALES, 2008).

De acordo com CAMPOS (2000), o tipo de incubadora (estágio único ou múltiplo) pode influenciar na distribuição das eclosões na máquina. Máquinas de estágio múltiplo incubam embriões em diferentes fases de desenvolvimento, sendo que embriões em fases mais adiantadas interferem no metabolismo dos embriões mais jovens, para que esse feito seja minimizado, as máquinas de incubar devem ser equipadas com bom sistema de circulação de ar.

As condições de temperatura durante o estágio de incubação também afetam a utilização da gema e o desenvolvimento intestinal e muscular de pintos (OVIEDO-RONDON, 2008).

Idade da Matriz

A idade da matriz é um fator que causa efeito direto sobre o desenvolvimento embrionário (VIEIRA, 2011). Ovos oriundos de matrizes mais velhas sofrem alterações de espessura da casca, no número e diâmetro de poros, com consequente diminuição na condutância de gazes e prejuízo para o metabolismo embrionário (CARDOSO, 2002).

McLOUGHLIN & GOUS (2000) trabalhando com ovos de diferentes idades de matrizes de frango de corte relataram que houve retardo no crescimento embrionário de pintos provenientes de ovos menores no período intermediário de incubação. Os autores concluíram que tal fato esteja ligado à menor fonte de nutrientes liberados e absorvidos quando comparados com pintos oriundos de ovos maiores, sendo assim essa menor deposição pode disponibilizar poucos nutrientes para o desenvolvimento do embrião (BENTON Jr. & BRAKE, 1996).

A idade da matriz está relacionada ao peso do ovo, que, por sua vez, tem forte influênciano peso do pinto no momento da eclosão (REISet al., 1997; TONA et al., 2001).

Pintos derivados de matrizes jovens tendem a apresentar um desempenho inferior ao daqueles oriundos de matrizes velhas, o que é atribuído à menor quantidade de albúmen e gema dos ovos de matrizes jovens (PINCHASOV & NOY, 1993).

No Experimento I, o objetivo foi comparar o desenvolvimento intestinal de pintos neonatosoriundos de máquinas de incubar de estágio múltiplo ou único.

No Experimento II, o objetivo foi comparar o desenvolvimento intestinal de pintos neonatosoriundos de máquinas de incubar de estágio múltiplo ou único e de matrizes de idades diferentes.

MATERIAL E MÉTODOS

Experimento I - DESENVOLVIMENTO INTESTINAL DE PINTOS DE CORTE PROVENIENTES DE MÁQUINAS DE INCUBAR DE ESTÁGIO MÚLTIPLO OU ÚNICO

Foramcoletados 300 ovos de uma granja comercial, provenientes de matrizespesadas de um lote comercial, linhagem Cobb 500, com idade de 37 semanas, criadas em mesmas condições.Para a incubação foram utilizadas duas incubadoras automáticas, uma de estágio único e outra de estágio múltiplo, mantidas a 37,5 ºC e 60% de umidade relativa, durante todo o período conforme a rotina do incubatório comercial, o experimento foi finalizado com 504 horas de incubação com a retirada dos pintos secos da máquina de eclosão e realizada a coleta do material (intestino delgado).

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo dois tratamentos e cinco repetições por unidade experimental.

A variável estudada foi a histomorfometria do trato gastrintestinal do pinto neonato: Pintos de um dia foram pesados e submetidos à eutanásia (deslocamento cervical) para a colheita do material. Para a análise histológica do intestino foram colhidos segmentos de três centímetros do intestino delgado, os quais após serem lavados em solução fisiológica foram submersos em solução de formol tamponado a 10%, não sendo possível a abertura pela borda mesentérica devido a dimensão do intestino de pintos neonatos não permitir tal procedimento. Após 24 horas de fixação em formol, o material foi lavado em álcool 70% e, em seguida, submetido à desidratação por tratamento com álcool em concentrações crescentes (70-100%). As amostras foram diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Foram preparadas lâminas de cada segmento e os cortes, com sete micrômetros de espessura, foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE). Após o procedimento de coloração, com o auxílio de um microscópio óptico acoplado a um sistema analisador de imagens *Axio Vision* (*versão 3.0*) foram realizadas medidas de altura, largura e área das vilosidades e de profundidade de criptas. Foram efetuadas 10 medidas de cada variável por animal. As medidas foramrealizadas de acordo com PELICANO et al. (2003) e foiavaliada a altura do vilo, área do vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta do duodeno, jejuno e íleo.

Os dados foram analisados pela ANOVA, com auxílio do programa computacional SAS (1996).

3.2 - Experimento II - DESENVOLVIMENTO INTESTINAL DE PINTOS DE CORTE PROVENIENTES DE MATRIZES COM IDADES DIFERENTES E MÁQUINAS DE INCUBAÇÃO DE ESTÁGIO MÚLTIPLO OU ÚNICO

Foram utilizados 500 ovos, provenientes de matrizes com três idades diferentes (29, 35 e 59 semanas de idade) criadas sob condições semelhantes (nutricionais, manejo e ambiente). O delineamento experimental utilizado para a distribuição dos ovos foi em blocos casualizados em esquema fatorial 3x2 (três idades x duas máquinas de incubação), totalizando seis tratamentos, sendo a parcela experimental um ovo e as incubadoras os blocos.A incubação foi realizada como descrito no Experimento I. A variável estudada será a histomorfometria intestinal.A colheita e o processamento do material foram realizados como descrito no Experimento I.

Os dados foram analisados pela ANOVA, com auxílio do programa computacional SAS (1996). As médias quando necessário foram comparadas pelo teste de Tukey (5%).

RESULTADOS E DISCUSSÁO

Os resultados, do Experimento 1, de parâmetros de incubação de ovos incubados em diferentes tipos de máquina de incubar (estágio único ou múltiplo) estão apresentados na Tabela 1. Pode-se observar que houve uma coerência nos resultados, nos quais ovos de estágio único perderam menos peso durante a incubação e resultaram em maior peso de pinto, com uma relação peso pinto e peso ovo maior (P>0,05). O peso do ovo é considerado o fator mais relevante na determinação do peso do pinto no momento da eclosão (MAIORKA, 2002). A relação positiva entre peso do ovo e peso do pinto no momento da eclosão foi relatada por muitos pesquisadores (WILSON, 1991; SUAREZ et al., 1997; VIEIRA & MORAN JR., 1998; VIEIRA & MORAN JR., 1999).

Tabela 1 – Peso do ovo, peso do ovo na transferência, percentagem de perda de peso do ovo, peso do pinto, perda de peso do pinto na eclosão, relação peso pinto e peso do ovo, de ovos incubados em máquinas de estágio único ou múltiplo (Experimento 1)

	Parâmetros de incubação					
	Peso Ovo (g)	Peso ovo Transf. (g)	Perda peso ovo (%)	Peso Pinto (g)	Perda Peso Pinto eclosão (%)	Relação:Peso pinto/peso do ovo (g/g)
Máquinas						
Múltiplo	64,67	57,60B	10,93B	46,31B	19,57	71,59B
Único	64,82	58,20A	10,21A	46,91A	19,37	72,37A
Valor P	0,357	0,0005	0,001	0,002	0,429	0,0012
CV(%)	2,10	3,08	17,65	3,48	10,58	2,75

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste Tukey (P<0,05)

Os dados de altura de vilo, profundidade de cripta e área de vilo (Tabela 2) foram maiores (P<0,05) para pintos neonatos oriundos de máquinas de incubar de estágio múltiplo

Tabela 2 - Altura de vilo, largura de vilo, profundidade de cripta, área de vilo e relação altura de vilo e profundidade de cripta de pintos neonatos oriundos de máquinas de incubar de estágio único ou múltiplo (Experimento 1)

	Duodeno				
	Altura Vilo (µm)	Largura Vilo (µm)	Prof. Cripta (µm)	Área de Vilo (μm^2)	Relação Altura/prof.
Máquinas					
EU	299,43 B	67,15	70,14B	175,04B	4,63
EM	369,99 A	67,54	78,58A	220,71A	4,87
Valor P	0,003*	0,877	0,09	0,0351*	0,516
CV(%)	34,14	24,05	32,28	52,14	38,30

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste Tukey (P<0,05).

Os dados do Experimento 2 para os parâmetros de incubação dos ovos oriundos de matrizes com diferentes idades e incubados em diferentes tipos de máquinas estão apresentados na Tabela 3. Houve interação entre os grupos estudados para peso do ovo na transferência da máquina de incubar para de eclosão.

Tabela 3 - Parâmetros de incubação de ovos de matrizes com 29, 35 e 59 semanas de idade incubados em máquinas de estágio único ou múltiplo (Experimento 2)

Máquinas	Peso de ovo incubação (g)	Peso de ovo transferência (g)	Perda de peso (%)	Peso Pinto Nascer (g)
EM	62,64	55,06B	12,04B	43,94B
EU	64,56	57,33A	11,12A	45,72A
Idade				
29	59,21C	53,07B	10,36A	42,43B
35	59,92B	52,91B	11,70B	42,14B
59	69,85ª	61,28A	12,26C	48,97A
		Valor P		
Maq	0,785	0,0006	<0,0001	0,030
Idade	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Maq*id	0,040	0,0064	0,080	0,036
CV(%)	2,53	2,76	17,05	4,21

Médias com letras diferentes diferem entre si pelo teste t.

Houve efeito do tipo de máquina para o peso dos ovos aos 19 dias de incubação, ou seja, na transferência para o nascedouro, sendo que a máquina de estágio único proporcionou melhor peso de ovos. O mesmo ocorreu para a porcentagem de perda de peso durante a incubação.Houve efeito da idade das matrizes sobre o peso do ovo incubável, peso do ovo na transferência e porcentagem de perda de peso durante a incubação. Matrizes mais velhas produziram ovos mais pesados no dia da incubação e tal diferença se manteve até a transferência. No entanto, ovos de matrizes com mais idade apresentaram maior perda de peso durante a incubação.Isso se deve ao fato de ovos de matrizes mais velhas apresentarem menor qualidade de casca, o que facilita a perda de água durante o processo de desenvolvimento embrionário.Houve efeito do tipo de máquina incubadora (P<0,05) para o peso de pinto ao nascer, sendo que a máquina do tipo estágio único proporcionou pintos com maior peso.

Houve efeito da idade das matrizes pesadas (P<0,05) sobre as variáveis de pesos de pinto ao nascer e escores de penugem, membrana, abdome e escore total de pintos. Matrizes mais velhas originaram pintos com maior peso ao nascer.

Houve interação (P<0,05) entre idade de matriz pesada e tipo de máquina de incubar sobre o comprimento de intestino grosso de pintos de neonatos (Tabela 4). Observa-se que ovos originados de matrizes mais velhas e incubados em máquina de estágio múltiplo

proporcionarampintos com maior comprimento de intestino grosso, porém ao se comparar os resultados de matrizes nas diversas idades em máquinas de estágio único, as matrizes mais velhas originaram pintos com menor comprimento intestinal.

Tabela 4 -Interação idade da matriz e tipo de máquina de incubar sobre o comprimento do intestino grosso de pintos recém eclodidos (Experimento 2)

	Idade (semanas)		
Máquinas	29	35	59
EM	5,21Aa	5,81Aa	5,51Aa
EU	5,09Ba	5,75Ba	4,45Bb

Maiúsculas nas linhas e minúscula das colunas diferem estatisticamente entre si (Teste Tukey a 5%).

Pode-se observar que houve da idade da matriz e do tipo da máquina sobre o desenvolvimento intestinal do pinto neonato. Os dados mostram maior desenvolvimento intestinal para matrizes jovens, no entanto, a máquina de estágio único proporcionou menor desenvolvimento para matrizes com idade de 35 semanas. Com relação ao desenvolvimento intestinal do pinto neonato deve-ser fazer algumas observações, como não é certo que maior desenvolvimento observado no estágio múltiplo seja o melhor, já que como foi observado no experimento I, temperaturas mais elevadas durante o período de incubação proporcionaram maior desenvolvimento intestinal. Temperaturas mais ajustadas para melhor eclosão talvez não sejam as que proporcionem maior desenvolvimento intestinal de embriões de frango de corte.

Tabela 5 – Histomorfometira do intestino delgado, altura de vilos e profundidade de criptas, de pintos oriundos de matrizes com diferentes idades e incubados em diferentes máquinas de incubação (Experimento 2)

	Duodeno			
	log (g)			
Idade (semanas)	Altura Vilo	Prof. Cripta	Área do vilo	Relação Vilo/Cripta
29	2,90A	2,14	5,05	6,42
35	2,84B	2,19	4,97	5,18
59	2,78C	2,14	4,84	5,07
Máquina				
Único	2,87A	2,15	4,88	4,98
Múltiplo	2,81B	2,17	4,99	5,78
Valor P				
Idade	<0,0001*	0,0021	<0,0001*	0,0002*
Temp	0,0025*	0,430	0,0014*	0,3435
Idade*Temp	0,1120	<0,0001*	0,0014*	<0,0001*
CV(%)	5,93	6,12	4,98	48,66

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

Tabela 6 – Desdobramento da interação entre idade de matriz e tipo de máquina de incubar para o log da profundidade de cripta do duodeno de pintos oriundos de matrizes de diferentes idades incubados em máquina de estágio único ou múltiplo (Experimento 2)

Máquina/Idade (semanas)	29	35	59
Múltiplo	2,20aA	2,14bA	2,13bA
Único	2,06bB	2,24aB	2,15aA

Médias seguidas por letras diferentes na coluna (maiúscula) ou na linha (minúscula) diferem estatisticamente entre si (Teste Tukey a 5%).

Tabela 7 – Desdobramento da interação entre idade de matriz e tipo de máquina de incubar para a área do vilo do duodeno de pintos oriundos matrizes de diferentes idades incubados em máquina de estágio único ou múltiplo (Experimento 2).

Máquina/Idade (semanas)	29	35	59
Múltiplo	5,02aA	5,04aA	4,92bA
Único	5,09aA	4,88bB	4,76bB

Médias seguidas por letras diferentes na coluna (maiúscula) ou na linha (minúscula) diferem estatisticamente entre si (Teste Tukey a 5%).

Tabela 8– Desdobramento da interação entre idade de matriz e tipo de máquina de incubar para a relação altura de vilo e profundidade de cripta do duodeno de pintos oriundos matrizes de diferentes idades incubados em máquina de estágio único ou múltiplo (Experimento 2)

Máquina/Idade (semanas)	29	35	59
Múltiplo	5,14ab	6,15aA	5,75aA
Único	7,80aA	4,07bB	4,33bB

Médias seguidas por letras diferentes na coluna (maiúscula) ou na linha (minúscula)diferem estatisticamente entre si (Teste Tukey a 5%).

CONCLUSÃO

Máquina de incubar de estágio único melhorou o peso do pinto ao nascer. E o desenvolvimento intestinal foi maior em máquinas de estágio múltiplo. Máquina de estágio único foi mais adequada para incubar ovos de matrizes de 29 e 35 semanas de idade, considerando a qualidade física dos pintos. Pintos oriundos de matrizes com 35 e 59 semanas de idade são de melhor qualidade.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

BENTON JR., C.E.; BRAKE, J. The effectofbroilerbreeder age andlengthofeggstorageoneggalbumenduringearlyincubation. *Poultry Science*, v.75, p.1069-1075, 1996.

BOERJAN, M. Single Stage is the most natural choice. *PasReformAcademy* [online], 2004. Disponível em: http://www.pasreform.com/academy.html. Acesso em 15 ago. 2011.

CALIL, T.A.C. Princípios básicos de incubação. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2007. Santos, *Anais...*, Santos: FACTA, 2007.

CAMPOS, J.E. Avicultura razões, fatos e divergências,*Incubação industrial*. FEP-MVZ, Belo Horizonte, cap.7 p.203-303. 2000.

CARDOSO, J.P.; NAKAGE, E.S.; PEREIRA, G.T.; BOLELI, E.I. Efeito da Idade da Matriz e Peso do Ovo sobre os Componentes do Ovo em Frangos de Corte. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, supl. 4, p.16, 2002.

DECUYPERE, E.; TONA, K.; BRUGGEMAN, F. *et al*. The day-oldchick: a crucial hingebetweenbreedersandbroilers. *World'sPoult. Sci. J.*, v.57, p.127-138, 2001.

GONZALES, E. Comentário avícola: incubação. *Revista Avicultura Industrial*, 2008. Disponível em: http://www.aviculturaindustrial.com.br/PortalGessulli/WebSite/Notícias/comentarioavicolaincubaçãob,20090831081247_Y_742.aspx. Acesso em: 20 ago. 2011.

HAYASHI, R.M. Estudo do sistema imunológico e do trato gastrintestinal de frangos de corte nascidos em diferentes períodos em uma mesma incubadora. 2011. Curitiba. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Curso de Pósgraduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná.

McLOUGHLIN, L.; GOUS, R.M. Efectodeltamañodelhuevo em elcrecimientopre y post natal de pollitos de engorde. *Avicultura Profesional*, Santiago do Chile, v.18, p.24-29, 2000.

OVIEDO-RONDÓN, E.O.; SMALL , J.; WINELAND, M. J.; CHRISTENSEN, V.L.; MOZDZIAK , P. S.; KOCI, M. D.; FUNDERBURK, S. V. L.; ORT, D. T.; MANN, K. M. Broilerembryobonedevelopmentisinfluencedbyincubatortemperature,oxygenconcentrationand eggshellconductanceattheplateaustage in oxygenconsumption. *British Poultry Science*. v.49, p.666–676, 2008.

PELICANO, E.R.L, SOUZA, P.A, SOUZA, H.B.A, OBA, A, NORKUS, E.A, KODAWARA, L.M, LIMA, T.M.A. Effectof diferente probioticsonbroilercarcassandmeatquality. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 2003; 5 (3):207-214.

PINCHASOV, Y.; NOY, Y. Effectsof a single posthatchincubationof nutrientes onsubsequentearly performance ofbroilerchicksandturkeypoults. *Poultry Science*, Champaing, v.72, n.10, p.1861-1866, 1993.

REIS, L.H.; GAMA, L.T.; CHAVEIRO SOARES, M. Effects of short storage conditions and broiler breeder age on hatchability,hatching time, and chick weights. *Poultry Science*, v.76, p.1459-1466, 1997.

SAS. *USER'S Guide*. 4.ed. Cary: SAS Institute, 1998. 842p.

TONA, K.; BAMELIS, F.; COUCKE, W. et al. Relationship betweenbroiler breeder's age and egg weight loss and embryonic mortalityduring incubation in large-scale conditions. *JournalofAppliedPoultryResearch*, v.10, p.221-227, 2001.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA (UBABEF). *Relatório anual 2012*[online], 2012. Disponível em: http://www.ubabef.com.br. Acesso em: 16jul. 2013.

VIEIRA, S.L. Idade da Matriz, Tamanho do Ovo e Desempenho de Pintinho. In.: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001. Campinas, *Anais*. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2001, v.2, p.117-123, 2001.

MORTE E IDENTIDADES EM *O ASNO DE OURO*, DE LÚCIO APULEIO.

Paulo Sérgio Assis de Farias (Orientando)
Profa. Dra. Luciane Munhoz de Omena (Orientadora)
Faculdade de História\UFG
paulo.assis07@gmail.com
lucianemunhoz34@gmail.com[1]

Introdução:

"A morte é um problema dos vivos.", essa é uma das máximas apresentadas por Elias (2001) em seu livro *A Solidão dos Moribundos*, contudo, entre as diversas criaturas passiveis de morrer, a finitude se constitui enquanto problema apenas para os seres humanos. Isso porque, apesar de compartilharmos com os animais o nascimento, a juventude, a maturidade, a velhice, a doença e a morte, apenas nós temos a consciência de que um dia iremos morrer; apenas os seres humanos podem prever – estar ciente de que pode ocorrer a qualquer momento – e tomar providências especificas para se proteger ante a ameaça do fim. Em outras palavras, o homem tem conhecimento da morte, e assim ela se constitui enquanto problema.

Nesse texto apresentaremos os resultados da pesquisa empreendida durante o último ano, à medida que a morte e suas diversas expressões assumem um papel central, norteador e guia do nosso raciocínio. Assim, buscaremos a partir da narrativa de representação realista (MOTTA, 2006) - *O Asno de Ouro*,[2] escrito em meados do século II d. C., por Lucio Apuleio[3], refletir sobre a morte nas províncias gregas do Império Romano. Essa narrativa dividida em onze livros que, grosso modo, narra a história de um jovem que viaja de sua cidade natal rumo a Tessália, lugar conhecido como terra das artes mágicas. Sendo a esposa de seu anfitrião uma feiticeira, o jovem Lúcio é auxiliado

[1] Artigo revisado pela orientadora.
[2] A obra recebeu diversos vocativos como *Metamorfoses*, *O Asno*; *O Asno de Ouro*, logo, não se sabe ao certo com que nome foi primitivamente denominada. O mais provável é que o nome pelo qual ficou conhecido modernamente – *O Asno de Ouro* – surgiu de uma oposição entre o restritivo "de Ouro" e o primeiro nome "Asno", pois se trataria de uma história de ouro para ser lida, para ser apreciada.
[3] Lucio Apuleio nasceu em Madaura uma florescente cidade nas províncias africanas do império, viveu provavelmente entre 125 d. C a 170 d. C, sabe-se ainda, que seu pai era dono de grandes cabedais de terra e ao morrer deixou-lhe dois milhões de sestércios. Em suas viagens pelo Oriente, Apuleio foi à Grécia e a Itália onde estudou filosofia, direito e eloquência respectivamente, tendo contato assim com as mais diversas culturas e religiões do mundo conhecido; ele ainda era versado em diversas ciências como geometria, astronomia, entre outras.

por uma escrava da casa na tentativa de se transformar em uma ave de rapina, mas por infelicidade o pote que continha o unguento, que possibilitaria tal transformação é trocado, sendo, portanto, metamorfoseado em um burro, ao invés do pássaro desejado. O mal que a principio parece fácil de ser remediado, pois, para readquirir a forma humana bastaria comer pétalas de rosa, sofre uma reviravolta da fortuna, à medida que a casa de Milão, na mesma noite, é saqueada. Lúcio descansava na estrebaria e em função de sua nova condição é levado pelos bandidos. A partir disso, o narrador transformado em burro, conta suas desventuras e diversas histórias ouvidas em sua nova condição, proporcionando assim ao leitor-ouvinte um labirinto de narrativas, que se entrecruzam e se sobrepõem no decorrer da obra.

Essa narrativa de viagem (MOTTA, 2006) contada por Lucio-Asno relaciona-se à nossa temática, à medida que Apuleio emprega em sua obra o grotesco e o macabro através da comicidade da morte, buscando matéria e forma nas histórias mundanas dos contos milesianos (MOTTA, 2006: 165). A morte aparece implícita ou explicitamente em toda a narrativa apuleiana, desse modo, abre-se um campo de reflexão entre as relações que se estabelecem entre morte e identidade social, tendo como ponto de partida os indícios sobre rituais funerários presentes na narrativa. É nossa pretensão também apresentar uma tipologia possível sobre as diversas mortes representadas na narrativa. Por último, nos debruçaremos especificamente sobre o processo de metamorfose sofrido pelo protagonista Lúcio, compreendido por nós como um processo de degradação e morte para refletir sobre a importância da palavra no universo romano do período tratado.

Metodologia:

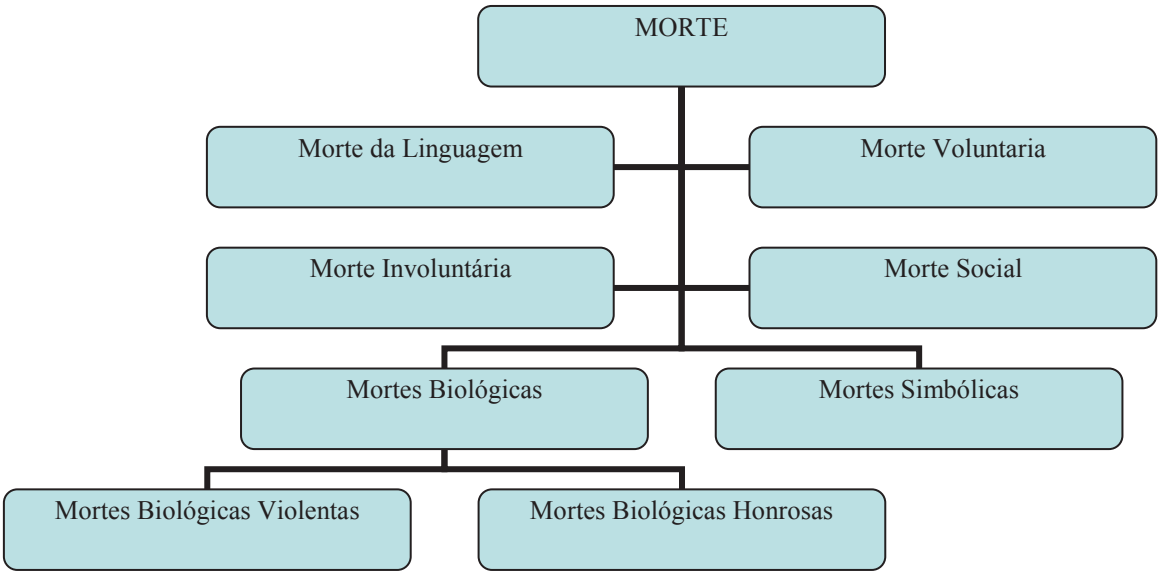
Trabalhar com a temática da morte no universo romano implica em uma ampliação de diversas fontes, sejam escritas ou da cultura material. Além disso, esbarra-se também no problema de que as fontes disponíveis geralmente registram o excepcional, o invulgar, ao invés do comum. O inusitado ou o extravagante como o embalsamento da esposa de Nero, Popeia, ou uma grande procissão funerária de um nobre, pode ganhar passagem nas fontes antigas, enquanto, que os “detalhes mais mundanos” (HOPE, 2004: 104) tiveram pouco relevo. Assim, se faz pertinente pensar o trabalho do historiador com tais fontes seguindo um paradigma indiciário (GINZBURG, 1989). Tais procedimentos analíticos convergem na utilização de pistas, “mas

precisamente, sintomas (no caso de Freud), indícios (no caso de Sherlock Holmes), signos pictóricos (no caso de Morelli)" (GINZBURG, 1989: 150), para que assim se alcance uma realidade que escapou, através de uma racionalidade baseada no provável. Essa concepção de um conhecimento pautado no detalhe, aqui se faz válida, haja vista o problema das fontes, já posto, e a maneira como optamos em abordar a narrativa *O Asno de Ouro*.

Ao apresentar o social de forma não idealizada, a narrativa apuleiana nos fornece uma riqueza de detalhes sobre aquele contexto, entretanto, ao que se refere a cuidados com o corpo, túmulos e rituais funerários, alguns dos nossos principais interesses nessa pesquisa, a fonte não é detalhista, citando tais aspectos, na maioria das vezes em uma linha ou menos. Desse modo, operamos um levantamento da fonte (PROUST, 2012) buscando pistas e detalhes que nos possibilitasse perceber como ocorriam os rituais funerários ao redor do morto. Nossa opção, a partir desse levantamento, na tentativa de maximizar a pesquisa e articular melhor esses diferentes trechos da fonte, foi tabelá-la[4], construindo um quadro que constaria todos os possíveis indícios acerca da morte.

Operamos da mesma forma na tentativa de empreender uma tipologia possível acerca das mortes narradas na obra. Fizemos um levantamento dos trechos que relata a morte de algum personagem, e partindo dele estabelecemos tipos de morte, tendo como base expressões presentes na própria fonte, como por exemplo: "O próprio ato da iniciação representa uma morte voluntaria e uma salvação obtida pela graça" (LIVRO XI, XXI). Esse trecho que referisse a adesão de Lúcio ao culto da deusa Ísis, para que assim pudesse reverter sua condição de asno, coloca tal adesão no patamar de uma morte voluntária. Foram tais expressões presentes na narrativa, que nos possibilitou construir o quadro a baixo, que apresenta uma tipologia de morte possível.

[4] Infelizmente, não foi possível anexar tais tabelas no corpo do texto, em decorrência do espaço (ocupariam um total de 10 pg.). Foram elaboradas duas tabelas, a primeira continha o levantamento de todos os indícios acerca de ritos funerários, já a segunda, se ocupava dos indícios sobre as mortes narradas no decorrer da fonte, apresentando, de maneira prática, a tipologia por nós proposta.



Assim, dividimos as mortes presentes na narrativa em dois grandes grupos, o primeiro de mortes biológicas, e o segundo de mortes simbólicas, as quais constam processos de exclusão ou adesão a um meio ou condição, como é o caso da adesão de Lúcio ao culto de Ísis, acima citado. Além disso, dentro do primeiro grupo - mortes biológicas - fizemos uma subdivisão entre mortes biológicas violentas e mortes biológicas honrosas, levando-se em consideração o que se caracterizava por honroso na sociedade provincial romana. Integrando essa tipologia mais geral, criamos categorias móveis, são essas: morte física; morte da linguagem; morte social; morte voluntaria; morte involuntária passíveis de se adequarem a cada caso, de acordo com as particularidades que o relato apresenta.

Cabe ressaltar que essa nossa tipologia não escamoteia as particularidades e diferenças dos relatos da narrativa em que ocorre algum tipo de morte, ela busca uma aproximação desses diferentes trechos no intuito de facilitar e organizar melhor a construção de um quadro de retalhos, de pistas, que nos possibilite perceber melhor como se configurava o fenômeno da morte e suas múltiplas expressões no contexto do século II d. C. nas províncias gregas do Império Romano.

Resultados:

Os resultados da pesquisa, empreendida no decorrer do último ano serão explicitados de maneira mais detalhada no item “Discussão”, contudo, podemos destacar os seguintes pontos:

- O modo como o corpo do morto era apresentado, os cemitérios, assim como as cerimônias funerárias, forneciam símbolos e possibilitavam um espaço social possível para a negociação de *status* e identidades, em um jogo de altos e baixos, onde nem sempre era refletida a hierarquia real.
- A crença na magia aparece a partir de dois tipos distintos de magia: uma institucionalizada e a outra de caráter privado, em feiticeiras, assim com em fantasmas e espíritos errantes, evidenciam uma realidade vivida por Apuleio, responsável por constituir o imaginário e forjar identidades sociais.
- A degradação humana tem sua principal expressão no processo de metamorfose de Lúcio, degradando-se primeiramente ao se submeter à escrava Fótis, graças ao seu excesso de curiosidade pelas artes mágicas, o desenvolvimento de seu retorno a condição humana também se caracteriza pela degradação, tendo principio através de um novo excesso, dessa vez a gula, e culminando com a submissão a deusa Ísis para conseguir retornar a sua condição de homem. Nesse meio, a metamorfose que sofre alude à perda da possibilidade de comunicação, e de sua condição de cidadão, ou seja, da capacidade de negociar social e politicamente, em outras palavras, uma morte social.

Discussão:

A narrativa de Apuleio se articula de maneira pertinente a temática de nossa pesquisa, de duas formas: primeiramente, ao buscar o satírico e o grotesco para apresentar um universo romano não idealizado, que se contrapõe ao mundo ideal do mítico, através da comicidade da morte, faz com que essa última traspasse toda a obra, e segundo essa representação realista do romance privilegia as degradações das estruturas sociais, tais degradações articulam-se com o itinerário do protagonista Lúcio, determinando seus comportamentos, o inserido assim em um processo de degradação e morte simbólica.

Nosso interesse primeiro será o de analisar os indícios sobre os cuidados com o corpo, os túmulos e rituais funerários presentes na narrativa. Partiremos de dois casos específicos, a narrativa de Aristômenes, logo no Livro I da obra, que conta o fatídico fim de seu amigo Sócrates, e a história narrada por Telifrão na casa de Birrena, em uma festa em honra ao deus riso, em que fala das desventuras que sofreu ao ficar de vigília vigiando o corpo do filho de um importante senhor. Trata-se assim, de dois "defuntos" em condições sociais distintas, o primeiro vivia como um moribundo, apesar

de já ter sido um senhor, o outro era filho de um dos mais importantes homens da cidade. Essa diferença nos é favorável, pois, nos possibilita dessa forma, traçar identidades sociais diferentes, que se evidenciam nos cuidados e honras funerárias.

O primeiro momento da viagem narrada por Lúcio inicia-se com antes da chegada desse a cidade de Hípita, em que escuta a conversar de dois viajantes acerca das desventuras de um amigo que sofreu as misérias da fortuna ao envolver-se com uma feiticeira chamada Méroe. Para Motta, esse Livro I é uma espécie de antecipação do livro todo, tratando-se assim de uma história menor encaixado dentro da estrutura maior da narrativa, tendo como papel disseminar os índices formais que se concretizam no desenrolar da história principal (MOTTA, 2006: 192). Seria assim, um modelo que indica e fixa aos leitores-ouvintes como será construído o fantástico no corpo da narrativa. Assim, ao se interessar pela conversa dos estranhos, Lúcio demonstra já sua curiosidade pelas artes mágicas, prenunciando também os infortúnios futuros que essa lhe causaria.

Lúcio se deixa guiar assim pela história do viajante Aristômenes, sendo levado até seu destino não pelo lombo de seu cavalo e sim por suas orelhas (LIVRO I), que lhe conta: guiado pelo desejo de comprar queijo fresco mais barato, depara-se com seu amigo Sócrates, na cidade de Hípata, a quem a família dava por morto.

> E eis que ali vejo o meu amigo Sócrates. Estava sentado no chão, mal coberto por capa rasgada, a pele terrosa, irreconhecível, desfigurado pela magreza de causar dó, semelhante a esses náufragos da vida que mendigam tostões nas encruzilhadas. Apesar de estreitamente ligado a ele e conhecendo-o muitíssimo bem, ao vê-lo nesse estado, foi com alguma hesitação que dele me aproximei. 'Que vejo, Sócrates, meu amigo, que é isso? Que fazes? Que infâmia é essa? Em casa dos teus te acreditam morto, e realizaram em tua memória o derradeiro apelo; teus filhos foram providos de tutores pelo juiz da província; tua mulher, depois de ter cumprido os últimos deveres de esposa, e ter-se consumido longamente no luto e na aflição, a ponto de prejudicar os olhos, se vê constrangida pelos próprios pais a alegrar com os júbilos de um novo casamento o desolado lar. Eis que, neste lugar, para nossa maior desonra, tu me apareces como um fantasma.' (LIVRO I, VI)

Esse trecho nos permite inferir as primeiras características sobre a morte e seus desdobramentos no contexto em questão. A morte provoca uma mistura de reações e emoções entre os sobreviventes. Amor e carinho ou medo e aversão por uma pessoa não terminam após sua morte, podendo essa última criar novos sentimentos, como raiva ou remorso que são dirigidas para o cadáver. Estas, unindo-se as ideias de deterioração, poluição e doença, inerentes ao corpo, e também por esse servir como um símbolo da

mortalidade dos sobreviventes produz, com frequência, que os mortos sejam tratados de forma ambivalente. No universo romano, como em outros, tem-se a ideia que os mortos devem ser tratados com respeito e depois "descartado". Eles deveriam ser separados dos vivos por uma série de rituais cumprindo considerações emocionais, de caráter espiritual e prático. Fazer a coisa certa era necessário, a fim de enviar a alma do morto para uma jornada para o outro mundo, assim como, remover uma fonte em potencial de infecções, acalmar espíritos inquietos e reintegrar os sobreviventes ao mundo dos vivos (HOPE, 2004: 105).

O luto e o derradeiro apelo (LIVRO I) em honra da memória, chamado também de *conclamatio* (apelo), em que os parentes do morto chamavam por seu nome diversas vezes, no geral antes de conduzir o corpo ao túmulo, que Aristômenes evidencia nesse trecho, nos indica as considerações de caráter emocional dos ritos funerários. Esses deveres de cunho emocional são percebidos também na narrativa de Telifrão, à medida que a mulher chora um logo tempo sobre o corpo do marido (LIVRO II). Na própria narrativa de Aristômenes após seu amigo ser morto, efetivamente dessa vez, pela ação das feiticeiras, ou mesmo a narrativa sobre o Moleiro morto por práticas mágicas a mando da ex-mulher, que teve os deveres e as honras funerárias arranjadas pela filha, que nos fornece um período para tais lamentações: "No nono dia, uma vez acabados os ritos solenes ao pé do tumulo [...]" (LIVRO IX, XXXI).

O trecho referente ao encontro de Aristômenes com Sócrates invoca outra questão pertinente, o tratamento dado aos "moribundos". Ao encontrar o amigo, Aristômenes hesita em se aproximar dele, em decorrência de seu estado maltrapilho. Sócrates encontrava-se em um estado em que se caso morresse seu corpo provavelmente ficaria jogado na via publica, sujeito a putrefação e ao ataque de animais, até algum "agente funerário", se encarregar do descarte do corpo.

Isso não era algo incomum nos centros urbanos do império, em Roma e em outros lugares existiam sinais de encorajamento quanto a não jogar lixo, e isso incluía cadáveres, em determinadas zonas para além das paredes. Deixar um corpo sem sepultura era uma ofensa a escrúpulos morais e religiosos, além de um problema prático, visualmente desagradável e anti-higiênico. Ninguém gostaria de ter os seus restos mortais expostos em público, tornando-se causa de ofensa aos vivos, é provável que a maioria das pessoas chamasse seus parentes mais próximos para realizarem os rituais decentes. Alguns, entretanto, não tinham ninguém nem mesmo para honrá-los, nem mesmo para realizarem o mais básico dos rituais funerários e sepultamento (HOPE,

2004: 106). Bolde estipula que, para a cidade de Roma, cerca de 5% da população pertenciam a essa categoria, e que talvez cerca de 1.500 corpos teriam sido eliminados por ano com o dinheiro público, pelos chamados "agentes funerários", que seria os funcionários públicos responsáveis por isso (BOLDE 2004).

Após o encontro dos amigos, estando Sócrates em total miséria, Aristômenes leva-o a um estabelecimento de banho providenciando os devidos cuidados e o abriga em uma estalagem. Sócrates então, conta-lhe que havia fugido das garras de uma terrível mulher. Resolveu parar em Larissa para assistir a um espetáculo de gladiadores, quando voltava de sua viagem a trabalho da Macedônia, entretanto, um bando de ladrões o atacou. Sem ter para onde ir, pede socorro a uma estalajadeira, Méroe, que consente ajudá-lo. Contudo, ela o faz por ter se apaixonado por Sócrates, passando a retê-lo lá contra a vontade desse. Ele descobre tarde demais que essa mulher na verdade era uma poderosa feiticeira, que mantinha toda a cidade sobre seu jugo pelo medo generalizado, pois, os citadinos temiam ser enfeitiçados. Graças a esses poderes, ela consegue ouvir a conversa entre Sócrates e Aristômenes. Irada com tal relato, ela age , atacando o quarto onde esses dois se encontravam.

Méroe, na companhia de sua amiga Pância, invade o quarto onde os dois dormiam, bruscamente, arrebentando os grilhões da porta e projetando-a para o chão (LIVRO I). Ambas, após dirigir palavras de escárnio e chacota na direção de Aristômenes, voltam-se para Sócrates, atacando-o de maneira violenta:

> E, inclinando para a direita a cabeça de Sócrates, mergulhou a espada inteira, até o punho, no lado esquerdo da garganta; depois, aproximou um odrezinho e recolheu o sangue que jorrava, diligenciando para que nenhuma gota se perdesse. Tudo isto eu vi com meus próprios olhos. Para conservar, creio, a essa imolação, todas as características de um sacrifício, a doce Méroe introduziu a mão direita no ferimento, remexeu até o fundo das entranhas, e retirou o coração do meu desgraçado camarada. A violência do golpe tinha-lhe cortado a garganta e ele, deixando escapar pela fenda um som que não passava de um vago sopro, exalou o último suspiro. Pância, com uma esponja, tampou a larga abertura, dizendo: 'Esponja, tu que nasceste no mar, guarda-te de atravessar um rio. (LIVRO I, XIII)

Ao ser questionada sobre tirar a vida de Aristômenes, Méroe acrescenta: "não, mas que ele pelo menos sobreviva para amontoar um pouco de terra sobre o cadáver deste pobre rapaz" (LIVRO I, XIII). Em seguida, as duas desaparecem repentinamente, da mesma maneira como surgiram, sem deixar pistas de suas estadas

ali. Perante a situação, e com o eminente risco de ser acusado pelo assassinato do seu companheiro de hospedagem, Aristômenes se desespera e tenta a fuga, porém, frustrada. Não encontrando outra saída, tenta a precipitação de um enforcamento, também frustrado, mas que ao fracassar, pela corda com a qual fez o laço para o pescoço estar podre e arrebentar, faz com que ele caia sobre Sócrates despertando-o de seu sono. Assim, pegando o amigo, milagrosamente vivo, põe-se na estrada o mais rápido possível. Após uma boa caminhada, os dois se colocam a descansar e alimentar ao lado de uma leitosa fonte de água (LIVRO I), depois de ingerir boa quantidade de pão, Sócrates se precipita para beber um pouco de água da fonte, porém

> Não tinha ainda atingido com os lábios e superfície da água, quando profundo e largo ferimento se abriu em seu pescoço, a esponja bruscamente escapou, seguida de um filetezinho de sangue, e seu corpo inanimado iria de cabeça para diante dentro dágua se eu não o tivesse segurado por um pé e arrastado, com grande esforço, para a margem. Ali, depois de ter chorado, tanto quanto permitiam as circunstancias, o meu desgraçado companheiro, recobri-o de terra arenosa e deixei-o nas vizinhanças do rio para sempre. Ao mesmo tempo, cheio de inquietação e de temor por minha própria sorte, fugi, pelos caminhos mais afastados, para solidões impenetráveis. Como se tivesse a morte do homem na consciência, abandonei minha pátria e o meu lar. (LIVRO I, XIX)

Sendo executado, com o uso de magia, Sócrates tem sua vida aparentemente retirada, sendo sustentada depois apenas pelo artifício mágico empreendido por Méroe e Pância, de forma violenta. Porém, a vida de Aristômenes é poupada, com o intuito de amontoar um pouco de terra sobre o corpo do amigo (LIVRO I). Essa atitude, após ter explorado o corpo do semi-morto da maneira como lhes foram mais conveniente, poderia nos apontar um respeito pelo menos ao mais básico dos rituais funerários, até mesmo por parte das feiticeiras, figuras que são sinônimo de desordem, visto que o não cumprimento desses deveres poderia acarretar em desgraças futuras.

Assim, Aristômenes é deixado com vida para realizar o requisito mais básico entre os rituais funerários, depositar terra sobre o corpo. E efetivamente é a única coisa que ele consegue fazer, após o falecimento do amigo às margens da fonte de água: os rituais de caráter emocional como demonstra o trecho acima. Essa exigência de colocar terra sobre o corpo ocorria mesmo nos casos em que o defunto era cremado, antes da cremação era retirada uma fração do corpo, para essa ser enterrada mais tarde. Entretanto as pessoas tendiam a aspirar mais do que o básico e o sepultamento eficiente,

mesmo sendo realizado em uma escala modesta representava um custo considerável para a família enlutada, herdeiros ou sobrevivente (HOPE, 2004).

A não adequação para a eliminação dos mortos poderia trazer malefícios tanto para os vivos quanto para os mortos. Histórias de fantasmas e espíritos errantes eram frequentemente associados à execução incompleta ou incorreta dos rituais de sepultamento. Os espíritos daqueles que morriam de morte violenta ou prematuramente poderiam também ficar inquietos, a situação tendia a ser agravada pela falta de sepultura. Não se sabe ao certo até que ponto as pessoas acreditavam em fantasmas, espíritos errantes ou em vida após a morte, isso tudo ao que parece fazia parte do imaginário (WUNEMBURGER, 2007), constituindo assim a própria identidade social. O que podemos dizer é que diversos contos reforçam a ideia de respeito aos cadáveres, e esse respeito diz tanto da emoção e do carinho quanto dos aspectos religiosos (HOPE, 2004).

No contexto romano o corpo para além de definir identidades baseadas no sexo e na idade através da vestimenta, dos adornos e gestos poderia promover o individuo, assim a apresentação pública era fator essencial para definir como a identidade dos vivos era tanto construída como percebida, e isso não é imediatamente reduzido com a morte. O cadáver poderia manter um senso de "eu" e identidade. No entanto, como objeto inanimado, o corpo poderia se tornar um poderoso símbolo, podendo ser honrado e valoroso ou destituído e desprezado. Em outras palavras, as distinções da vida poderiam permear a morte, e o tratamento dado ao cadáver poderia ir em paralelo aspecto com a vida do morto (HOPE, 2004). Entretanto, a identidade do morto está aberta a manipulações, abusos e gerenciamentos de memória (RICOEUR, 2007) nas mãos de terceiros. Assim, o tratamento do corpo correspondia a um meio de ferir e humilhar ou honrar uns aos outros.

Em relação aos pobres, indigentes e abandonados esses tratamentos eram dado de forma impessoal e anônima. Bondade, respeito e honra não eram características dos sepultamentos desses. Os corpos indesejáveis ao serem retirados do público seguiam para valas comuns. Esse tratamento insuficiente, para muitos eram uma continuação das desgraças da vida, para outros o destino de seus corpos era reflexo de seus infortúnios em vida, ou mudança da fortuna, o que era mais dramático. Sócrates sofre essa mudança de fortuna, graças ao envolvimento com a feiticeira Méroe.

Por outro lado, entre os cidadãos mais abastados o funeral e o cemitério refletiam aspirações sociais e expectativas. O modo como o cadáver era tratado,

enterrado e comemorado era uma forma de negociar seu *status* e refletir ou construir identidades desejadas. A história que Telifrão contada a Lúcio, de perfil fantástico, na ocasião de uma comemoração ao deus riso na casa de Birrena, nos fornece uma narrativa pouco mais consistente para desmembrar essa questão de maneira mais efetiva. Precisando de dinheiro, Telifrão submete-se ao serviço de uma vigília fúnebre, do filho de um dos cidadãos principais (LIVRO II), para impedir o ataque furtivo de feiticeiras, que roubavam materiais, tais como os dentes do corpo, para realizarem suas práticas mágicas. Ao ser levado ao corpo que iria vigiar, ele percebe: "Encontrava-se ali o corpo coberto de linhos esplêndidos." (LIVRO II, XXIV). No dia seguinte, após ter concluído o trabalho, aparentemente de maneira bem sucedida ele acrescenta: "o morto já tinha saído da casa, depois dos prantos e dos chamados supremos. Segundo o uso tradicional, como se tratava de um membro da aristocracia, faziam-lhe funerais públicos e o cortejo passava através do fórum." (LIVRO II, XXVII).

O ponto alto de uma vida pública bem sucedida era uma morte honrosa seguida de um funeral público adequado. Visando honrar a memória do falecido, o cadáver encontrava-se no centro de uma série de eventos, o corpo desfilava pelas ruas e seguia rumo ao Fórum, centro social e político da cidade. Ali era apresentado e muitas vezes sustentado enquanto um membro masculino de sua família fazia um elogio em sua honra. Entre os que escutavam, incluíam-se pessoas trajadas como os antepassados do morto, vestindo máscaras que invocavam de maneira representativa a presença desses já falecidos. O cerimonial marcava assim, a passagem do indivíduo, simultaneamente, enfatizando a continuidade da família do passado e do presente, afirmando também os direitos de seus herdeiros e sucessores (HOPE, 2004).

A última grande recompensa terrena era um funeral e sepultamento financiados com recursos públicos, reservado durante o império, a quem servil bem a sua comunidade. Uma vez o cadáver eliminado, poderia ser erguido um monumento para marcar e proteger o local da sepultura. Isso dava mais prestigio ao individuo do que ter uma estatua de bronze, financiada também com recursos públicos. Como outra forma de distinção, através de uma permissão especial, o corpo poderia ser sepultado perto ou dentro de uma área chamada *pomerium*, "tira" sagrada que rodeava as paredes de um acordo marcando a área em que nenhum corpo poderia ser enterrado. Ao analisar os vestígios arqueológicos da cidade de Pompéia, Hope nos apresenta alguns casos em que a área dentro ou próximo ao *pomerium* foram utilizados para fins funerários (HOPE, 2004).

Assim, percebemos que o cemitério e o Fórum poderia se tornar um lugar para o público competir, onde os ritos normativos eram adotados, adaptados, elaborados, exagerados ou negados, apesar de o cemitério nem sempre refletir ou promover a hierarquia social, sendo mais uma arena possível de confronto. Desse modo, a identidade e o *status* social só poderiam ser negociados através do contato com o olhar do público, o outro. Sobre essa ideia a cerca do olhar, Vernant pode nos auxiliar, mesmo que ele trate do caso grego.

> é sempre olhando, não dentro de si mas para fora, para um ser diferente que lhe é aparentado, que nossa alma pode se conhecer, como o olho pode ver no exterior um objeto iluminado por causa da afinidade natural entre o olhar e a luz, da similitude completa entre o que vê e o que é visto. Assim, o que somos, nosso rosto e nossa alma, nós o vemos e conhecemos ao olhar o outro e a alma do outro. A identidade de cada um se revela no contato com o outro, pelo cruzamento dos olhares e pela troca de palavras (VERNANT, 2002: 184).

No desfecho da narrativa de Telifrão, o irmão do morto, no ritual público do enterro, acusa a cunhada adúltera de assassinar seu ente querido, assim, o próprio cadáver, por intermédio da magia, confirma tal crime, contando ainda acerca da mutilação do corpo do guardião pelas feiticeiras, durante a noite, metamorfoseadas de doninhas. Chamando pelo nome do morto, elas atraem Telifrão, perdendo orelhas e nariz, substituídos por copias de cera. Essa narrativa, assim como a de Aristômenes, possui caráter fantástico, porém, alude a realidade vivida de Apuleio. Omena, ao falar da questão coloca:

> Como bem pontua Bronislaw Baczko: Através destes imaginários sociais, uma coletividade designa sua identidade elaborando uma representação de si; marca a distribuição dos papéis e das posições sociais; expressa e impõe certas crenças comuns, determinando especialmente modelos formadores como o do 'chefe' (OMENA, 2009: 103).

Percebemos, contudo, na narrativa apuleiana, a presença de dois tipos de magia, uma ligada à ação das feiticeiras, que sempre visam o interesse particular, a outra se liga a religião, a ação dos deuses (OMENA, 2009). Assim, essa magia que visa a interesses pessoais, mal vista tanto pelo governo quanto pela sociedade, por submeter a todos através medo, fascina Lúcio desde o relato de Aristômenes, e a narrativa desse e de Telifrão poderiam ser entendidas como anunciadoras das desventuras que essa causaria na vida do jovem viajante.

O Asno de Ouro se constitui por uma representação realista marcada frequentemente pela degradação humana. Trata-se de uma narrativa de aventura, de costumes (BAKHTIN, 1999), e de confissão (MOTTA, 2006), visto que o asno-Lúcio narra suas próprias desventuras, criando assim um espaço de representação ante-heróica, onde os tipos sociais e morais do mundo real são caricaturados. O protagonista passa por três processos de degradação: primeiro ao se submeter à escrava Fótis, para se aproximar da magia, segundo na sua nova condição entre homem e asno, "animal que encarna os maus instintos, as forças maléficas, a sensualidade desenfreada." (MINOIS, 2003: 95). Por último degrada-se ao se submeter a deusas Ísis, para retornar a forma humana (OMENA & SILVA, 2010).

Ao se metamorfosear em asno, Lúcio sofre, associado a esse processo de degradação, o que chamamos aqui de morte simbólica, essa se explicita quase que em um processo gradativo no decorrer da obra, iniciando-se no momento em que acidentalmente o pote de unguento é trocado e a estrutura anatômica da personagem se altera contrariando suas expectativas.

> De penugem, no entanto, ou de penas, nenhum sinal. Porém, meus pêlos se espessaram em crinas, minha pelo macia endureceu como couro, a extremidade de minhas mãos perdeu a divisão dos dedos, que se ajuntaram todos num casco único; da parte mais baixa da minha espinha, saiu uma longa cauda. Eis-me agora com uma cara monstruosa, uma boca que se alonga, ventas largas, lábios pendentes. Minha orelha, por sua vez, cresceram desmedidamente e se eriçaram de pêlos. (LIVRO III, XXIV)

Ao perceber o engano de Fótis, a escrava que o estava ajudando, e a qual ele se submete, Lúcio tenta maldizê-la, pois a metamorfose em asno anulou sua fisicalidade original, impossibilitando-o assim de qualquer forma de comunicação humana: "Não tendo, no entanto, de homem, nem voz nem o gesto, não podendo fazer mais, eu estava reduzido a olhá-la de através, com a beiçola pendurada, os olhos úmidos, dirigindo-lhe mudas censuras." (LIVRO III, XXV). Essa nova condição afasta Lúcio do exercício da cidadania, assim como dos cerimoniais públicos e das relações de pessoalidade, essenciais para o benefício político e material (OMENA & SILVA. 2010).

Se retrocedermos um pouco na narrativa, para o inicio do Livro III, momento em que o personagem Lúcio esta sendo julgado pelo assassinato de três homens que supostamente cometera, podemos perceber melhor a importância da linguagem na sociedade romana:

> Não ignoro quanto é difícil, em presença dos cadáveres de três cidadãos, o acusado das mortes persuadir de sua inocência uma assembléia tão grande, mesmo se disser a verdade; mesmo se, sem dificuldade, explicar-se. Entretanto, se vossa bondade, cidadãos, me conceder um momento de atenção, não terei muito trabalho em demostrar que não se trata de uma falta que põe minha cabeça em perigo, mas foi o efeito fortuito de um indignação razoável que me trouxe o labéu do odioso crime de que não sou culpado. (LIVRO III, IV)

E ele completa dizendo: "Acabando este discurso, minhas lagrimas jorraram de novo. Estendendo as mãos num gesto de suplica, implorei tristemente pela publica misericórdia a uns, por suas afeições mais caras a outros." (LIVRO III, IV). Percebemos que, ao tomar a palavra para si, proferindo sua defesa e associando-a a uma linguagem corporal condizente, Lúcio inserido no jogo de poder social, tendo nas mãos a possibilidade de alterar sua fortuna. Afirmando sua identidade e sua cidadania, através do embate com outros. Segundo Vernant, "em uma sociedade de confronto na qual, para ser reconhecido, é preciso derrotar os rivais em uma competição incessante pela glória, cada indivíduo está colocado sob o olhar do outro, cada individuo existe por este olhar" (VERNANT, 2002: 407).

A metamorfose em asno faz com que Lúcio perca sua fisicalidade original, perdendo também a possibilidade de comunicação dentro da sociedade de combate que se constituía o universo romano no qual ele era inserido, pois, a limitação física que sua nova condição lhe proporciona faz com que ele não execute de forma ativa os códigos de comunicação, pois, não consegue exercer sua cidadania. Omena e Silva, ao discutirem a questão tendo como respaldo as afirmativas de Aristóteles, nos diz que aquele que não consegue viver em comunidade, ou não o faz questão de fazê-lo, não tem nada haver com a cidade, de modo que é uma besta selvagem ou um deus (OMENA & SILVA, 2010: 05). Assim, a morte física que gerou uma morte da "linguagem padrão" conduz Lucio à degradação, e de maneira quase inevitável, nesse primeiro momento, a uma morte social.

Lúcio perde o controle sobre si, como é explicitado no trecho seguinte:

> Apoderaram-se de mim, amarraram-me a uma argola com uma forte correia, recomeçaram a bater-me, e teriam certamente acabado comigo, se meus intestinos, contraídos pela dor das pancadas, estufados de legumes crus, como sabeis, e afligidos por uma forte diarréia, não tivessem esguichado um jato de excremento, de maneira que, aspergidos pelo líquido infecto, ou afugentados pelo seu odor

> repugnante, escapuliram, deixando-me com o lombo quebrado. (LIVRO IV, III).

Entretanto, é perceptível que essa "morte simbólica" que aflige Lúcio não atinja sua inteligência ou sua capacidade de reflexão. "A sorte do meu desventurado camarada me fez refletir" (LIVRO IV,V) Essa capacidade, o caracteriza, segundo Omena como homem-fronteira (OMENA & SILVA, 2004). Essa capacidade analítica que não se perde com a metamorfose é também, ao nosso ver, ao lado da providencial ajuda da deusa Ísis, o que irá possibilitar uma reviravolta em sua sorte.

Depois de inúmeras venturas e desventuras em sua jornada, o personagem vê sua sorte muda, já no Livro X da obra, ao ser vendido para dois irmãos, escravos de um importante senhor muito rico, um pasteleiro e confeiteiro, o outro um exímio cozinheiro. A gula que o animal demonstrou, atraiu a atenção dos irmãos que "quebravam a cabeça para imaginar coisas de que um burro tivesse maior horror a fim de experimentarem até que ponto eu estava civilizado" (LIVRO X, XVI). Tal atitude chamou a atenção do Senhor, que fascinado com as atitudes do animal resolveu testá-lo, lhe pondo para beber um copo de vinho com mel. "Mas eu, sem o menor embaraço, tranquilamente e com graça, arredondei o beiço inferior, a modo de língua, e esvaziei de um trago o cálice de grandes dimensões." (LIVRO X, XVI) Lúcio assim, cai nas graças do Senhor.

> Esse homem me tratava com muita humanidade [...] imaginava fazer das minhas habilidades uma fonte de divertimento. Primeiro me ensinou a me pôr perfeitamente à mesa, apoiando-me sobre o cotovelo; depois, a lutar e dançar, levantando no ar as patas da frente; e, prodígio feito entre todos para espantar, a responder à palavra com gestos apropriados: puxar a cabeça para trás significava recusa; incliná-la para a frente, aquiescência. Quando eu tinha sede, olhava para o lado do escanção e piscava os olhos, alternativamente, para pedir bebidas. Aprendizagem muito fácil para mim, como sabeis. Eu o teria feito mesmo sem que me mostrassem, mas temia que, se acontecesse comportar-me como homem, sem as lições de um mestre, vissem em mim um presságio de desgraça, e que, me cortassem o pescoço e me atirassem como pasto suculento aos abutres. (LIVRO X, XVII)

Para Bérgson (2007), o riso só pode acontecer naquilo que é humano, ou carrega trações de humanidade, essa é uma de suas pré-condições. Dessa forma, é a gula, excesso tipicamente humano, a responsável, de forma cômica, pela afeição dos irmãos pelo infeliz animal, dando inicio assim a um processo de humanização. Os trechos acima nos indicam também que é graças à capacidade reflexiva de julgar os

limites de suas atitudes e tal processo de humanização, mesmo estando ainda na condição de burro, e a criação de códigos de comunicação compartilhado, que permite a Lúcio mudar sua sorte.

Sua redenção plena, porém, só é alcançada após um sonho revelador concedido pela Deusa Isis, que mostrava a ele onde e quando conseguir as tais rosas capazes de livrá-lo daquele suplicio. E assim:

> Minha deformada aparência de besta se desfez imediatamente. Primeiro, foi-se o pêlo esquálido; depois, o couro espesso se amaciou e o ventre obeso abaixou; na planta dos meus pés, os cascos deixaram emergir os dedos: minhas mãos não eram mais patas, e se prestavam às funções de membro superior: meu longo pescoço chegou aos seus justos limites; meu rosto e minha cabeça se arredondaram, minhas orelhas enormes voltaram à sua pequenez primeira; meus dentes, semelhantes a tijolos, reduziram-se às proporções humanas; e a cauda, sobretudo, que me cruciava desapareceu! (LIVRO XI, XIII)

O desimpedimento do corpo de Lúcio, agora em sua forma original, possibilita também um renascimento de sua linguagem, a muito perdida. “Não sabia o que dizer de preferência, nem por onde começar. Como entrar na matéria, com a voz que me era devolvida. Com que palavras de feliz augúrio saudar o renascimento em mim da linguagem.” (LIVRO XI, XIV) Assim, ele passa a poder integrar novamente o meio do qual a muito havia sido excluído. Porém, a adesão do personagem Lúcio aos cultos e mistérios da deusa Ísis, equivaleu ao que aqui nós chamamos de Morte Voluntária, visto que, para ser iniciado em tal culto ele deveria abdicar das práticas de sua vida anterior aos infortúnios que ele passou na pele de asno. “O próprio ato de iniciação representa uma morte voluntaria e uma salvação obtida pela graça.” (LIVRO XI, XXI) Essa iniciação aos cultos, compreendida por nós como uma morte voluntária, vem em oposição à metamorfose sofrida por Lúcio, já que esta seria uma morte simbólica e involuntária, fruto de um funesto engano da escrava Fótis. Entretanto, ambas constituem-se como processos de degradação e a redenção de uma através da outra nos diz do caráter irônico da obra. Portanto, a degradação humana, esse traço típico do romance de caráter realista é expressa no decorrer de todo esse processo de humanização de Lúcio, que se inicia como motivador de excesso, gula, e se efetiva na submissão da personagem a deusa Ísis.

Conclusão:

Apuleio nos possibilita perceber valores morais, assim como identificar identidades individuais e sociais, através do tratamento de corpos e dos espaços de sepultamento. Sócrates teve uma reviravolta em sua fortuna em decorrência das ações de Méroe, alterando sua condição social, morre assim de maneira infame, tendo o mínimo de honras funerárias adequadas graças a seu amigo Aristômenes (LIVRO I). Em oposição a isso, temos a narrativa de Telifrão (LIVRO II), que diz das cerimônias e honras funerárias de um aristocrata, espaço para o jogo e a negociação de *status* e identidades, tanto do morto, como de sua família. As identidades são expressas também através da relação dos indivíduos com os mortos e suas crenças em magia e feiticeiras no decorrer da narrativa.

Bibliografia:

Fonte Documental

APULEIO, Lúcio. *O asno de Ouro*. Trad. de Ruth Guimarães. Rio de Janeiro: Ediouro, s. d.

Bibliografia Contemporânea

ARIÈS, Philippe. História da Morte no Ocidente. São Paulo: Ediouro, 2001.
BAKHTIN, Mikhail, *A cultura popular na Idade Média e no Renascimento*: o contexto de François Rabelais, São Paulo, Hucitec, Brasília, Ed. UnB, 1999.
BERGSON, Henri. O Riso: Ensaio sobre a Significação da Comicidade. Trad. Ivone Castilho Benedetti. São Paulo: Martins Fonte, 2007.
BOLDE, John. Dealing With the Dead: Undertakers, executioners and potter's fields in ancient Rome. In: Death and Disease in the Ancient City. New York and London: Routledge, 2004.
BOURDIEU, Pierre. *O Poder Simbólico*. Trad. de F. Tomaz. 2ª Ed. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 1998.
GINZBURG, Carlos. Sinais: Raízes de um paradigma indiciário. In: *Mitos, emblemas, sinais*; morfologia e história. São Paulo: Companhia das Letras, 1989.
HOPE, Valerie M. Contempt and Respect: The treatment of the corpse in ancient Rome. In: Death and Disease in the Ancient City. New York and London: Routledge, 2004.
MARROU, Henri-Irenée. Condições e Meios da Compreensão. *Sobre o Conhecimento Histórico*. Rio de Janeiro: Zahar Editora, 1978.
MINOIS, Georges. História do riso e do escárnio. São Paulo: UNESP, 2003.
MOTTA, Sérgio Vicente, *O engenho da narrativa e sua árvore genealógica*. Das origens a Graciliano Ramos e Guimarães Rosa, São Paulo, UNESP, 2006.
OMENA, Luciane Munhoz de, A magia como exercício de poder entre as mulheres fictícias nas Metamorfoses, de Lúcio Apuleio, *Caderno Espaço Feminino*, Uberlândia, UFU, v. 21, n. 1, jan-jul., pp. 99-115, 2009.

_____. SILVA, Suiany Bueno. Memória de Viajante: As faces da Escravidão no Mediterrâneo Antigo (Século II d.C.). *Praesentia*, n.10, pp. 1-13, 2010.
PESAVENTO, Sandra Jatahy. *História & História Cultural*. Belo Horizonte: Autêntica, 2008.
PROST, Antoine. Doze Lições Sobre a História. Trad. Guilherme João de Freitas Teixeira. Belo Horizonte: Autêntica Editora, 2012.
RICOEUR, Paul. A memória exercitada: uso e abuso. *A memória, a história, o esquecimento*. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2007.
VERNANT, Jean-Pierre, *Entre Mito e Política*, São Paulo, EDUSP, 2002.
YATES, Frances A. As três fontes latinas da arte clássica da memória. In: *A arte da memória*. Campinas, SP: Unicamp, 2007.
WUNENBURGER, Jean-Jacques. *O imaginário*. Trad. Maria Stela Gonçalves. Rio de Janeiro: Loyola, 2007.

Comunidade de Roedores e Marsupiais do Sudoeste Goiano

Gilson de Souza Ferreira Neto[1] & Fabiano Rodrigues de Melo[2]*

Palavras-chave: Cerrado, pequenos mamíferos não voadores, levantamentos.

1. Orientando. Bolsista PIVIC/CNPq. Graduando em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Goiás. Campus Samambaia. Goiânia-GO. (gilsoneto2011@hotmail.com).
2. Orientador. Professor adjunto IV do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás. Campus de Jataí / Unidade Jatobá BR 364, Km 192, Setor Industrial, 75800-000, Jataí, GO, Brasil (frmelo@carangola.br)
*** - Revisado pelo orientador.**

1. Introdução

O Cerrado é um bioma que compreende um mosaico de diferentes tipos de vegetação, determinados principalmente pelas condições do solo, o que, somado a diversos fatores conferem um caráter de heterogeneidade ambiental. O bioma é considerado um hotspot pela Conservação Internacional (Klink e Machado, 2005), merecendo os mamíferos uma posição de destaque por ser um grupo bastante diverso no país, com mais de 703 espécies descritas (Paglia et al., 2012). Dentre esse número, 22% das espécies de mamíferos brasileiras que ocorrem no Cerrado pertencem às ordens Rodentia e Didelphimorphia (Becker et al., 2007; ***Bonvicino et al., 2008; Rossi et al., 2010***) ou são endêmicas da região.

Pequenos mamíferos não-voadores formam o grupo ecológico mais diversificado de mamíferos das florestas Neotropicais e exercem influência importante na dinâmica das mesmas. Este grupo desempenha papel importante na manutenção da diversidade das espécies, através da flora, por dispersão de sementes, controle de pragas e também são importantes na alimentação de diversos grupos de vertebrados. São bons indicadores tanto de alterações locais do habitat como alterações da paisagem (Pardini e Umetsu, 2006).

Apesar de sua notável importância, as ordens em questão ainda não possuem taxonomia bem definida, apesar de vários esforços nesse sentido (Patton*et al*., 2000; Bonvicino *et al*., 2002; Andrade & Bonvicino, 2003;***Bonvicino et al., 2008; Rossi et al., 2010***), e os estudos sobre sua ecologia ainda apresentam diversas lacunas. Boa parte dos levantamentos e inventários realizados não contam com recursos para identificação além do nível genérico, que necessitam, para a grande maioria das espécies, de análises moleculares, citogenéticas e morfométricas do crânio.

2. Objetivos

Analisar a estrutura da comunidade de pequenos mamíferos, baseado na identificação correta dos espécimes coletados, sendo feitas inferências a respeito da área de vida das populações, riqueza e abundância de espécies.

Inferir a respeito do estado de conservação, relacionando a interação das populações com seu hábitat natural em interface com as matrizes circundantes e demais características da paisagem local.

3. Metodologia

Os espécimes foram coletados bimestralmente em seis fragmentos de cerrado no Sudoeste Goiano. Para a captura dos animais foram utilizadas armadilhas de arame tipo gancho para espécies maiores e dobráveis de alumínio tipo Sherman para espécies de menor porte. Foi utilizado um total de 120 armadilhas (60 gancho e 60 Sherman) que foram dispostas ao longo de transectos pelo interior da área de estudo, em pontos (estações de coleta) espaçados 25m entre si resultando em uma transecção de 1.500m de extensão total.

Em cada estação de coleta, as armadilhas foram alternadas quanto à posição (uma armadilha sobre o chão da floresta e a outra a 1,5-2,0m de altura na vegetação do sub-bosque), iscadas no período da manhã e checadas na manhã seguinte. A isca utilizada era composta de pedaços de abacaxi, pastas de amendoim, óleo de fígado de bacalhau e sardinha. Mensalmente, foram contabilizadas cinco noites de captura.

Cada espécime capturado teve o peso, biometria corporal e sexo conferidos, dados que auxiliaram a identificação específica e compreensão da ecologia.

Exemplares das espécies capturadas foram coletadas para que, com o auxílio de grupo especializado se procedesse a identificação específica, tendo a medula do fêmur e o crânio coletados e preparados conforme procedimentos padrões.

Posteriormente, foram taxidermizados e devidamente depositados na coleção do Laboratório de Ecologia e Zoologia da Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí.



Figura 1.Armadilha do tipo Sherman.



Figura 2. Armadilha do tipo Gancho.



Figura 3. Espécime sendo preparado para Taxidermia.

4. **Resultados**

No período de 05/2012 a 09/2012 foram realizadas coletas mensais em uma área florestal no Sudoeste do Estado de Goiás, sendo uma área de influência do Bioma Mata Atlântica.

Este fragmento florestal está situado no município de Rio Verde (GO), localizado a 65 km de Jataí (GO).

O fragmento florestal faz parte de uma reserva legal de propriedade da Fazenda Três Barras/Rio Verdinho e possui cerca de 800 ha.

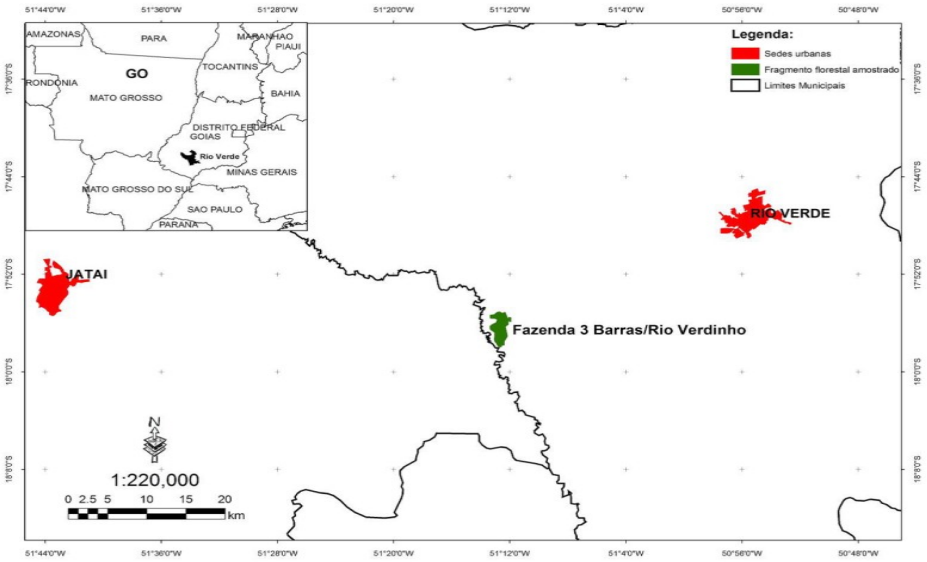


Figura 4. Mapa evidenciando a localização do fragmento florestal estudado na Fazenda Três Barras/Rio Verdinho, Rio Verde, Goiás.



Figura 5. Imagem de satélite extraída do Google Earth©, datada de XX/XX/201X, evidenciando o trecho de floresta e sua matriz circundada por pastagem e plantações, Faz. Três Barras/Rio Verdinho, Rio Verde, Goiás.

Tabela 01 - Dados dos espécimes coletados durante o período de estudo, incluindo as espécies, datas das coletas, peso, sexo e número de campo.

Campanha	Data da coleta	Espécie	Peso (g)	Sexo	Código
1ª	05/05/2012	*Oecomys bicolor*	30	M	3B01
1ª	05/05/2012	*Marmosa murina*	29	F	3B02
1ª	05/05/2012	*Marmosa murina*	35	M	3B03
1ª	06/05/2012	*Oecomys bicolor*	33	M	3B04
1ª	06/05/2012	*Hylaeamys megacephalus*	29	F	3B05
1ª	07/05/2012	*Hylaeamys megacephalus*	33	F	3B06
1ª	07/05/2012	*Hylaeamys megacephalus*	40	M	3B07
1ª	07/05/2012	*Marmosa murina*	42	M	3B08
1ª	08/05/2012	*Rhipidomys macrurus*	59	M	3B09
1ª	08/05/2012	*Marmosa murina*	40	M	3B10
1ª	09/05/2012	*Hylaeamys megacephalus*	33	F	3B11
2ª	31/05/2012	*Rhipidomys macrurus*	90	M	3B12
2ª	31/05/2012	*Rhipidomys macrurus*	82	M	3B13
2ª	31/05/2012	*Rhipidomys macrurus*	60	F	3B14
2ª	01/06/2012	*Oecomys bicolor*	40	F	3B15

2ª	01/06/2012	*Calomys*sp.	54	M	3B16
2ª	02/06/2012	*Oecomys bicolor*	48	M	3B17
2ª	02/06/2012	*Hylaeamys megacephalus*	68	M	3B18
2ª	02/06/2012	*Hylaeamys megacephalus*	43	M	3B19
2ª	03/06/2012	*Hylaeamys megacephalus*	35	F	3B20
2ª	03/06/2012	*Gracilina nusagilis*	25	M	3B21
2ª	04/06/2012	*Marmosa murina*	60	M	3B22
3ª	26/06/2012	*Rhipidomys macrurus*	68	F	3B23
3ª	26/06/2012	*Hylaeamys megacephalus*	52	M	3B24
3ª	26/06/2012	*Hylaeamys megacephalus*	60	M	3B25
3ª	26/06/2012	*Hylaeamys megacephalus*	30	F	3B26
3ª	27/06/2012	*Marmosa murina*	54	M	3B28
3ª	27/06/2012	*Hylaeamys megacephalus*	55	M	3B27
3ª	27/06/2012	*Oecomys bicolor*	33	M	3B29
3ª	28/06/2012	*Hylaeamys megacephalus*	59	M	3B30
3ª	28/06/2012	*Hylaeamys megacephalus*	68	M	3B31
3ª	28/06/2012	*Marmosa murina*	66	M	3B32
Campanha	Data da coleta	Espécie	Peso (g)	Sexo	Código
3ª	30/06/2012	*Rhipidomys macrurus*	70	M	3B33
3ª	30/06/2012	*Rhipidomys macrurus*	82	M	3B34
4ª	07/08/2012	*Rhipidomys macrurus*	73	M	3B35
4ª	07/08/2012	*Hylaeamys megacephalus*	30	M	3B36
4ª	07/08/2012	*Rhipidomys macrurus*	53	M	3B37
4ª	07/08/2012	*Marmosa murina*	30	F	3B38
4ª	08/08/2012	*Gracilinanus agilis*	25	M	3B39
4ª	08/08/2012	*Gracilinanus agilis*	22	M	3B40
4ª	08/08/2012	*Marmosa murina*	58	M	3B41
4ª	08/08/2012	*Hylaeamys megacephalus*	62	M	3B42
4ª	09/08/2012	*Hylaeamys megacephalus*	54	M	3B43
4ª	09/08/2012	*Hylaeamys megacephalus*	15	F	3B44
4ª	09/08/2012	*Marmosa murina*	44	M	3B45
4ª	10/08/2012	*Gracilinanus agilis*	21	M	3B46
4ª	10/08/2012	*Hylaeamys megacephalus*	64	M	3B47



Figura 6. *Oecomys cf. bicolor* com anilha de marcação.



Figura 7. *Marmosa murina.*

5. **Discussão**

Estudos demonstram que a utilização de armadilhas de interceptação e queda (*pitfall*) podem conferir maiores chances de captura para determinadas espécies (PARDINI & UMETSU, 2006), sendo que este fator pode ter influenciado nosso sucesso de captura. Estas armadilhas são amplamente utilizadas para a amostragem de anfíbios, répteis e pequenos mamíferos (WILLIAMS & BRAUN, 1983). Uma das vantagens do método é a captura de animais que raramente são amostrados através dos métodos tradicionais de captura (CAMPBELL & CHRISTMAN, 1982), permitindo acesso a espécies de hábito cursorial, fossorial e semi-fossorial, além de ser uma armadilha não-seletiva como ganchos, tomahawks e shermans, que necessitam de isca.

Paglia (1995) e Stallings (1988) encontraram 17 espécies em áreas de Mata Atlântica; Fonseca (1989) registrou 19; Pardini & Umetsu (2006) encontraram 23. Bonvicino *et al.* (2005) capturaram 19 espécies no Cerrado, enquanto Mares *et al.* (1986) encontraram 23.

Neste trabalho foram capturadas seis espécies.

De fato, Bonvicino (2002) mostra que não há diferença na riqueza comparando-se os dois biomas, refutando a idéia errônea de que a Mata Atlântica possui uma fauna mais rica para pequenos mamíferos.

Foram contabilizados 33 indivíduos das 4 espécies de roedores coletadas, sendo 5 indivíduos pertencentes a espécie *Oecomys bicolor*(4 machos e 1 fêmea),18 indivíduos da espécie *Hylaeamys megacephalus,*sendo 12 machos e 6 fêmeas,9 indivíduos da espécie *Rhipidomys macrurus*(7 machos e 2 fêmeas) e 1 indivíduo macho da espécie *Calomyssp.*

Também foram coletados 14 indivíduos das 2 espécies de marsupiais,sendo 4 indivíduos machos de *Gracilina nusagili e* 10 indivíduos de *Marmosa murina*(8 machos e 2 fêmeas).

O fato de terem sido coletados mais indivíduos do sexo masculino em relação a indivíduos do sexo feminino deve-se ao fato de que muitas fêmeas de roedores e marsupiais encontravam-se lactantes, tendo sido marcadas e liberadas por este motivo.

Dentre os 47 indivíduos capturados, 70% eram roedores e 30% marsupiais, sendo os roedores também dominantes no número de espécies, sendo o roedor *Hylaeamys megacephalus* a espécie mais abundante nesta comunidade amostrada (38% do total de espécies capturadas),seguido do marsupial *Marmosa marina* com 21 % das coletas, corroborando com vários estudos existentes, onde o padrão de distribuição das espécies em comunidades de pequenos mamíferos não voadores apresenta de uma a três espécies dominantes e muitas raras (BECKER *et al,* 2007, FONSECA, 1989).

As outras espécies capturadas não tiveram abundância tão expressiva como, por exemplo, as espécies de roedores e marsupiais *Oecomys bicolor*, *Rhipidomys macrurus* ,*Calomyssp Gracilina nusagilis,*com *(*11%,19%,2% e 9% de captura)respectivamente.

Algumas espécies podem apresentar pequenas populações devido ao elevado grau de fragmentação presente na paisagem, fato este observado e predominante na região. Esta fragmentação afeta, de forma mais acentuada, as populações de espécies dependentes das fitofisionomias florestais. A interrupção da vegetação faz com que as populações de animais silvestres, em especial aqueles com baixo poder de dispersão, mantenham-se restritas ou isoladas nos fragmentos.

Espécies de pequenos mamíferos são facilmente prejudicadas por pequenas ações antrópicas. As áreas de vida pequenas, a forma de vida arborícola que algumas espécies apresentam, deixam-nas totalmente dependentes de faixas contínuas de vegetação e acabam por comprometer a dispersão e manutenção genética destes animais.

Os dados obtidos não podem ser tidos como conclusivos, pois o grupo em questão responde com variações populacionais acentuadas em função da sazonalidade.

Como só amostramos os meses de maio a setembro de 2012, certamente, estamos subestimando a real riqueza da área. Estudos sobre a reprodução de pequenos mamíferos confirmam que a reprodução está diretamente relacionada a fatores ambientais, ou seja, o tamanho de suas populações apresentará variação de acordo com a época do ano (CERQUEIRA, 2005).

Marsupiais respondem principalmente ao fotoperíodo. O inicio e o fim da estação reprodutiva é influenciado pela duração do dia. No entanto, roedores tem a sua

reprodução relacionada ao regime de chuvas (CERQUEIRA, 2005). Isso se deve à necessidade de uma abundante alimentação nesse período.

Logo, a abordagem mais correta para obter os dados mais coerentes, em relação à riqueza e abundância da comunidade de pequenos mamíferos é fazer campanhas de captura em todas as estações do ano, levando em conta a sazonalidade dos pequenos mamíferos não voadores.

O fato do uso permanente dessas armadilhas na mesma área dentro do fragmento durante os 5 meses pode aparentemente ter esgotado as chances de captura de outras espécies mais especializadas a ambientes distintos aos amostrados.

6. **Conclusões**

A área estudada apresenta fortes indícios da influência da Mata Atlântica, contando com registros de espécies características deste bioma. No entanto, para a fauna de pequenos mamíferos ainda é necessário um esforço de amostragem continuado.

Campanhas de captura em todas as estações do ano que estejam relacionadas à sazonalidade reprodutiva destes animais devem ser realizadas, para que se possa abranger de fato os dados mais relevantes e as flutuações populacionais da comunidade em questão.

Pode-se inferir, então, que o esforço amostral realizado não foi suficiente para os sítios amostrados, mas que para os remanescentes florestais como um todo ainda é possível registrar um grande número de espécies, visto que dados de estudos tanto do Cerrado como da Mata Atlântica apontam para um número muito maior de espécies.

7.**Considerações finais**

O bolsista da modalidade PIVIC do CNPq Gilson de Souza Ferreira Neto solicitou junto ao órgão competente de sua instituição, a Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação-PRPPG-UFG,o cancelamento da bolsa,tendo em vista a aprovação do mesmo para intercâmbio através do Programa Ciência Sem Fronteiras, modalidade Graduação Sanduíche no Exterior,sendo queo curso na qual fará começou no dia 22 de julho do corrente ano,na *Queensland University of Technology*(QUT),localizada na cidade de Brisbane,Campus Kelvin Grove,na Austrália. Pelo fato da bolsa PIVIC ainda estar vigente durante este período, o estudante mencionado fez esta solicitação e, pelo mesmo motivo, está isento de participar do congresso anual de sua instituição para alunos de iniciação científica (Conpeex) que ocorrerá em outubro, durante a vigência de sua bolsa de estudos concedida pela Capes e CNPq no exterior.

7. Agradecimentos

Ao CNPq pela oportunidade de participar do projeto, com o programa de bolsa de Iniciação Científica (PIVIC).
Ao Professor Dr. Fabiano Rodrigues de Melo pela orientação e a equipe de campo que me ajudou na captura dos pequenos mamíferos.

8. **Bibliografia citada**

ANDRADE, A.F.B.; & BONVICINO, C.R.; A new karyological variant of *Oecomys* (Rodentia: Sigmodontinae) and its phylogenetic relationships based on molecular data. *Genome* 46:195-203.2003.

AUGUST, P.V. The role of habitat complexity and heterogeneity in structuring tropical mammal communities. Ecology, v.64, p.495-513, 1983.

BECKER, R.G. *et al* Estrutura de comunidades de pequenos mamíferos e diversidade de *Necromys lasiurus* (Rodentia ,Sigmodontinae) em áreas abertas de cerrado no Brasil central. *Mastozoologia Neotropical*, 14(2):157-168, 2007.

BONVICINO, C.R.; OLIVEIRA, J.A.; D'ANDREA, P.S. Guia dos Roedores do Brasil com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa-OPAS/OMS, 2008.

BONVICINO, C. R., LEMOS, B. & WESKLER, M., 2005, Small mammals of Chapada dos Veadeiros National Park (Cerrado of Central Brazil): ecologic, karyologic and taxonomic considerations. *BrazilianJournalofBiology*, 65, 395-406.

BONVICINO, C.R.; LINDBERGH, S.M.; MAROJA, L.S. Small non-flying Mammals from conserved and altered áreas of Atlantic Forest and Cerrado: Comments on their potential use for monitoring environmental. *Journal Biological Brazilian*, 62 (4B): p.765-774, 2002.

CAMPBELL, H.W. & CHRISTMAN, S.P., 1982, Field techniques 1'01' herpetofaunal community analysis, p. 193-200./11: N.J. Scott, JR. (Ed.). Herpetological communities.*Washington, U.S. Fish Wild.Servo Wildl*.

CERQUEIRA, R., 2005, Fatores ambientais e a reprodução de marsupiais e roedores no leste do Brasil. *Arquivos do MuseuNacional*, 63, 29-39.

FONSECA, G. A. B., 1989, Small mammal species diversity in Brazilian tropical primary and secondary forest of different sizes. Revista Brasileira de Zoologia, 6, 381-422.

GRAIPEL, E.M *et al*. 2006. Dinâmica populacional de marsupiais e roedores no parque municipal de Lagoa do Peri, Ilha de Santa Catarina, Sul do Brasil. *Mastozoologia Neotropical*, 13(1): 31-49, Mendonza.

HELTSHE, J.F. & FORRESTER, N.E. Estimating species richness using the jackknife procedure. *Biometrics*, v.39, n.1, p. 1-11, 1983.

KLINK, C. A. & MACHADO, R. B. 2005. A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade*, vol. 1, 215p :147-155.

LYRA JORGE, M.C *et al* 2001. Riqueza e abundância de pequenos mamíferos em ambientes de cerrado e floresta, na reserva cerrado Pé-de-Gigante, Parque Estadual de Vassununga (Santa Rita do Passa Quatro, SP), *Naturalia*, São Paulo, 26:287-302,2001.

PAGLIA, A. P.; De MARCO Jr., P.; COSTA, F. M.; PEREIRA, R. F. e LESSA, G. 1995. Heterogeneidade estrutural e diversidade de pequenos mamíferos em um fragmento de mata secundária de Minas Gerais, Brasil. *Rev. Bras. Zool.* 12 (1): 67-79.

Paglia, A. P., Fonseca, G. A. B., Rylands, A. B., Herrmann, G., Aguiar, L. M. S.,A. G., Leite, Y. L. R., Costa, L. P., Siciliano, S., Kierulff, M. C. M., Mendes, S. L., Tavares, V. A. C., Mittermeier, R. A. & Patton J. L. 2012. ListaAnotada dos Mamíferos do Brasil / Annotated Checklist of Brazilian Mammals. 2ª Edição / 2nd Edition. Occasional Papers in Conservation Biology, no. 6. Conservation International, Arlington, VA. 76p.

PARDINI, R. & UMETSU, F., 2006, Pequenos mamíferos não-voadores da Reserva Florestal do Morro Grande – distribuição das espécies e da diversidade em uma área de Mata Atlântica. *Biota Neotropica*, 6, 1-22.

PATTON, J.L.; da SILVA, M.N.F.; MALCOLM, J.R. Mammals of the rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. Bulletin of the American Museum of Natural History, 244: 1-306, 2000.

ROSSI, R.V.; BIANCONI, G.V.; CARMIGNOTTO, A.P.; MIRANDA, C.L. Ordem Didelphimorphia. In: Mamíferos do Brasil, Guia de Identificação. Rio de Janeiro, ed. Technical Books, 2010.

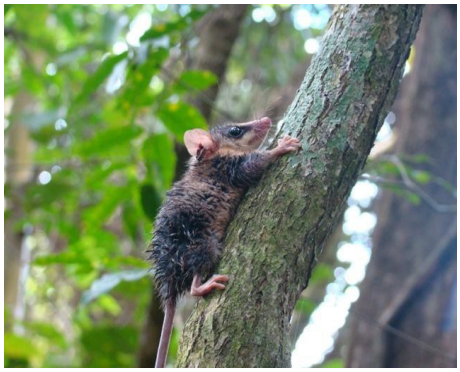
STALLINGS, J. R., 1988, Small mammal inventories in a eastern Brazilian park. *Bulletim ofFlorida StateMuseam*, 34, 153-200.

WILLIAMS, O. F. & BRAUN, S. E., Comparison of pitfall and conventional traps for sampling small mammals populations. *Journal**Wildlife Management***, 47841, 845-1983.

Anexos



Anexo 1.*Oecomys cf. bicolor* após soltura.



Anexo 2.Marmosa murina após soltura.

PESQUISA DA ATIVIDADE ANTIVIRAL DO LÁTEX EXTRAÍDO DA PLANTA *Synadenium umbellatum* Pax (Euphorbiaceae)

Pedro Afonso Barreto Ferreira[1*], Allana Souza Pereira[1], Daiany Priscilla Bueno da Silva[1], Carlos Alexandre Carollo[2] & Cleber Douglas Lucinio Ramos[1**]

[1]Universidade Federal de Goiás - Campus Jataí

[2]Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

Email: *Orientando -pedroafonsoferreira@hotmail.com, ** Orientador - ramoscdl@gmail.com

RESUMO: A utilização de plantas com potencial medicinal na terapêutica de doenças é conhecida desde os tempos remotos da civilização, sendo considerada uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. A família Euphorbiaceae, destacando-se os espécimes do gênero *Synadenium*, são utilizadas empiricamente no tratamento de diversas enfermidades como câncer, doenças de origem inflamatória ou infecciosas. Deste modo, objetivou-se neste projeto investigar a possível atividade *in vitro* de fracionados, obtidos a partir do látex extraído da planta *Synadenium umbellatum* Pax (Euphorbiaceae), porém, somente o fracionamento do látex foi realizado, pois as dificuldades encontradas na infraestrutura desta instituição não possibilitaram a efetivação do proposto. Portanto este trabalho avaliou os possíveis compostos presentes nas frações Hexânica (apolar) e Acetato de Etila (polar) do látex da *S. umbellatum*, o qual foi primeiramente liofilizado e depois fracionado com os solventes Hexano, Clorofórmio, Acetato de Etila e Etanol. A fração Hexânica foi submetida a análises cromatográficas em Cromatografia em Camada Delgada Analítica e Preparativa e em Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM). Os resultados indicaram uma similaridade abaixo de 75% dos compostos das frações apolares com os compostos já identificados presentes na biblioteca do software utilizado para análises, o que sugere que os mesmos são compostos novos ainda não identificados. A fração Acetato de Etila também foi submetida à CCD, após foi avaliada por CLAE, a qual foi obtida perfis cromatográficos inéditos. Conclui-se que as frações polares e apolares do látex da S. *umbellatum* apresentam princípios bioativos ainda não identificados na literatura.

Palavras-chave: *S. umbellatum,* Cromatografia, HPLC, Fração Acetato de Etila, CG-EM, Fração Hexânica

Revisado pelo orientador

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com potencial medicinal na terapêutica, na cura e/ou na prevenção de doenças é conhecida desde os tempos remotos da civilização, sendo considerada uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (Ustulin et al., 2009). Na América Latina, existem diversas espécies de plantas medicinais nativas que são de uso dos moradores locais, possibilitando uma relação custo-benefício bem menor para a população (Benini et al., 2010; Barata, 2005). No Brasil, diversas plantas são famosas popularmente devido às suas supostas características terapêuticas. A família Euphorbiaceae destacando-se os espécimes do gênero *Synadenium*, são utilizadas empiricamente no tratamento de diversas enfermidades como câncer, verrugas, doenças de origem inflamatória ou infecciosas. No entanto, na literatura praticamente nada é descrito quanto às possíveis atividades antibacteriana e antifúngica. Além disso, estas pesquisas trazem informações somente sobre o extrato de folhas destas plantas, enquanto que popularmente o uso do látex diluído em solução aquosa encontra-se em evidência.

Visando o controle de infecções virais, o esquema de vacinação aplicado principalmente por órgãos públicos mostra-se bastante eficiente no combate de diversas viroses. No entanto, algumas viroses precisam ser tratadas com drogas que as combatam diretamente, principalmente no caso da inexistência de uma vacina efetiva, ou de uma infecção já instalada ou ainda em tratamento preventivo, como no caso de vacinas, que não revelaram resultados esperados. Neste caso, diversas drogas demonstram uma grande eficiência no combate de muitas viroses. Um grande exemplo é o caso de drogas utilizadas contra o vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV), onde os compostos antivirais foram capazes de interferir com uma infecção potencialmente agressiva e fatal. Entretanto, apesar deste aparente sucesso na terapia contra o HIV, ainda restam muitas infecções que ainda dependem do desenvolvimento de novas drogas capazes de interferir com o agente infeccioso (revisado por Margolis, 2011;Palmisano & Vella, 2011).

Um exemplo de infecção viral para a qual ainda não foi encontrada uma vacina e nem um antiviral efetivo é a dengue. Devido ao curto tempo de geração, bem como a capacidade adaptativa dos vírus dengue, o desenvolvimento de uma vacina efetiva continua sendo um grande desafio para a pesquisa nesta área. Outro fator limitante para o desenvolvimento de uma vacina segura e eficaz é a existência de quatro sorotipos diferentes do vírus (Ludolfs et al., 2002). Neste caso, o desenvolvimento de agentes antivirais para o combate do dengue seria imensamente desejável. Uma das maiores perspectivas no

desenvolvimento de agentes antivirais consiste na identificação de compostos oriundos de plantas com potencial virucida. Neste sentido começa a surgir cada vez mais pesquisas com plantas consideradas popularmente com potenciais terapêuticos, podendo desta maneira chegar a contribuir com o arsenal antiviral existente contra infecções virais. Um exemplo bem elucidado é a utilização do composto docosanol para o tratamento de herpes labial. O docosanol trata-se de um dos principais compostos ativos encontrados na planta *Hypericum laricifolium*, comumente encontrada na Europa Central, reforçando desta forma, a importância na pesquisa de plantas com potencial terapêutico (El-Seedi et al., 2003). A utilização deste composto natural vem mostrando boa efetividade em reduzir e curar as lesões causadas pelo vírus do herpes (HSV; López Fiesco et al., 1993). Este fato levanta a perspectiva de se encontrar novos compostos antivirais derivados de extratos ou látex de plantas, os quais apresentam potencial para utilização em terapia antiviral tanto isolada como em associações adjuvantes de compostos antivirais já conhecidos. Deste modo, inicialmente objetivou-se neste projeto investigar a possível atividade antiviral (contra os vírus: Mayaro, Oropouche, DENV-1, DENV-2 e DENV-3) *in vitro* de compostos brutos ou fracionados, obtidos a partir do látex extraído da planta *Synadenium umbellatum* Pax (Euphorbiaceae), o que foi realizado em parceria com a Universidade Federal do Mato Grosso do sul. A segunda parte, a avaliação do potencial antiviral da *S. umbellatum,* não foi passível de ser realizada, inicialmente devido às dificuldades encontradas na infraestrutura desta instituição que não possibilitaram meios para subsidiar a atividade proposta, e muito menos o apoio necessário para a firmação de parcerias que possibilitassem o estudo proposto.

Revisado pelo orientador

2. METODOLOGIA

2.1 Obtenção do látex extraído da planta *Synadenium umbellatum*

O látex para a utilização nas atividades propostas na presente pesquisa foi extraído da planta *S. umbellatum*, localizada no município de Jataí, Estado de Goiás, Brasil. A planta encontra-se identificada e depositada no Herbário Jataiense Prof. G. Guarim Neto no departamento de Botânica, da Universidade Federal do Goiás (UFG), *Campus* Jataí (CAJ), registrada com o número HJ 5640. O látex da planta *S. umbellatum* foi obtido através de pequenas incisões com estilete no caule da planta. O látex foi coletado em frascos protegidos da luz (Silva et al., 2007). Foram coletadas 68 gramas, sendo congelado em freezer em temperatura -20 ºC e conservado em caixas térmicas com gelo durante o transporte para o local da análise. A análise ocorreu no Laboratório de Farmacognosia da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande.

2.2 Fracionamento do látex extraído da planta *S. umbellatum* por Extração em Solvente Acelerado

O látex obtido da planta *S. umbellatum* foi descongelado em aparelho de ultrassom por aproximadamente dez minutos e colocado em recipientes específicos para uso no liofilizador. A porção do látex foi previamente congelada com nitrogênio líquido nos próprios recipientes do liofilizador, de modo que a amostra permanecesse na parede interna do recipiente, e colocada no aparelho CHRIST Alpha 2-4 LD à -30ºC e pressão de 0,07 mbar por aproximadamente quatro horas, pois o processo de liofilização proporciona estabilização e evita degradação enzimática. Com uma alíquota bruta, foram realizados testes de solubilidade com diversos solventes (Hexano, Clorofórmio, Acetona, Acetato de Etila, Álcool Etílico Absoluto, Álcool Metílico e Água). O material em análise apresentou melhor solubilidade com solubilização completa em Álcool Etílico, Hexano, Clorofórmio e Acetato de Etila, sendo estes solventes escolhidos para fracionar o látex.

Após ser liofilizado, o rendimento do látex foi de 21,92 g, apresentando-se em forma de pó e borracha, os quais foram macerados e 4,72 g foram reservados em recipiente previamente pesado e identificado em congelador para encaminhamento à análise futura de lectinas. A amostra liofilizada foi solubilizada com 20 mL de clorofórmio em aparelho de ultrassom por aproximadamente dez minutos. Após, incorporou-se a amostra em 44g de sílica e encaminhou-a para evaporador rotador FISATOM 802 com bomba de vácuo TECMAC TEC-058, onde o clorofórmio foi totalmente evaporado. Para garantir a evaporação do

Revisado pelo orientador

clorofórmio e pureza da amostra, macerou-se a mesma em capela de exaustão até esta apresentar-se como pó. Assim, a amostra foi encaminhada com sílica incorporada ao extrator DIONEX ASE 150 para passar pelo processo de Extração em Solvente Acelerado, onde a célula do extrator foi completada com 50% da amostra incorporada e 50% de sílica com filtro ao fundo e entre as camadas, repetindo o processo por duas vezes.

A separação das frações foi realizada de acordo com a polaridade, sendo separadas em quatro frações: as frações hexânica e Clorofórmica (apolares), e as frações Acetato de Etila e Etanólica (polares). A qual o Hexano, Clorofórmio, Acetato de Etila e o Álcool Etanol foram utilizados como eluentes. As frações obtidas foram colocadas separadamente em balões do extrator rotador com bomba de vácuo, para retirada do solvente e obtenção da fração isolada, as quais foram transferidas com clorofórmio (utilizado na lavagem dos balões) para tubos previamente identificados e pesados, para calcular-se o rendimento.

2.3 Análise do perfil cromatográfico por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) Analítica e Pesquisas Fitoquímicas

Uma alíquota das frações Acetato de Etila e Hexânica foi retirada para análises, como perfil cromatográfico em Cromatografia em Camada Delgada (CCD) analítica, pesquisa de flavonoides, pesquisa de alcaloides e pesquisa de quinonas e o restante encaminhado para capela de exaustão para evaporação total do clorofórmio e obtenção das frações puras. A CCD analítica foi realizada em placa de sílica gel 60, onde as frações foram analisadas em diferentes eluentes: Clorofórmio, Hexano, Acetona, Acetato de Etila, Clorofórmio e Hexano 1:1, Clorofórmio e Acetato de Etila 1:1 e Acetato de Etila e Metanol 1%, para escolha do melhor eluente para determinada fração. As placas foram visualizadas em câmara escura com luz UV e reveladas com Vanilina 1% em Etanol e Ácido Sulfúrico 5% em Metanol com auxílio de borrifador e secas em vapor quente para visualização do perfil cromatográfico dos compostos.

A pesquisa de compostos foi realizada nas frações Acetato de Etila e Hexânica. A pesquisa de flavonoides foi realizada em placa de sílica gel 60 por método CCD com o eluente Clorofórmio, sendo revelada com NP (2-aminoetil difenilborinato) 1% Metanol e visualizada em câmara escura com luz UV. Para pesquisa de alcaloides, foram adicionadas duas gotas do reagente Dragendorff nas alíquotas das amostras em placa de porcelana. Na pesquisa de quinonas foi realizada CCD com eluente Clorofórmio e Acetato de Etila (1:1), onde a placa foi revelada com Hidróxido de Potássio.

Revisado pelo orientador

2.4 Purificação da Fração Hexânica pela Técnica *Clean-up*

Clean-up consiste em limpeza das amostras para retirada de interferentes. Primeiramente parte da amostra foi incorporada à sílica e depositada na seringa com filtro, em seguida a mesma foi filtrada com 10 mL de Hexano que foi desprezado, sendo feita uma segunda filtragem com 3 mL de Acetato de Etila.

2.5 Análise e Caracterização Cromatográfica dos Compostos presentes na Fração Hexânica por Cromatografia Acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM)

Para análise em CG-EM, foram utilizadas as amostras Hexânica *clean-up*, as amostras referentes à fração hexânica foram diluída em clorofórmio para 200 ppm, para então serem analisadas em CG-EM, evitando assim interferências negativas de sujeiras no resultados das análises. A análise foi realizada utilizando cromatografia em fase gasosa do sistema de GC-2010 (Shimadzu Ltd., Kyoto, Japão), acoplado a um espectrômetro de massa (QP 2010 Plus, Ltd. Shimadzu, Kyoto, Japan), empregando-se uma coluna capilar RTX5-MS (30,0 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e hélio como gás de arraste, a um fluxo de 1,0 mL/min. A temperatura do programa foi de 150ºC por 3 min e posteriormente 280ºC por 28 min, sendo a temperatura do injetor de 260°C com volume de injeção de 0,05 mL no modo *split* 1:50 (modo de divisão) e com varredura de massa de 45-600 m/z. integração de dados foi realizada utilizando o software GCMS Real Time Analysis®.

2.6 Determinação do Perfil Cromatográfico em Cromatografia em Camada Delgada Preparativa da Fração Acetato de Etila para Fracionamento

A fração Acetato de Etila foi encaminhada para o processo de análise em CCD preparativa. Para análise em CCD preparativa, utilizou-se 300 mg das amostras da fração diluída em 4 mL de clorofórmio armazenadas em recipientes previamente pesados. A amostra foi aplicada em duas placas de sílica gel preparada com auxílio de aplicador de vidro com algodão, distribuindo os 300mg uniformemente na placa. Após, as placas foram eluídas em 200 mL de solução de clorofórmio e acetato de etila (1:1). O recipiente utilizado para eluição se manteve fechado e com um papel filtro, para melhor saturação do eluente. Ao observarem-se as placas em câmara fechada com luz UV notou-se a presença dos compostos, de modo que parte da placa foi revelada com Vanilina 1% em Etanol e Ácido Sulfúrico 5% em Metanol para confirmar a presença destes compostos, os quais foram raspados separadamente para frascos identificados, solubilizando com 10 mL de clorofórmio e 3 mL de metanol. A amostra foi levada ao aparelho de ultrassom por cinco minutos e filtrada em filtro de papel para

Revisado pelo orientador

frascos previamente pesados e identificados. A partir destas amostras, realizou-se CCD analítica, para confirmação do perfil dos compostos.

2.7 Análise do Perfil Cromatográfico da Fração Acetato de Etila por HPLC

As frações Acetato de Etila e Etanólica obtidas do látex da planta *S. umbellatum* foram analisadas por HPLC utilizando coluna Shimadzu (150 mm × 4,6 mm; 5 µm) com fase estacionária composta por sílica C-18, com fluxo 1,2 mL/min com fase móvel composta por acetonitrilo, com sistema detector UV. As frações foram solubilizadas com água ultra pura e metanol específico e purificado para HPLC. Após a solubilização, as amostras foram filtradas em filtros com poros de 0,45 µm para serem introduzidas no aparelho de HPLC. Uma alíquota de 20µL foi adicionada no aparelho com auxílio de seringa específica. Após, iniciou-se a análise. O software utilizado para análise posterior foi Shimadzu LC Real Time Analysis e os resultados foram expressos em gráficos tridimensionais, bidimensionais e visão superior da análise.

Revisado pelo orientador

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Obtenção das frações extraídas do látex da planta *Synadenium umbellatum*

O látex da planta *S. umbellatum* é empregado empiricamente no tratamento de doenças, a falta de conhecimento científico a cerca de suas propriedades bioativas representam um risco para a saúde da população, pois alguns compostos presentes neste látex podem ser tóxicos (MELO-REIS et al., 2010). Perante isto, buscamos identificar os compostos ativos presentes no látex desta planta através de seu fracionamento e análises cromatográficas. Para a realização dos ensaios, obteve-se um rendimento de 68g da amostra total de látex bruto coletado do caule da planta S. *umbellatum,* o qual apresentou após a liofilização um rendimento de 21,92g. Desta amostra liofilizada, 4,72g foi reservada para a pesquisa da presença de lectinas. A técnica de liofilização foi utilizada por ser um método de secagem suave que proporciona estabilização da amostra, evitando degradações enzimáticas e possíveis interferências negativas nas análises, fundamentando-se nas etapas de congelamento, secagem primária e secagem secundária com duração de cerca de cinco horas (BORGOGONONI et al., 2012).

Dentre os solventes testados para solubilização do látex bruto da planta *S. umbellatum*, o clorofórmio, acetato de etila, etanol e hexano foram os que apresentaram melhores solubilidades, sendo escolhidos como solventes para o fracionamento da amostra pela técnica de extração por solvente acelerado (ASE). A ASE é uma técnica relativamente nova e possui alta qualidade na extração de compostos a partir de amostras vegetais. Ela utiliza alta temperatura e alta pressão sob a célula contendo a amostra com a sílica, sendo a amostra fracionada com base na polaridade de seus componentes e dos eluentes escolhidos (ANAND et al., 2005). A temperatura do solvente é elevada acima do seu ponto de ebulição, porém devido aos parâmetros de alta pressão do sistema, o solvente continua em fase líquida, sendo bombeado para dentro das células contendo a amostra, extraindo então as substâncias de acordo com sua polaridade (LAU et al., 2010). Desta forma, foram obtidas quatro frações, apresentando após secagem do solvente um rendimento final de 1,23g para a fração etanólica, 1,16g para a fração hexânica, 1,99g para a fração acetato de etila e 7,62g para a fração clorofórmica

3.2 Análise do perfil cromatográfico por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) Analítica e Pesquisas Fitoquímicas

Na análise em CCD analítica, foi avaliado o perfil cromatográfico dos compostos através da utilização de cromatofolhas de alumínio com sílica gel 60. Os melhores resultados

Revisado pelo orientador

para eluição da fração Hexânica foram obtidos utilizando o eluente hexano, e o eluente clorofórmio + hexano (1:1), enquanto na fração Acetato de Etila, os melhores eluentes foram o Acetato de Etila e o Clorofórmio. Observou-se apenas uma banda na análise da fração Hexânica, sugerindo a presença de apenas um composto majoritário ou a presença de vários compostos com valores de Rf (*Retention factor*) aproximados. Na fração Acetato de Etila observou-se a presença de duas bandas, sugerindo dois compostos distintos ou mais compostos, porém com natureza e Rf (*Retention factor*) similares.

3.3 Purificação da Fração Hexânica pela Técnica *Clean-up*

Inicialmente, foi realizada a técnica de *clean up* com a fração hexânica para limpeza das amostras e retirada de possíveis interferentes para então serem analisadas em CCD preparativa CG-EM. A técnica *clean up* é uma das mais utilizadas para purificação de amostras e fundamenta-se na filtragem em coluna para retirada de interferentes utilizando solventes específicos para eluição dos compostos (CAVALCANTE et al., 2008).

3.4 Análise e Caracterização Cromatográfica dos Compostos presentes nas Frações Hexânica e Clorofórmica por Cromatografia Acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM)

A análise em CG-EM da fração Hexânica purificada pela técnica *clean up*, demonstrou um pico com intensidade máxima de sinal de 281,488 e com tempo de retenção de 41.140 a 41.487 min (Figura 1), apresentando um espectro de massa com similaridade de 70% com o ácido graxo octadec-9-enóico na sua forma de éster metílico de acordo com o software GCMS Real Time Analisys®.

Análises performadas em CG-EM utilizando uma mistura padrão contendo acido oleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido linoleico e tetracosano, demonstrou um pico com tempo de retenção de 26 a 28 min referente ao ácido oleico (LI et al., 2005), sendo possível verificar um dos motivos para a diferença entre a similaridade com o composto da fração hexânica analisado neste estudo. Desta forma, pode-se concluir que o composto analisado em questão não conseguiu atingir uma similaridade de no mínimo 80% com qualquer composto presente na biblioteca do software utilizado, sugerindo, portanto, que o mesmo pode ser um acido graxo qualquer ou até mesmo um composto novo.

Revisado pelo orientador



Figura 1 – Cromatograma de Íons Totais (TIC) - Análise cromatográfica por CG-EM da fração Hexânica. A figura mostra o gráfico cromatográfico da leitura da intensidade máxima de sinal (eixo y) pelo tempo de retenção (eixo x) do composto da fração hexânica extraída do látex da planta *S. umbellatum.* Para a realização da análise cromatográfica o látex bruto foi liofilizado e a fração hexânica foi extraída utilizando o eluente Hexano.

3.5 Determinação do Perfil Cromatográfico em Cromatografia em Camada Delgada Preparativa da Fração Acetato de Etila para Fracionamento

No perfil cromatográfico em CCD preparativa a fração Acetato de Etila apresentou três subfrações que foram retirados para análise em HPLC. A placa para CCD preparativa foi preparada utilizando sílica gel 60 com superfície aproximada de 20 cm² e com espessura de aproximadamente 300µm. O suporte para sílica foi inerte (GOCAN, 2002).

3.6 Análise do Perfil Cromatográfico da Fração Acetato de Etila por HPLC

Todos os gráficos tridimensionais da análise por HPLC apresentaram um pico inicial altamente polar, sugestivo de açúcares e peptídeos, e um pico final altamente apolar, sugestivo de compostos presentes na coluna. Ambos os picos foram ignorados na análise.

A análise em HPLC da fração Acetato de Etila demonstrou picos de polaridade média lidos no intervalo de 200nm e 400 nm e no tempo de 15 a 35 minutos, observando-se uma sobreposição de compostos lidos no intervalo de 200 nm a 300 nm no tempo de 15 a 22 min com absorbância de 525 mAU e um composto lido no intervalo de 300nm a 400nm no tempo de 32 minutos com absorbância de 100 mAU (Figura 2).

A *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae) possui em seu extrato metanólico compostos não identificados com perfis cromatográficos inéditos. Porém, um composto já foi identificado, sendo este a rutina que é lida no tempo de 28min com aproximadamente

Revisado pelo orientador

170mAU de absorbância (TSUMBU et al., 2012). O perfil da rutina não é observado na análise da fração Acetato de Etila do látex da planta *S. umbellatum* e a sobreposição presente aproximadamente no tempo de 20 minutos na Figura 2(A) não contém compostos idênticos aos compostos identificados na *M. esculenta,* pois a mesma apresentou-se positiva na pesquisa fitoquímica de flavonoides (TSUMBU et al., 2012), o que não foi verificado neste estudo.

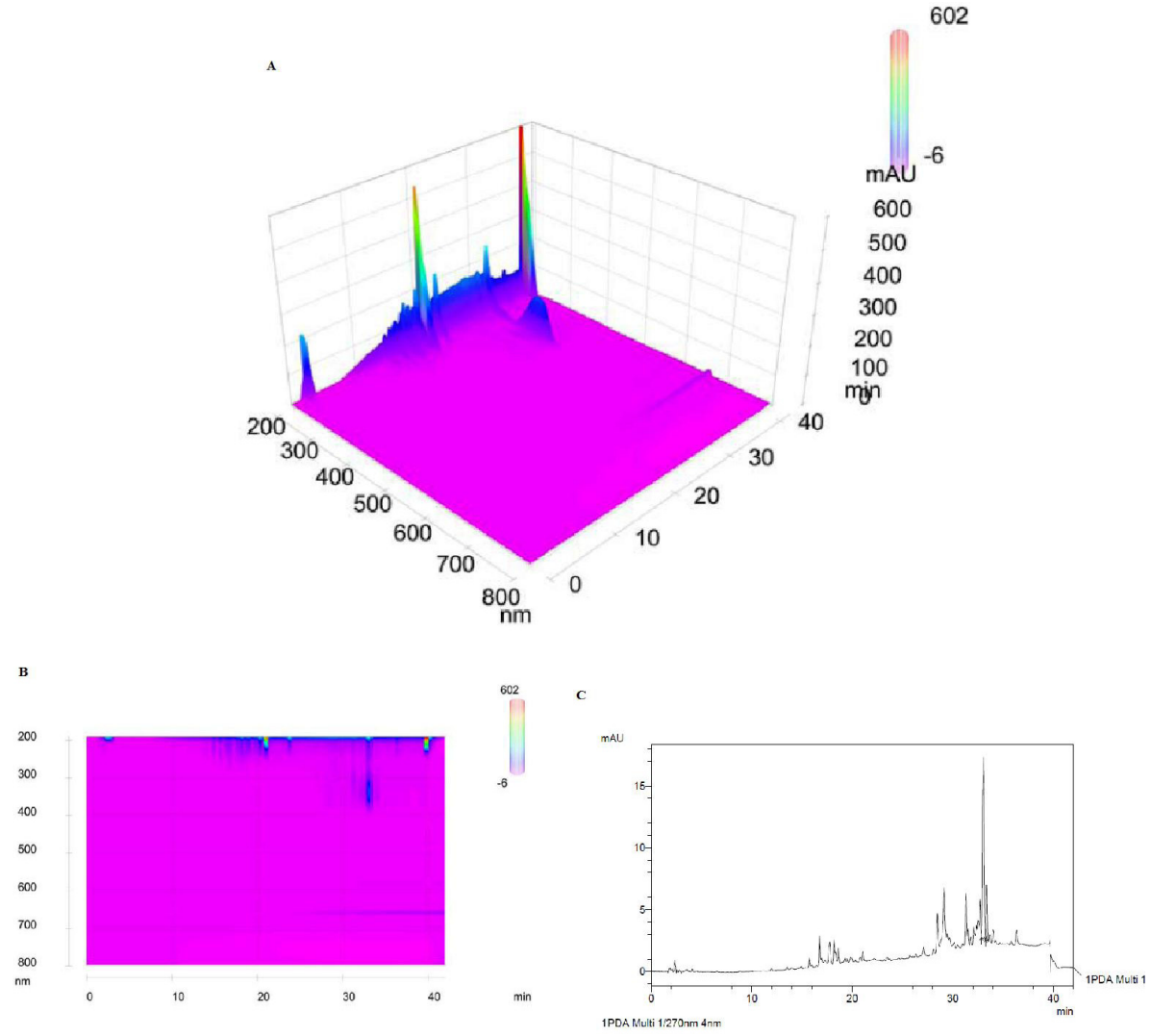


FIGURA 2 – Análise Cromatográfica da Fração Acetato de Etila do látex da planta *S. umbellatum* por HPLC. **A) Representação tridimensional da análise.** São observados picos de polaridade média entre 20 e 32 minutos. **B) Visão superior da análise.** Observa-se a leitura dos compostos no intervalo de 200nm a 380nm. C) **Representação bidimensional da análise.** Observam-se os tempos de retenção expressos em minutos e a absorbância expressa em mAU.

Revisado pelo orientador

Algumas plantas pertencentes à família Euphorbiaceae, como a *E. helioscopia*, possuem flavonoides e diterpenos como responsáveis pela bioatividade (YANG et al., 2007) e como o látex da *S. umbellatum* não possui flavonoides, sugere-se a pesquisa para análise da presença de diterpenos. Faz-se também necessário a realização de ensaios futuros que investiguem e avaliem a bioatividade da planta em estudo relacionando os compostos não identificados presentes na fração Acetato de Etila do látex para avaliação dos possíveis potenciais a ela creditados.

A análise da subfração 1 obtida da fração Acetato de Etila apresentou uma sobreposição de compostos lidos aproximadamente em 200nm no tempo de 10 a 38 minutos. A sobreposição mediana dos compostos indica compostos de polaridade mediana com absorbância de aproximadamente 100 mAU (Figura 3). A análise da subfração 2 obtida da fração Acetato de Etila apresentou uma sobreposição de compostos semelhante à subfração 1 da fração Acetato de Etila. A sobreposição dos compostos de polaridade média foi lida no tempo de 10 a 30 minutos na faixa de 200nm.

Observa-se a grande similaridade entre os cromatogramas das subfrações 1 e 2 da fração Acetato de Etila, sugerindo que sejam a mesma subfração posto que fosse observado proximidade entre o Rf de ambas no processo de separação na CCD Preparativa. O composto lido aproximadamente na faixa de 360nm (Figura 2B) é observado em menor escala nos cromatogramas das subfrações 1 e 2 (Figuras 3B e 4B) e se apresenta similar ao cromatograma da fração Acetato de Etila (Figura 2). Frente a isto, as subfrações 1 e 2 devem ser consideradas como apenas uma subfração. Este resultado obtido a partir do látex da planta *S. umbellatum* se mostra aparentemente inédito. Extratos de plantas da família Actinidiaceae fracionados com o solvente Acetato de Etila apresentam perfil cromatográfico com a presença de ácidos, como os ácidos protocateuico, siríngico e cafeico (LIAO et al., 2012) porém em intervalos de leitura e tempos de retenção diferentes dos observados no presente estudo, excluindo também a presença destes.

Plantas da família Melastomataceae apresentam rico perfil cromatográfico da fração Acetato de Etila extraída do extrato de folhas e galhos aéreos com a presença de compostos que inibem o crescimento de bactérias Gram-positivas. No tempo de leitura de aproximadamente 15 minutos a planta *Marcetia* spp. apresenta picos semelhantes aos observados na análise das subfrações 1 e 2 da fração Acetato de Etila em estudo (LEITE et al., 2012). Entretanto, estes picos representam compostos da classe dos flavonoides, e esta possibilidade é excluída do presente material, devido ao nosso resultado ser negativo.

Revisado pelo orientador

A fração Acetato de Etila do extrato da planta *Curcuma longa*, Zingiberaceae, é comprovadamente antitumoral , anti-inflamatória e antioxidante. Tal atividade é creditada a presença de curcuminóides (RAO et al., 2012) porém o perfil cromatográfico dos curcuminóides encontrados difere do perfil encontrado nas subfrações discutidas (RAO et al., 2011).

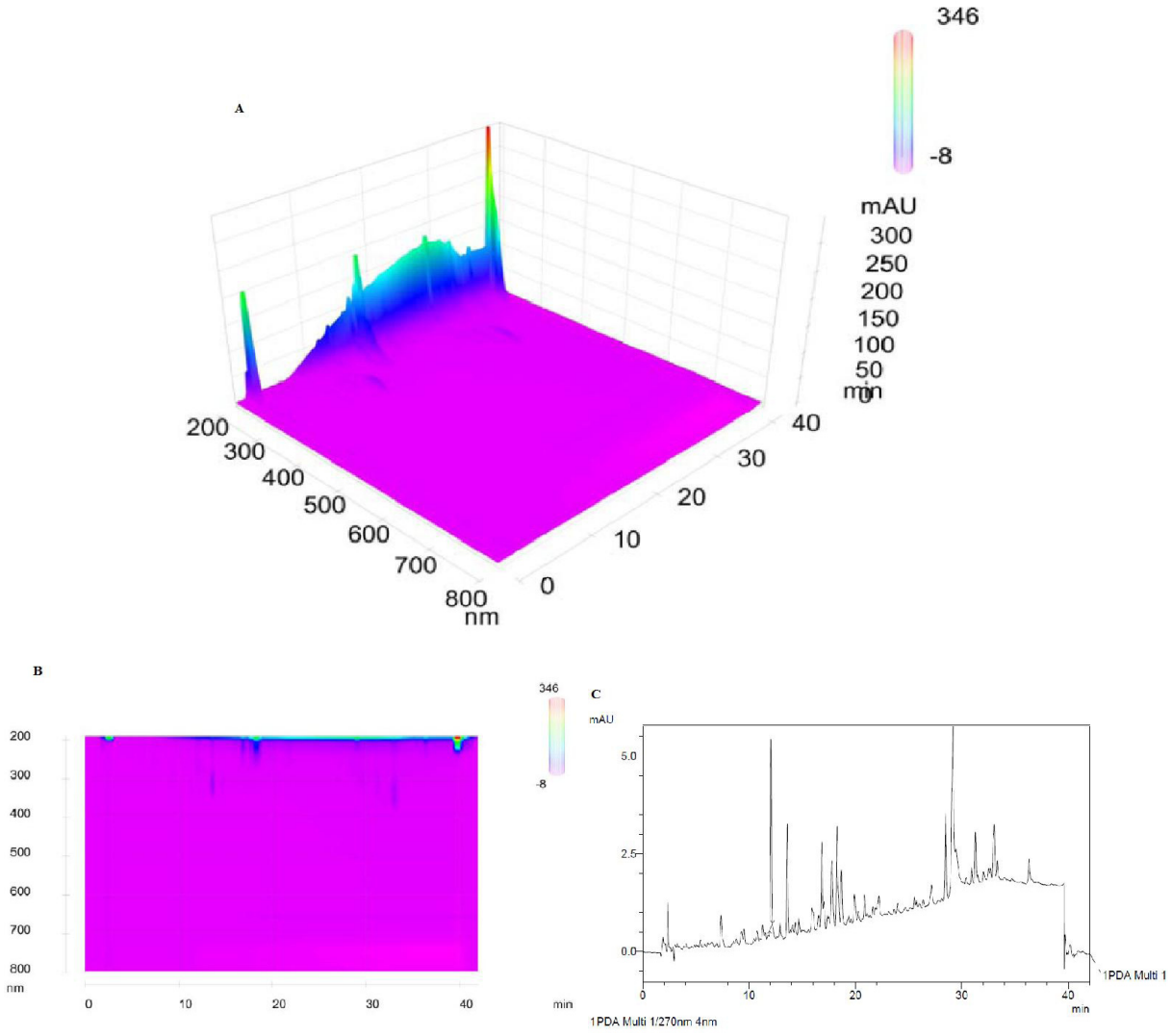


FIGURA 3 – Análise Cromatográfica da Subfração 1 da Fração Acetato de Etila do látex da planta *S. umbellatum* por HPLC. **A) Representação tridimensional da análise.** É observada sobreposição de compostos de polaridade média entre 10 a 38 minutos. **B) Visão superior da análise.** Observa-se a leitura dos compostos entre 200 e 360nm. **C) Representação bidimensional da análise.** Observam-se os tempos de retenção expressos em minutos e a absorbância em mAU.

Revisado pelo orientador

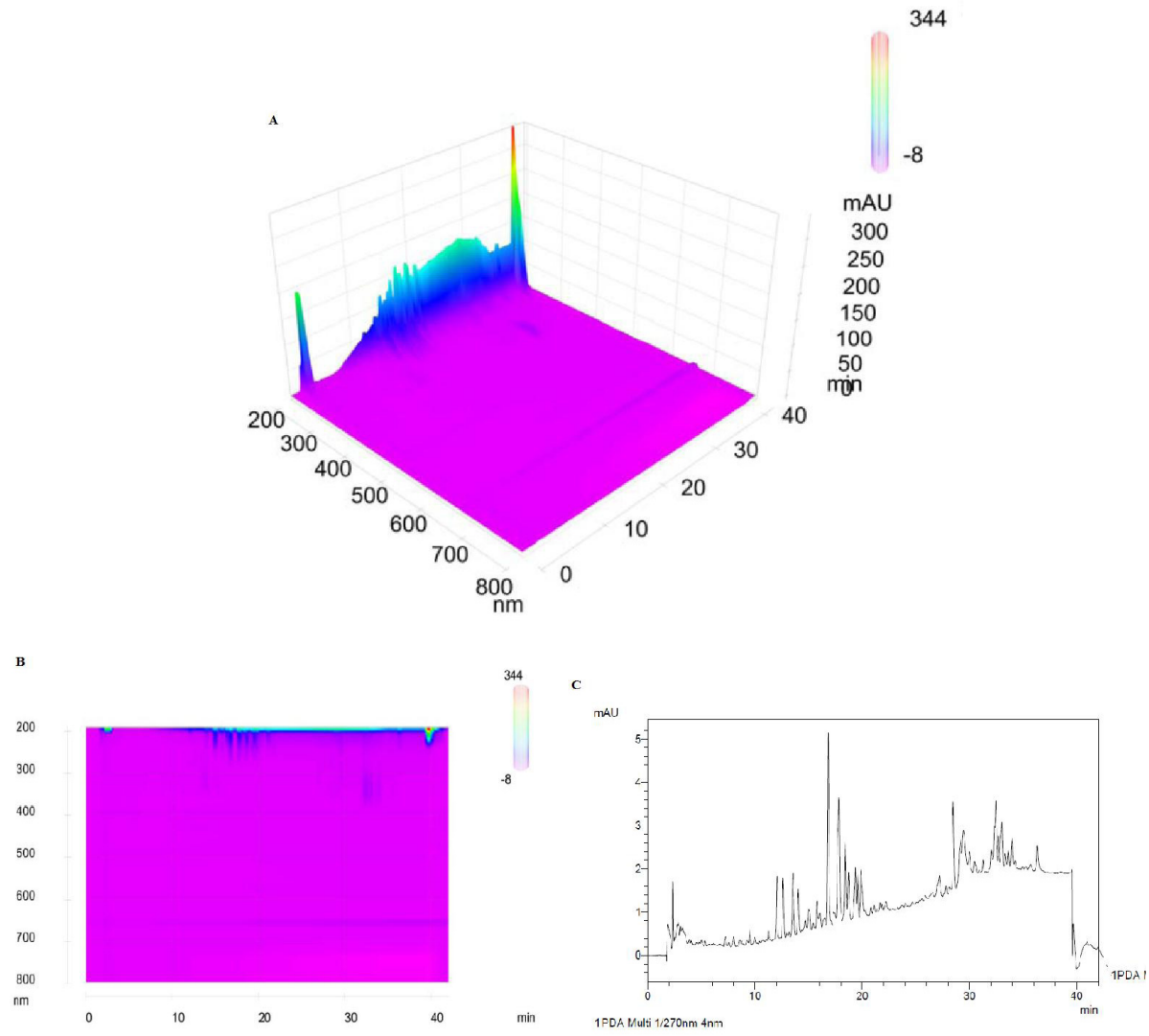


FIGURA 4 – Análise Cromatográfica da Subfração 2 da Fração Acetato de Etila do látex da planta *S. umbellatum* por HPLC. **A) Representação tridimensional da análise.** É observada sobreposição de compostos de polaridade média entre 10 a 30 minutos. **B) Visão superior da análise.** Observa-se a leitura dos compostos entre 200 e 360nm. **C) Representação bidimensional da análise.** Observam-se os tempos de retenção expressos em minutos e a absorbância em mAU.A análise da subfração 3 obtida da fração Acetato de Etila apresentou pequena sobreposição de compostos de 15 a aproximadamente 38 minutos de característica polar média com um pico de alta absorbância (400mAU) no tempo de 22 minutos apresentado na Figura 5(A), lidos na faixa de 200nm. A sobreposição observada e o pico central sugere a presença de quercetina (WANG et al., 2012), porém a possibilidade da quercetina estar presente na fração Acetato de Etila do látex da planta *S. umbellatum* é excluída.

Revisado pelo orientador

O perfil cromatográfico da fração Acetato de Etila do extrato aquoso de partes aéreas da planta *Rehmannia glutinosa*, Phrymaceae, já é conhecido com comprovada presença de ácidos gálico, vanílico, ferúlico e benzoico (LI et al., 2012) mas estes possuem perfil cromatográfico diferente ao observado na análise da subfração 3 da fração Acetato de Etila do látex da planta *S. umbellatum.* Na *R. glutinosa* há alguns compostos que não foram identificados e que possuem perfis semelhantes ao do pico observado aos 30 minutos, sugerindo-se que haja similaridade entre ambos compostos não identificados (Figura 5C).

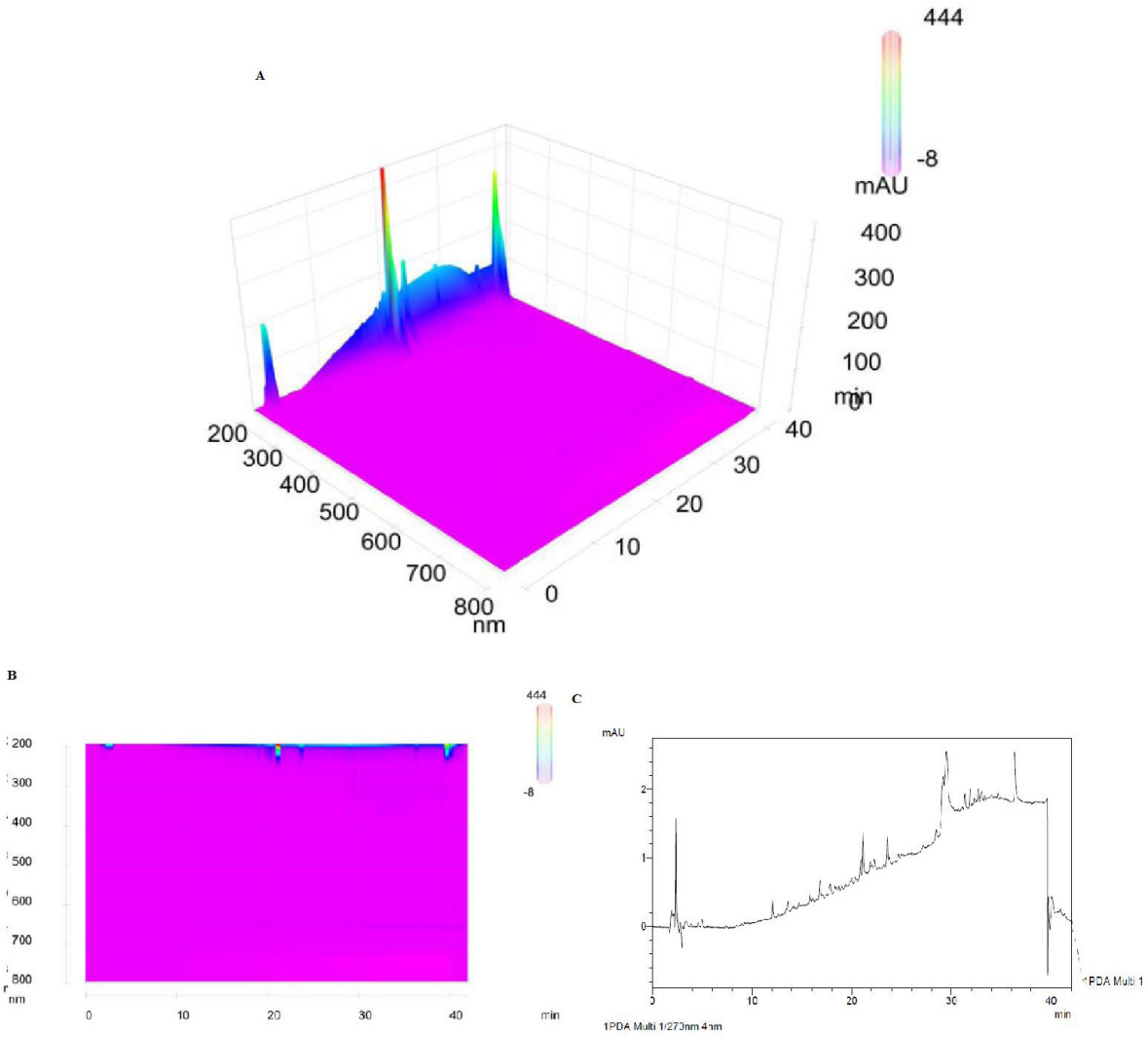


FIGURA 5 – Análise Cromatográfica da Subfração 3 da Fração Acetato de Etila do látex da planta *S. umbellatum* por HPLC. **A) Representação tridimensional da análise.** É observada pequena sobreposição de compostos de polaridade média entre 15 a 38 minutos com pico central de alta absorbância no tempo de 22 minutos. **B) Visão superior da análise.** Observa-se a leitura dos compostos na faixa de 200nm. **C) Representação bidimensional da análise.** Observam-se os tempos de retenção expressos em minutos e a absorbância em mAU.

Revisado pelo orientador

Outros ácidos são amplamente encontrados em plantas, como na *Actinida callosa* que possui o protocateuico, o siríngico e o cafeico (LIAO et al., 2012) porém o perfil cromatográfico destes não apresenta similaridade com o observado na análise da subfração 3, excluindo a presença destes. Além disso, a possibilidade de haver compostos como a orientina, rutina e a miricetina presentes no extrato metanólico da *Launaea procumbens* (KHAN et al., 2012) é excluída posto que o perfil cromatográfico destes não se assemelha ao observado e também por serem compostos pertencentes à classe dos flavonoides.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos através desta pesquisa sugerem que as frações Hexânica e Acetato de Etila do látex *desta planta* possuem compostos que não foram identificados, indicando ainda que estes compostos podem ser responsáveis por efeitos curativos ou até mesmo tóxicos da planta *S. umbellatum.* Estas confirmações são apenas uma pequena amostra da necessidade de novas pesquisas e maiores investimentos, não somente na identificação dos compostos bioativos presentes na *S. umbellatum,* mas em diversas outras plantas com possíveis potenciais terapêuticos, já que a flora brasileira dispõe de infinitos recursos, e estes são usados pela população como uma das principais alternativas terapêuticas no tratamento das afecções.

Este trabalho, portanto, representa apenas o inicio da desejada amplificação das pesquisas que vem sendo realizadas pelo nosso grupo, como prova disto, cito que a partir deste estudo foram gerados três trabalhos de conclusão de curso, defendidos e aprovados no inicio do presente ano, como requisito para conclusão do curso de bacharelado em Biomedicina da Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí.

Com este intuito espera-se que a presente universidade manifeste apoio e interesse não somente na área de pesquisa em farmacognosia, mas em todas as áreas que tenham pesquisadores trabalhando para o progresso da ciência, já que a falta de apoio, principalmente financeiro, representa o principal empecilho para o avanço da pesquisa.

Revisado pelo orientador

5. REFERÊNCIAS

ANAND, R.; VERMA, N.; GUPTA, D. K.; PURI, S.C.; HANDA, G.; SHARMA, V. K. Comparison of Extraction Techniques for Extraction of Bioactive Molecules from *Hypericum perforatum* L. Plant. **Journal of Chromatographic Science**. Oxford, v. 43, n. 10, p. 530-531. 2005.

BAFOR, M.; SMITH, M. A.; JONSSON, L.; STOBART, K.; STYMNE, S. Ricinoleic acid biosynthesis and triacylglycerol assembly in microsomal preparations from developing castor-bean (Ricinus communis) endosperm. **Biochemical Journal**. London, v. 280, n. 2, p. 507-514. 1991.

BARATA, L. Empirismo e ciência: fonte de novos fitomedicamentos. **Ciência e Cultura**, Campinas, v. 57, n. 4, p. 4-5, 2005.

BENINI, E.B.; SARTORI, M.A.B.; BUSCH, G.C.; REMPEL, C.R.; SCHULTZ, G.S.; STROHSCHOEN, A.A.G. Valorização da flora nativa quanto ao potencial fitoterápico. **Revista Destaque Acadêmico**, Lajeado, v. 2, n. 3, p. 11-17. 2010.

BORGOGNONI, C. F.; BEVILACQUA, J. S.; PITOMBO, R. N. M. Freeze-drying microscopy in mathematical modeling of a biomaterial freeze-drying. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. São Paulo, v. 48, n. 2. 2012.

CARRILLO, C.; CAVIA, M. M.; TORRE, A. Role of oleic acid in immune system; mechanism of action; a review. **Nutrición Hospitalaria**. Leon, v. 27, n. 4, p. 978-990. 2012.

CAVALCANTE, R. M.; LIMA, D. M.; CORREIA, L. N.; NASCIMENTO, R. F. Técnicas de extrações e procedimento de clean-up para a determinação de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) em sedimentos da Costa do Ceará. **Química Nova**. São Paulo, v. 31, n. 6, 1371-1377, 2008.

EL-SEEDI, H.R.; RINGBOM, T.; TORSSELL, K. & BOHLIN, L. Constituents of *Hypericum laricifolium* and Their Cyclooxygenase (COX) Enzyme Activities. **Chemical & Pharmaceutical. Bulettin,** Tokyo, v. 51, n. 12, p. 1439-1440. 2003.
GOCAN, S. Stationary Phases for Thin-Layer Chromatography. **Journal of Chromatographic Science**. Oxford, v. 40, n. 10, p. 538-549. 2002

LAU, E. V.; GAN, S.; NG, H. K. Extraction Techniques for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils. **International Journal of Analytical Chemistry**. New York, doi:10.1155/2010/398381, 2010

LEITE, T.C.C.; SENA, A.R.; SILVA, T.G.S.; SAMTOS, A.K.A.; UETANABARO, A.P.T.; BRANCO, A. Antimicrobial activity of *Marcetia* DC species (Melastomataceae) and analysis of its flavonoids by reverse phase-high performance liquid chromatography coupled-diode array detector. **Pharmacognosy Magazine,** Mumbai, v. 8, n. 31, p. 209-214. 2012.

LI, X. Q.; SONG, A. H.; LI, W.; CHEN, X. H.; BI, K. S. Analysis of the Fatty Acid from *Bupleurum Chinense* DC in China by GC-MS and GC-FID. **Pharmaceutical Society of Japan**. Tokyo, v. 53, n. 12, p. 1613-1617. 2005.

Revisado pelo orientador

LI, Z.; YANG, Y.; XIE, D.; ZHU, L.; ZHANG, Z.; LIN, W. Identification of Autotoxic Compounds in Fibrous Roots of Rehmannia (Rehmannia glutinosa Libosch). **PLoS ONE**, v. 7, n. 1. 2012.

LIAO, J.C.; DENG, J.S.; LIN YC, L.C.; LEE M.M.; HOU W.C.; HUANG, S.S.; HUANG G.J. Antioxidant, Antinociceptive, and Anti-Inflammatory Activities from Actinidia callosa var. callosa *In Vitro* and *In Vivo*. **Evidence-Based Complementary Alternaternative Medicine**. doi: 10.1155/2012/129152. 2012.

LÓPEZ-FIESCO, A.; AYALA-RUÍZ, A.; ROMO, L.M.; DELGADO, M.D. & ZAMORA, G. Efficacy of butoconazole nitrate in the treatment of vulvo-vaginal candidiasis compared with clotrimazol and isoconasol. **Proceedings of the Western Pharmacology Society**, Nevada, v. 36, p. 185-188. 1993.

LUDOLFS, D.; SCHILLING, S.; ALTENSCHMIDT, J. & SCHMITZ, H. Serological differentiation of infections with dengue virus serotypes 1 to 4 by using recombinant antigens. **Journal of Clinical Microbiology**, Whashington, v. 40, n. 11, p. 4317-4320. 2002.

MARGOLIS, D.M. Eradication therapies for HIV Infection: time to begin again. **AIDS Research and Human Retroviruses,** Chicago, v. 27, n. 4, p. 347-353. 2011.

MEDINA, I. O.; GARCIA, F. J. E.; FARTAN, J. N.; FIGUEROSA, M. S. Genetic variation in Mexican Jatropha curcas L. estimated with seed oil fatty acids. **Journal of Oleo Science**. Gihodo, v. 60, n. 6, p. 301-311. 2011.

MELO-REIS, P. R.; ANDRADE, L. S.; SILVA, C. B.; ARAÚJO, L. M. M.; PEREIRA, M. S.; MRUE, F.; CHEN, L. Angiogenic activity of *Synadenium umbellatum Pax* latex. **Brazilian Journal of Biology**. São Carlos, v. 70, n. 1, p. 189-194. 2010.

PALMISANO, L.; VELLA, S. A brief history of antiretroviral therapy of HIV infection: success and challenges**. Annali dell'Istituto Superiore di Sanità.** Roma, v. 47, n. 1, p. 44-48. 2011.

RAO, K.V.K.; BOUKLI, M.N.; SAMIKKANNU, T.; CUBANO, L.A.; DAKSHAYANI, B.K.; NAIR, M.P.N. Proteomics Profiling and Cytotoxic Effect of *Curcuma longa* on Prostate Cancer. **The Open Proteomics Journal,** Bentham, v. 4, p. 1-11. 2011.

RAO, K.V.K.; BOUKLI, M.N.; SAMIKKANNU, T.; CUBANO, L.A.; DAKSHAYANI, B.K.; NAIR, M.P.N. Chemopreventive Potential of an Ethyl Acetate Fraction from *Curcuma Longa* is Associated with Upregulation of p57kip2 and Rad9 in the PC-3M Prostate Cancer Cell Line**. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, Seoul, v. 13, n. 3, p. 1031-1038. 2012.

SILVA, A.C.; DE FARIA, D.E.; BORGES, N.B.; DE SOUZA, I.A.; PETERS, V.M.; GUERRA, M.O. Toxicological screening of *Euphorbia tirucalli L.*: developmental toxicity studies in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, Einsteinweg, v. 110, n. 1, p. 154-159. 2007.

TSUMBU, C.N.; DEBY-DUPONT, G.; TITS, M.; ANGENOT, L.; FREDERICH, M.; KOHNEN, S.; MOUITHYS-MOCKALAD, A.; SERTEYN, D.; FRANCK, T. Polyphenol Content and Modulatory Activities of Some Tropical Dietary Plant Extracts on the Oxidant Activities of Neutrophils and Myeloperoxidase. **International Journal of Molecular Sciences.** Basel, v. 13, n. 1, p. 628-650. 2012.

Revisado pelo orientador

WANG, Z.H.; LIU, H.P.; ZANG, Y.C.; GUO, L.Q.; LI, Z.X.; SHI, X.F. Anticancer Potential of *Euphorbia helioscopia* L Extracts Against Human Cancer Cells**. Anatomical Record**. Hoboken, v. 295, n. 2, p. 223-233. 2012.

YANG L, CHEN HX, GAO WY. Advances in studies on chemical constituents in Euphorbia helioscopia and their biological activities. **Chinese Traditional Herbal Drugs.** v. 295, n. 2, p. 223-233. 2012.

Revisado pelo orientador

JEDReq: Um Processo de Levantamento e Análise de Requisitos para Jogos Educacionais Digitais

Ricardo F. Vilela[1], Raphael J. Muniz, Pedro H. D. Valle, Paulo A. P. Júnior, Ana C. G. Inocêncio[2]

Curso de Bacharelado em Ciências da Computação Universidade Federal de Goiás (UFG)
Jataí - GO, Brasil

ricardo.ufg@live.com,{rafhael_mj12, pedrohenriquevalle}@hotmail.com,
{paulojunior,anacarolina_inocencio}@jatai.ufg.br

***Resumo* — Os jogos educacionais se caracterizam pela inserção de contextos educacionais que aprimoram o conhecimento do aluno, enquanto o mesmo interage e se diverte com o jogo. A inserção desses jogos no ambiente escolar tem se mostrado bastante eficaz no processo de ensino e aprendizagem, entretanto existe uma carência de processos que viabilizem a produção desses jogos, principalmente no que tange a fase de análise e elicitação requisitos, o que implica na produção de jogos que não atendam as reais necessidades de alunos e professores. O processo proposto no presente trabalho contribui para o desenvolvimento de jogos inserindo características que englobam desde os requisitos comuns para o desenvolvimento de jogos até os requisitos de propósito educacional.**

Palavras-chaves; Engenharia de Requisitos; Jogos Educacionais; Elicitação de Requisitos, Processos de Desenvolvimento;

1. INTRODUÇÃO

A tendência por otimizar processos em empresas, universidades e até mesmo no cotidiano das pessoas exige que os meios computacionais se adequem às reais necessidades dos usuários. Sistemas de software, estando entre os principais meios computacionais que se enquadram neste contexto, têm a responsabilidade de atender aos usuários do modo mais satisfatório possível, sendo necessário o planejamento prévio desse software.

1 – Orientando
2 – Orientadora
Texto revisado pela orientadora

Segundo Hermsdorf *et al.* (2011), problemas que envolvem cenários complexos de software induzem ao desenvolvedor tomadas de decisões reativas, considerando apenas o principal problema sem levar em conta seu ambiente e os demais problemas correlacionados. Esse é um procedimento tendencioso que pode gerar decisões equivocadas representando grandes prejuízos futuramente. No que tange ao levantamento de requisitos do software, os impactos negativos causados por essas decisões podem ser ainda maiores, uma vez que os requisitos abrangem a base que será utilizada em todo o ciclo de desenvolvimento do software (INOCÊNCIO, 2011).

A Engenharia de Requisitos (ER), subárea da Engenharia de Software, visa aplicar técnicas de engenharia para definição e análise de requisitos com o intuito de garantir o atendimento das necessidades dos *stakeholders*[1], evitando que erros impliquem no fracasso do projeto (AZEVEDO JUNIOR & SANTOS,2008). Neste contexto, a Elicitação de Requisitos é uma das fases da ER mais importante e complexa, e a qualidade do produto gerado nesta atividade, ou seja, as listas de requisitos do software poderão contribuir tanto para o sucesso quanto para o fracasso do software (BRAUDE, 2005). Um dos desafios da elicitação de requisitos encontra-se na extração dos requisitos a partir do conhecimento dos *stakeholders*, que em sua maioria não é preciso quanto às definições do problema a ser resolvido por meio de um sistema computacional. Sendo assim, faz-se necessária uma completa análise de requisitos que visa validar o software junto ao cliente, realizando várias iterações até que software atenda às suas reais necessidades (SOARES *et. al*, 2010).

De acordo com Gomes e Wanderley (GOMES & WANDERLEY, 2003), uma correta análise dos requisitos é crucial para o sucesso do desenvolvimento de um software, especialmente quando se trata de softwares educacionais, pois além dos requisitos de software eles também envolvem requisitos acerca do método de aprendizagem (CALISTO *et. al*, 2010). Dentre os tipos de softwares educacionais, estão os Jogos Educacionais Digitais (JEDs), que são instrumentos importantes para o processo de ensino e aprendizagem, visto que os mesmos podem ser ferramentas eficientes que divertem enquanto motivam o aprendizado.

Neste contexto, os processos[2] existentes para produção de software tradicionais, bem como de jogos que não possuem o enfoque educacional, não são suficientes para capturar as reais necessidades dos usuários, dado que a maioria dos processos de criação desses sistemas não

[1] Pessoas envolvidas ou afetadas pelo projeto.
[2] Processos de software podem ser definidos como uma metodologia para as atividades, ações e tarefas necessárias para desenvolver um software de alta qualidade.

abrange requisitos de propósito educacional (GOMES, 2003; LINEK *et. al*, 2010). Na literatura, há carência de processos específicos para desenvolvimento de JEDs e os existentes (FLOOD, 2003; GODOY *et. al*, 2010; RODRIGUES *et. al*, 2010; DEMACHY, 2003; SANTOS *et. al*, 2012) não possuem uma descrição detalhada quanto ao processo de levantamento e análise de requisitos.

Os objetivos deste trabalho são: i) apresentar um processo de levantamento e análise de requisitos para Jogos Educacionais Digitais, denominado **JEDReq**; e ii) realizar uma análise comparativa do **JEDReq** com outros processos para desenvolvimento de jogos existentes na literatura. O processo, proposto neste trabalho, é uma adaptação do processo para elicitação e análise de requisitos de Sommerville (SOMMERVILLE, 2003) para o contexto de JEDs.

Este trabalho está organizado da seguinte forma: a Seção 2 aborda a metodologia e os procedimentos e técnicas utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho. Já a Seção 3, apresenta o modelo de processo proposto para o levantamento e análise de requisitos de JEDs. Na Seção 4 é realizada uma discussão acerca da análise comparativa do processo **JEDReq** com alguns modelos de processos para desenvolvimento de jogos existentes na literatura. Por fim, a Seção 5, apresenta as considerações finais e as propostas de trabalhos futuros.

2. METODOLOGIA

O fundamento teórico desta pesquisa baseou-se no problema apontado por Gomes, Wanderley (2003) e Linek et. al (2010), onde suas pesquisas apontam a carência de métodos sistematizados para o desenvolvimento de jogos educacionais digitais, e justificou-se na afirmação apontada por Christel e Kang (1992), de que ao melhorar a elicitação de requisitos, o processo de engenharia de requisitos pode ser melhorado, resultando em requisitos de sistema avançados e em um sistema potencialmente melhor. É importante salientar que a inserção dos jogos como aliados ao processo de ensino e aprendizagem, vem sendo aplicado em grande escala, e o uso desses jogos com estudantes tem se mostrado bastante eficaz na construção do conhecimento. Sendo assim o objetivo desta pesquisa foi o de desenvolver um processo para levantamento e análise de requisitos voltada a produção de jogos educacionais.

2.1. Classificação da Pesquisa

A classificação deste trabalho de pesquisa, quanto a sua **natureza** é metodológico pois destinou-se a redimensionar novos procedimentos de ER, e a transformação de metodologias

tradicionais já consagradas na ES, para introdução de novas técnicas de elicitação de requisitos. Quanto aos seus **objetivos**, o trabalho desenvolvido foi exploratório pela necessidade um levantamento bibliográfico prévio sobre o tema, a fim de elencar os pontos críticos da pesquisa. Este trabalho também pode ser caracterizado como descritivo por utilizar técnicas padronizadas para a coleta de dados da pesquisa e explicativo por observar o ambiente da pesquisa afim de um melhor desenvolvimento do trabalho.

Quanto aos **procedimentos** este trabalho de pesquisa é de fonte documental e bibliográfica, pois utilizou-se de fontes secundárias, como livros, teses, dissertações, monografias, anais e periódicos, já publicados sobre o assunto. Também se caracterizou como pesquisa de campo, pois foi necessária uma coleta de dados no cenário onde a pesquisa foi aplicada. Quanto ao **objeto** a pesquisa é bibliográfica e documental, pois se baseou em fontes secundárias e quanto a sua **forma de abordagem** este trabalho de pesquisa pode ser categorizado como quantitativo por traduzir em números as opiniões e informações para serem classificadas e analisadas.

2.2. Procedimentos e Técnicas

Com o intuito de atingir os objetivos elencados neste trabalho, alguns procedimentos específicos foram adotados, sendo eles:

- Levantamento bibliográfico sobre: i) engenharia de software: ciclo de desenvolvimento e métodos convencionais; ii) engenharia de requisitos: levantamento, análise e especificação de requisitos; e iii) jogos educacionais: tipos de jogos, contribuição dos jogos e metodologias de desenvolvimento;
- Classificação das técnicas de levantamento de requisitos, a fim de promover uma nova técnica que priorize características pedagógicas, mas que também possua a melhores práticas oferecidas pelos métodos convencionais, já consagrados para o levantamento de requisitos.
- Logo após a identificação das técnicas de levantamento de requisitos, procedeu-se a identificação de métodos de avaliação, específicos para processos de levantamento e análise de requisitos, com o intuito de validar o processo proposto por este trabalho.

- Com a identificação do método de avaliação, realizou-se a validação do processo proposto.

3. RESULTADOS

O processo proposto neste trabalho, denominado **JEDReq**, consiste em uma estratégia para elicitação e análise de requisitos voltada à produção de JEDs, sendo uma adaptação do processo proposto por Sommerville (SOMMERVILLLE, 2003). Nesta adaptação, para cada fase do processo é proposta a utilização de uma técnica específica de elicitação de requisitos, com base em suas características.

A FIGURA 1 apresenta o processo proposto, com enfoque no fluxo de execução das atividades do mesmo. São apresentados ainda os participantes (especialista ou engenheiro de requisitos) que estão presentes em cada atividade do processo.

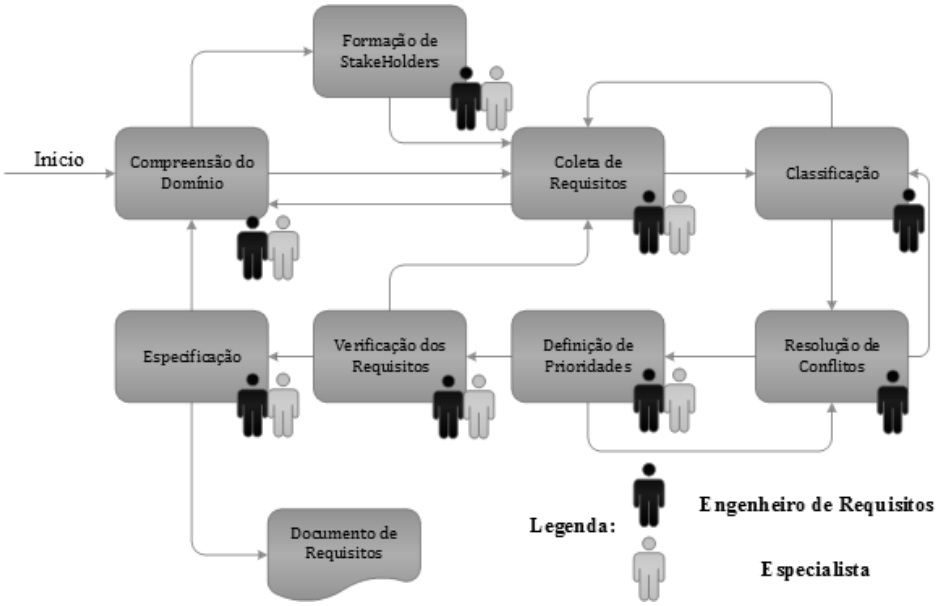


Figura 1. Fluxo do Processo Proposto

O fluxo do processo proposto é iniciado na atividade **Compreensão do Domínio**, no qual, um estudo sobre o ambiente onde será desenvolvido o JED deve ser realizado, apontando seus pontos fracos e fortes. Após, a compreensão do domínio a atividade **Formação de *Stakeholders*** deve ser realizada, onde o especialista é submetido a uma série de informações e as características que um bom JED deve conter, bem como os aspectos de um bom JED (ANNETTA, 2010).

Na atividade **Coleta de Requisitos**, os especialistas devem fornecer ao engenheiro de requisitos as informações necessárias sobre o jogo a ser desenvolvido. Nessa atividade, caso

necessário, o processo pode passar por uma nova iteração, retrocedendo para a atividade **Compreensão do Domínio**, visto que durante a atividade de coleta de requisitos podem surgir novas informações, que ainda não são de conhecimento do engenheiro de requisitos.

Depois de realizada a atividade de coleta dos requisitos, os mesmos são submetidos a uma classificação de acordo com seu grupo. Esse passo é realizado na atividade **Classificação**. Neste caso, podem surgir ainda novos requisitos no projeto, necessitando que a equipe de desenvolvimento realize uma nova iteração retrocedendo para a atividade de **Coleta de Requisitos**. Caso isso seja necessário, ao voltar ao fluxo normal, é indispensável passar novamente pela atividade de classificação, pois os novos requisitos necessitam ser classificados para que seja gerada uma lista de requisitos atualizada para a atividade posterior. Depois de realizada a atividade de classificação, a equipe está apta a avançar para atividade de **Resolução de Conflitos**. Nessa atividade alguns requisitos podem ser eliminados do projeto e outros devem ser novamente classificados, logo, o processo possui uma iteração para atividade de classificação.

Munido de um documento detalhado de requisitos, a equipe realiza a atividade de **Definição de Prioridade**, atividade onde é definida a importância e a necessidade dos requisitos, sendo enumerados quais serão os requisitos atendidos primeiro pela equipe de desenvolvimento. A partir da definição das prioridades podem ocorrer novos conflitos, ocasionando em uma nova iteração para atividade de Resolução de Conflitos. A atividade de **Verificação de Requisitos** é uma das mais importantes do processo, pois é onde ocorre a validação do jogo por parte dos especialistas. Caso haja erros, é possível retroceder até a atividade de **Coleta de Requisitos** passando por todas as atividades novamente até que o jogo corresponda às expectativas do especialista.

Com o jogo validado pelo especialista, a equipe passa para a atividade de **Especificação dos Requisitos**, na qual é gerado então o **Documento de Requisitos Final** do JED. É importante salientar que a correta avaliação por parte do especialista nessa fase é crucial, pois é a última iteração possível dentro do fluxo do processo.

As TABELAS de I a VII apresentam as técnicas que devem ser utilizadas em cada atividade do processo, os profissionais envolvidos, bem como os artefatos de entrada e saída gerados por elas e a justificativa para sua escolha.

TABELA I. TÉCNICA PARA A ATIVIDADE COMPREENSÃO DO DOMÍNIO

Parâmetros	***Descrição***
Atividade	Compreensão do domínio
Profissionais Envolvidos	Engenheiros de Requisitos e Especialistas
Técnicas utilizadas	Observação
Artefatos de entrada	-
Artefatos de saída	Melhor entendimento do cenário onde o software deve ser inserido, proporcionando aos engenheiros uma melhor abstração dos requisitos posteriormente coletados. Gerando um documento com pontos importantes e dificuldades do cenário.
Justificativa	A observação foi indicada a essa atividade por ser um tipo de técnica que aproxima o engenheiro do ambiente do jogo, onde o mesmo com sua experiência em projetos pode detectar problemas que não seriam desvendados com outros tipos de técnicas.

TABELA II. TÉCNICA PARA A ATIVIDADE FORMAÇÃO DE *STAKEHOLDERS*

Parâmetros	***Descrição***
Atividade	Formação de stakeholders
Profissionais Envolvidos	Engenheiros de Requisitos e Especialistas
Técnicas utilizadas	Seminário
Artefatos de entrada	Documento com pontos importantes e dificuldades do cenário.
Artefatos de saída	*Stakeholders* com formação e habilitado para fornecer requisitos consistentes.
Justificativa	A técnica de seminário foi escolhida por analisar criticamente fenômenos observados e trabalhar de forma cooperativa, propondo alternativas para resolver as questões levantadas.

TABELA III. TÉCNICA PARA A ATIVIDADE COLETA DE REQUISITOS

Parâmetros	*Descrição*
Atividade	Coleta de requisitos
Profissionais Envolvidos	Engenheiros de Requisitos e Especialistas
Técnicas utilizadas	Entrevista e Questionário
Artefatos de entrada	Stakeholder com formação e habilitado para fornecer requisitos consistentes.
Artefatos de saída	Documento detalhado de requisitos apresentando os requisitos funcionais, não funcionais e regras de negócio.
Justificativa	As técnicas citadas foram utilizadas por serem as principais técnicas de elicitação de requisitos, uma vez que as duas abrangem dois tipos de cenários. Questionários para um grande número de stakeholders e entrevistas para um pequeno grupo de stakeholders.

TABELA IV. TÉCNICA PARA A ATIVIDADE CLASSIFICAÇÃO

Parâmetros	*Descrição*
Atividade	Classificação
Profissionais Envolvidos	Engenheiros de Requisitos
Técnicas utilizadas	Questionário
Artefatos de entrada	Lista detalhada de requisitos e regras de negócios.
Artefatos de saída	Lista de requisitos separados por grupos, de acordo com suas características e funcionalidades a serem inseridas no sistema.
Justificativa	A escolha do questionário como técnica dessa atividade deve-se ao fato da técnica obter características em que as respostas do documento podem ser pré-determinadas, facilitando a divisão de grupos desses requisitos.

TABELA V. TÉCNICA PARA A ATIVIDADE RESOLUÇÃO DE CONFLITOS

Parâmetros	*Descrição*
Atividade	Resolução de conflitos
Profissionais Envolvidos	Engenheiros de Requisitos
Técnicas utilizadas	Questionário
Artefatos de entrada	Lista de requisitos separados por grupos, de acordo com suas características.
Artefatos de saída	Documento detalhado de requisitos contendo as informações sobre os conflitos encontrados e uma lista de requisitos que foram excluídos juntamente com sua justificativa, afim de que esse requisito não volte ao processo causando novos conflitos.
Justificativa	A escolha do questionário como técnica dessa atividade deve-se ao fato da técnica obter características em que as respostas do documento podem ser pré-determinadas, facilitando a busca por conflitos.

TABELA VI TÉCNICA PARA A ATIVIDADE DEFINIÇÃO DE PRIORIDADES

Parâmetros	*Descrição*
Atividade	Definição de Prioridades
Profissionais Envolvidos	Engenheiros de Requisitos e Especialista
Técnicas utilizadas	Entrevista e Questionário
Artefatos de entrada	Documento de requisitos detalhado e atualizado, após as iterações das atividades anteriores.
Artefatos de saída	Lista de requisitos enumerados indicando quais devem ser desenvolvidos primeiro.
Justificativa	A escolha da entrevista e questionário como técnica para essa atividade deve-se ao fato de essa atividade obter um contato mais direto com o stakeholder, e essas duas técnicas possibilitam uma maior interação entre a equipe de projeto e especialistas.

TABELA VII. TÉCNICA PARA A ATIVIDADE VERIFICAÇÃO DE REQUISITOS

Parâmetros	*Descrição*
Atividade	Verificação de requisitos
Profissionais Envolvidos	Engenheiros de Requisitos e Especialista
Técnicas utilizadas	Inspeção de software e Prototipação
Artefatos de entrada	Protótipo desenvolvido.
Artefatos de saída	Lista de requisitos indicando os problemas identificados pelo especialista, e validação das demais parte do jogo.
Justificativa	As técnicas indicadas foram escolhidas por fornecerem um *feedback* mais rápido e consistentes por parte dos especialistas, dado que após uma primeira interação com o jogo o especialista tem como avaliar o desempenho do mesmo.

Após a identificação deste conjunto de técnicas, procedeu-se para a validação do mesmo por meio de parâmetros estabelecidos para a análise de processos de desenvolvimento de software. Esta validação é melhor discutida na Seção 4, deste relatório.

4. DISCUSSÃO

Devido à crescente demanda de jogos e o aumento significativo de sua complexidade, os custos para produção dos mesmos, que já eram altos, sofreram mais acréscimos ainda (CROSSLY, 2010).

Sendo assim diversos trabalhos vem sendo desenvolvidos com a intenção de prover métodos que assegurem a produção de jogos de qualidade, dentre eles, *Game Waterfall Process (GWP)*, que é uma adaptação do processo de desenvolvimento Cascata, que consiste em atividades que ocorrem de forma sequencial sem a possibilidade de iterações em fases anteriores, ou seja, o projeto deve estar bem definido antes da execução do processo. Na adaptação do modelo apenas foram alterados os nomes das fases sendo elas: concepção, pré-produção, requisitos, pós-produção e pós-lançamento, porém mantiveram a mesma lógica sequencial (FLOOD, 2003).

O processo *Extreme Game Development* (XGD) também consiste em uma adaptação de um processo ágil bem conhecido, a saber, *Extreme Programming* (XP). Este processo baseia-se em cinco princípios, Simplicidade, *Feedback*, Coragem, Respeito e Comunicação (DEMACHY, 2003), O XGD é um método ágil de produção de jogos que integra em um mesmo processo programadores, designers, artistas e todos os outros que não fazem parte da equipe de programação (PETRILLO, 2008).

Game Unified Process, desenvolvido a partir de características presentes no XP e no *Rational Unified Process* (RUP), foi projetado para suprir os diversos problemas encontrados no modelo Cascata, tendo como proposta a criação de um processo híbrido, no qual a equipe de desenvolvimento utiliza o RUP e as equipes de conteúdo utilizam XP (RODRIGUES *et. al*, 2010). Flood (2003), afirma que dessa forma é possível adaptar os processos ágeis ao desenvolvimento de jogos, atingindo um significativo aumento na qualidade e produtividade do projeto.

Porém, os modelos de processos, citados anteriormente, são limitados e muitas vezes ineficazes no que tange a produção de jogos educacionais. Modelos sequenciais, como o GWP, que não permitem iterações exigem do desenvolvedor que o projeto esteja bem definido antes mesmo do início do processo. Isso faz com que erros encontrados durante uma fase posterior do desenvolvimento tenham que esperar todo o ciclo do processo para serem revistos, prática que pode ocasionar atrasos e até mesmo o fracasso do projeto. Por outro lado, metodologias ágeis, como o XP, sofrem com a falta de um processo robusto para planejamento do projeto do jogo, o que pode prejudicar o acompanhamento do andamento do projeto, gerando atrasos e estouro de orçamento.

Entretanto, pesquisas vêm sendo realizadas com a intenção de suprir essas deficiências, como é o caso da metodologia *OriGame*, proposta por Santos *et. al* (2012), que consiste em um diagrama que relaciona as etapas existentes na produção de jogos em uma visão geral do processo. Em meio ao fluxo representado nesse diagrama, existem diversas tomadas de decisão que direcionam a produção do jogo de acordo com o planejamento. Além disso, inclui um ciclo de teste necessário para garantir o desenvolvimento do projeto, validando protótipos físicos, digitais e funcionais até que o jogo esteja completo. Porém, mesmo possibilitando a criação de jogos digitais, a metodologia descrita não considera os mecanismos e as características de um jogo educacional, onde devem ser observados os aspectos pedagógicos e educacionais de um jogo.

Rodrigues *et. al* (2010), por sua vez, além dos fundamentos de jogos digitais apresenta uma proposta para produção de jogos educacionais. Tal proposta consiste em um modelo de processo para desenvolvimento de *serious games*, que se fundamenta no gerenciamento tanto em conceitos computacionais quanto educacionais, promovendo a integração entre diversas áreas com o intuito de produzir jogos com qualidade. Em essência o modelo possui características existentes no modelo de processo RUP, acrescentando práticas de gerenciamento de projeto pedagógico-educacional e *Game Design*. No entanto o trabalho não propõe a forma em que devem ser tratados os requisitos para jogos educacionais, prática que é indispensável para a produção de JED's, pois a forma como os requisitos são tratados da elicitação até a especificação pode comprometer todo o desenvolvimento do jogo.

Um processo otimizado para produção de módulos educacionais é proposto por Inocêncio (INOCÊNCIO, 2011), o processo consiste em uma adaptação do processo espiral, no qual o jogo passa por várias iterações até a obtenção do produto final. O processo permite a participação de professores, os quais são denominados de professores conteudistas, que fornecem todo o material que deve ser inserido no módulo. Entretanto, o modelo apresentado pela autora, apesar de oferecer uma sistematização da etapa de análise de requisitos, tem como foco a produção de módulos educacionais digitais, que possuem características diferentes dos jogos educacionais digitais apresentam uma menor complexidade que os Jogos Educacionais Digitais propostos neste trabalho.

A TABELA VIII apresenta parâmetros de comparação entre os modelos de processo apresentados nesta Seção e o processo proposto por este trabalho, no mesmo podem ser identificadas as contribuições do processo proposto para a produção de jogos educacionais digitais.

TABELA VIII COMPARAÇÃO ENTRE OS PROCESSOS DE JOGOS

	Processos						
Parâmetros de Avaliação	GWP	XGD	GUP	Serious Game	OriGame	Processo Otimizado	JEDReq
Completude do Processo	Alta	Alta	Alta	Alta	Baixa	Alta	Baixa
Agilidade	Baixa	Alta	Média	Média	Baixa	Média	Média
Formação de Stakeholder	Não	Não	Não	Não	Não	Alta	Sim
Foco em Educação	Baixa	Baixa	Baixa	Alta	Baixa	Alta	Alta
Iterativo	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Análise de Requisitos	Baixa	Baixa	Baixa	Média	Baixa	Média	Alta

Os parâmetros apresentados na TABELA VIII são:

- **Completude do Processo** indica qual o nível de completude do processo no desenvolvimento, ou seja, verifica-se se o processo analisado compreende todas as etapas de desenvolvimento.
- **Agilidade** verifica-se se o processo em análise possui características ágeis de desenvolvimento, e qual o tempo utilizado para realização da tarefa.
- **Formação de stakeholder** indica se o processo possui uma formação do stakeholder antes da etapa de elicitação de requisitos.
- **Foco em educação** indica se o processo em questão é próprio para o desenvolvimento de ferramentas educacionais.
- **Iterativo** verifica-se se o processo possui iterações durante as fases do processo.
- **Análise de requisitos** indica qual o nível de detalhamento da etapa de análise de requisitos no processo.

A existência de um processo de software não garante que o software será entregue dentro do prazo, que estará de acordo com as necessidades do cliente ou que apresentará características técnicas que conduzirão as características de qualidades, porém a ausência desse processo pode certamente implicar no fracasso do projeto. A avaliação de um processo está estritamente ligada ao ambiente em que o mesmo está sendo aplicado, desta forma não existem processos completos que atendem a qualquer ambiente de software (PRESSMAN, 2011).

Os parâmetros citados na TABELA VIII contribuem para a escolha de um processo que se encaixe em determinado ambiente ou que pelo menos aproxime-se do contexto onde o software deve ser implantado. Porém, da mesma forma que os processos, os parâmetros de avaliação de processos também devem ser adequados ao tipo de software que é desenvolvido.

No que tange a JEDs, a procura por processos que possuem a integração do especialista com a equipe de desenvolvimento pode possibilitar a produção de um jogo que melhor corresponda as expectativas do educador, uma vez que o mesmo estará presente nas etapas do desenvolvimento. Outro importante aspecto na escolha por processos é a verificação do seu público alvo. Processos que possuem foco em educação podem fornecer mecanismos que contribuam para a produção de JEDs, bem como aqueles que fornecem formação ao

especialista sobre as funcionalidades do jogo e características do processo, ocasionando em *stakeholders* mais preparados (INOCÊNCIO, 2011).

Porém existem aspectos comuns entre projetos de software, como a possibilidade de mudanças e a necessidade de documentos de requisitos mais detalhados, o que pode fornecer grande peso na escolha do processo (SOMMERVILLE, 2003).

O processo **JEDreq**, mostrou-se eficiente conforme a avaliação dos processos, visto que o mesmo além de fornecer as principais características, que são comuns aos demais processos, também apresenta funcionalidades inerentes a produção de jogos educacionais. A atividade de Formação de *Stakeholder*, por exemplo, permite que os professores, conheçam as características necessárias ao desenvolvimento de jogos e as utilizem como aliadas na educação, podendo dessa forma contribuir para a atividade de coleta de requisitos.

5. CONCLUSÕES

A utilização dos jogos no contexto escolar mostrou-se grande aliada na construção do conhecimento dos alunos, o uso dessa ferramenta possibilita atingir os objetivos do educador contribuindo para o processo de ensino e aprendizagem de seus alunos. Os processos para o desenvolvimento dos jogos educacionais viabilizam a construção desses jogos, fazendo com que os mesmos correspondam tanto as expectativas educacionais e tecnológicas, bem como às necessidades do educando.

O presente trabalho propõe um processo para levantamento e análise de requisitos, com características voltadas a produção de jogos educacionais, o mesmo fornece técnicas de levantamento de requisitos para cada atividade do processo. O processo possui diversas iterações que permite a equipe de desenvolvimento realizar mudanças no projeto. Como trabalhos futuros pretende-se i) realizar uma análise comparativa com outros processos, utilizando duas equipes de desenvolvimento sendo as duas com o mesmo nível de conhecimento sobre processos de software, e realizar uma comparação entre cada atividade do processo e também do objeto final encontrado; ii) Desenvolver todo o material necessário para cada etapa do processo afim de torná-lo o mais descritivo possível com o intuito de possibilitar que os professores desenvolvam de forma autônoma seus próprios jogos educacionais.

6. REFERÊNCIAS

ANNETTA, Leonard A. The "I's" have it: **A framework for serious educational game design**. Review of General Psychology, v. 14, n. 2, p. 105, 2010.

AZEVEDO JUNIOR, Delmir Peixoto de; CAMPOS, Renato de. **Definição de requisitos de software baseada numa arquitetura de modelagem de negócios**. Prod., São Paulo, v. 18, n. 1, 2008.

BRAUDE, Eric. **Projeto de software: da programação à arquitetura: uma abordagem baseada em Java**. Porto Alegre, Editora: Bookman, 2005.

CALISTO, André; BARBOSA, David; SILVA, Carla. **Uma Análise Comparativa entre Jogos Educativos Visando a Criação de um Jogo para Educação Ambiental**. In: Anais do Simpósio Brasileiro de Informática na Educação. João Pessoa-PB, 2010.

CHRISTEL, Michael G.; KANG, Kyo C. **Issues in requirements elicitation**. (Technical Report CMU/SEI-92-TR-12), University Pittsburgh 1992.

CROSSLY, R. **Study: Average dev costs as high as $28 m**. Retreived April, v. 12, 2010. Acesso em 22 de julho de 2013. <http://www.develop-online.net/news/33625/Study-Average-dev-cost-as-high-as-28m>

DEMACHY, Thomas. **Extreme game development: Right on time, every time**. Gamasutra, 2003. Acesso em 22 de julho de 2013< http://www.gamasutra.com/view/feature/2827/extreme_game_development_right_on_.php >

FLOOD, Kevin. **Game unified process (GUP)**. GameDev. net Articles, http://www. gamedev.net/reference/articles/article1940. asp, Maio, 2003.

GODOY, André; BARBOSA, Ellen F. **Game-Scrum: An Approach to Agile Game Development**. IX SBGames, Florianópolis-SC, 2010.

GOMES, Alex Sandro; WANDERLEY, Eduardo Garcia. **Elicitando requisitos em projetos de Software Educativo**. Workshop de Informática na Escola. Campinas – SP, pp. 119-130, 2003.

HERMSDORF, Victor Oliveira; BRAGA, José Luis; CARVALHO, Leonardo; SOARES, Liziane S.; AMBRÓSIO, Bernado G.; **Modelagem da atividade de elicitação de requisitos utilizando a técnica de entrevista: uma abordagem utilizando dinâmica de sistemas**. Workshop em Engenharia de Requisitos, Rio de Janeiro-RJ, Brasil, 2011.

INOCÊNCIO, Ana Carolina Gondim. **Processo otimizado para a produção de módulos educacionais: um estudo de caso do Projeto Conexão do Saber**. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, 2011.

LINEK, Stephanie B.; SCHWARZ, Daniel; BOPP, Matthias; ALBERT, Dietrich; **When playing meets learning: Methodological framework for designing educational games**, Lecture Notes in Business Information Processing, 45 LNBIP, pp. 73-85, 2010.

PETRILLO, Fábio dos Santos. **Práticas ágeis no processo de desenvolvimento de jogos eletrônicos**. Dissertação de mestrado (UFRGS), Rio Grande do Sul, 2008.

PRESSMAN, Roger S. **Engenharia de software: uma abordagem profissional**. 7ª Edição. **Ed: McGraw Hill**, 2011.

RODRIGUES, Herbet F.; MACHADO, Liliane dos S.; VALENÇA, Ana Maria G. **Definição e Aplicação de um Modelo de Processo para o Desenvolvimento de Serious Games na Área de Saúde**. Proceedings of the CSBC, p. 1532-1541, 2010.

SANTOS, Rafael A.; GÓES, Vinicius A.; ALMEIDA, Luis F.; **Metodologia OriGame: um processo de desenvolvimento de jogos**, IX SBGames, Art & Design Track, Brasília- DF, 2012.

SOARES, Emiliane Silva; PARREIRA JÚNIOR, Paulo Afonso; COSTA, Heitor Augustus Xavier. **SWREQUIREMENT: Integração de técnicas de elicitação de requisitos ao processo de levantamento e análise de requisitos**, Revista CCEI, v. 14, p. 221-234, 2010.

SOMMERVILLE, Ian; **Engenharia de software**, 6 Ed. São Paulo: Addison Wesley, 2003.

CAMA DE AVES E NITROGÊNIO EM COBERTURA NA CULTURA DO MILHO*

Pedro Mesquita de Lima Neto[1], Darly Geraldo de Sena Júnior[2], Danyllo Santos Dias[3], Josué Guimarães Evangelista Barcelos[3], Vilmar Antonio Ragagnin[4]

1 Discente do curso de Agronomia, UFG / Campus Jataí – Orientando. pedro-mesquita20@hotmail.com
2 Docente do curso de Agronomia, Campus Jataí da UFG – Orientador. darly.sena@gmail.com
3 Discente do curso de Agronomia, UFG / Campus Jataí. danyllo0007@gmail.com ; josueg2010@hotmail.com
4 Docente do curso de Agronomia, Campus Jataí da UFG vilmar.ragagnin@gmail.com

RESUMO

A utilização de resíduos animais provenientes da avicultura como fertilizante orgânico é uma maneira sustentável de utilização dos resíduos desse sistema de produção, porém ainda há poucos estudos sobre a dinâmica de disponibilização dos nutrientes, especialmente o N. O objetivo foi avaliar o uso de cama de aves associada à fertilizante nitrogenado na cultura do milho e a disponibilização de nitrogênio da cama de aves. Avaliou-se também a viabilidade econômica dessa adubação. O delineamento foi em blocos casualizados, no esquema fatorial 5x3+1, totalizando dezesseis tratamentos. Os fatores consistiram doses de cama de aves (2, 5 e 8 Mg ha^{-1}) e doses de nitrogênio (0, 50, 100, 150, 200 kg ha^{-1}). A testemunha recebeu fertilizante mineral em cobertura com 200 kg ha^{-1} de N. Foram feitas leituras com clorofilômetro nos estádios V6 e Vt, mensurados altura de plantas em V6, altura de espigas e diâmetro de colmo. Determinou-se a produtividade, massa de cem grãos e número de grãos por espiga. O aumento do teor de clorofila está relacionado ao aumento da dose de N, tanto na forma orgânica quanto mineral. As doses de cama de aves e nitrogênio mineral influenciam na expressão da altura de plantas em V6, diâmetro de colmo, massa de 100 grãos, número de grãos por espiga e produtividade. A utilização de doses mais baixas de cama de aves associadas a doses mais altas de N mineral é mais viável economicamente, embora a utilização de maiores doses de cama de aves e N mineral promova maior produtividade.

PALAVRAS-CHAVE: *Zea mays*, adubação orgânica, plantio direto.

1. INTRODUÇÃO

A fertilidade dos solos do cerrado, deve-se em grande parte, a práticas de correção de acidez e de nutrientes, visto que os solos dessa região são originalmente ácidos e apresentam baixa fertilidade natural. O uso de fertilizantes é indispensável para obtenção de produtividades desejáveis nessas regiões, porém grande parte deles são adquiridos por

*Revisado pelo orientador.

importação e apresentam um custo relativamente alto.

O crescimento da agricultura na região centro-oeste, principalmente das culturas de soja e milho, foi alavancado principalmente por fatores relacionados a topografia favorável, localização estratégica, solos com características físicas satisfatórias e clima adequado ao cultivo de sequeiro. Esse desenvolvimento, atraiu muitas indústrias do setor avícola que se estabeleceram na região em busca de insumos para a produção de aves, gerando uma grande oferta de resíduos desse sistema de produção.

No estado de goiás foram abatidos 318,833 milhões de aves sob inspeção sanitária no ano de 2011 (SEGPLAN, 2013), e como uma ave produz aproximadamente 1,75 kg de matéria seca de esterco (FUKAYAMA, 2008), a produção de cama de aves no estado de goiás ultrapassou 557 mil toneladas de resíduos.

Entre as opções disponíveis para o uso dos resíduos animais provenientes da avicultura, a aplicação agrícola como fertilizante orgânico pode ser uma boa opção, em termos agronômicos, econômicos, ambientais e sociais, desde que respeitados os critérios técnicos para sua aplicação (CORREA, et al. 2011). O uso agrícola é uma maneira sustentável de utilização dos resíduos desse sistema de produção, que se não tratados adequadamente podem poluir o meio ambiente.

Trabalhos mostram efeitos benéficos da utilização de resíduos animais na adubação de culturas, como o aumento na produtividade das culturas da soja e do milho (EGHBALL et al 2004, SEIDEL et al., 2011), além do aumento dos teores de matéria orgânica no solo. Blum et al., 2003 consideram que a cama de aves quando bem manejada, pode substituir parcial ou totalmente o fertilizante químico. Além disso, aumenta a capacidade de retenção de água, reduz a erosão, melhora a aeração e cria um ambiente mais adequado para o desenvolvimento da microbiota do solo pelo acréscimo de matéria orgânica. Konzen (2003) considera ser viável a utilização adequada de dejetos para a minimização do uso de adubos químicos e consequentemente do custo de produção. Em contrapartida, deve-se levar em conta a qualidade do material adquirido devido ao risco de contaminação com metais pesados e a salinização do solo pelo uso de doses muito elevadas.

A cama de aves é constituída de material excretado pelas aves, penas, ração desperdiçada e material absorvente usado no piso dos aviários e apresenta razoáveis teores de nutrientes devido a alta concentração desses elementos na dieta das aves (HAHN, 2004). Alguns fatores devem ser levados em conta no momento da utilização da adubação com cama de aves, dentre eles as características químicas do solo e do fertilizante, a extração de nutrientes pela cultura, a taxa de mineralização dos elementos contidos na cama, bem como o

período de maior exigência de cada nutriente pela cultura. Porém ainda há poucos estudos sobre a dinâmica de disponibilização dos nutrientes contidos na cama de aves, dificultando a definição da dose a ser aplicada e a necessidade de suplementação com fertilizantes minerais.

O fornecimento de nitrogênio mineral no momento correto e em dose adequada, é fundamental para o ótimo desenvolvimento e crescimento da cultura do milho (COELHO et al., 1992) e é o nutriente que mais onera o custo de produção dessa cultura (AMADO et al., 2002). Segundo Coelho et al. (2006) a cultura do milho pode absorver quantidades acima de 200 kg ha^{-1} de N para altas produtividades (acima de 10000 kg ha^{-1}), sendo que boa parte desse nutriente, cerca de 70 a 77%, não fica nos restos culturais pois é translocado para os grãos. Mesmo utilizando fertilizantes químicos, a definição da dose ideal de N é difícil, devido à dinâmica do nitrogênio no solo, que envolve volatilização, imobilização por microorganismos e lixiviação além da diversidade de resposta dos híbridos de milho ao nitrogênio (GODOY et al., 2003).

O nitrogênio e a clorofila contidos nos tecidos foliares estão diretamente relacionados às leituras fornecidas por medidores de clorofila (ARGENTA et al., 2002). Portanto o uso de clorofilômetros é uma maneira não destrutiva de análisar o conteúdo de clorofila, além de obter medições instantâneas do valor correspondente ao seu teor na folha. Com os resultados da lavoura comercial e parcelas referência com adubação nitrogenada adequada, pode-se obter um índice de suficiência de N para a cultura e otimizar a adubação nitrogenada.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização de cama de aves associada à fertilizante químico nitrogenado no desenvolvimento e na produtividade da cultura do milho e avaliar também a disponibilização de nitrogênio da cama de aves para a cultura do milho por meio de medidor portátil de clorofila.

2. METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido no Câmpus Jataí da Universidade Federal de Goiás durante a safra 2012/13. O município de Jataí está localizado na micro-região do Sudoeste Goiano, com coordenadas 17º53´ S e 52º43´ W e altitude de 680 m, com temperatura e precipitação média anual de 22 ºC e 1.800 mm, respectivamente. Os dados de precipitação e temperaturas máximas e mínimas durante a condução do experimento são apresentados na Figura 1.

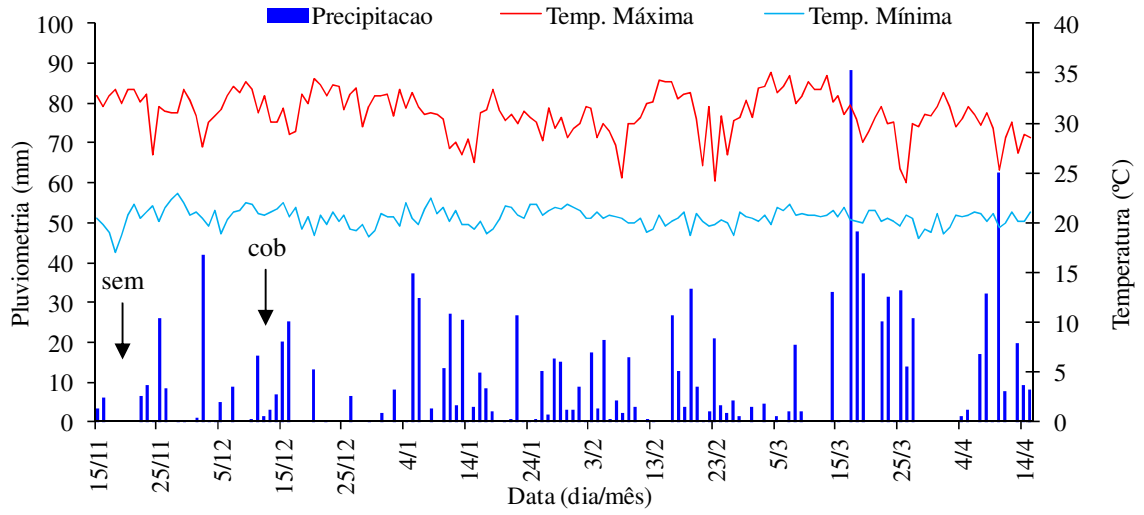


Figura 1. Precipitação pluvial (mm) e temperaturas máxima e mínima (°C) registradas na safra 2012/13, no Campus Jataí da UFG, Jataí – GO (Fonte: dados da rede do INMET). As setas indicam os momentos da semeadura (sem) e cobertura no estádio V4 (cob).

A precipitação ocorrida no período do experimento foi considerada suficiente para atender as exigências da cultura, com um total de 1202 mm.

O solo da área experimental foi classificado como Latossolo Vermelho distroférrico (EMBRAPA, 1999), com teores de 48, 42 e 10% de areia, argila e silte, respectivamente. As principais características químicas do solo da área experimental antes da implantação do experimento são apresentadas na Tabela 1. A área onde foi conduzido o experimento vem sendo ocupada a partir de 2004 pela sucessão soja/sorgo no sistema de plantio direto, sendo que a safra 2012\2013 foi o segundo ano de condução do experimento na mesma área.

Tabela 1. Resumo da análise do solo utilizado na implantação do experimento, na camada de 0-20 cm. Jataí - GO, 2012.

pH	K	P	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC	V	MO
CaCl	----mg dm^{-3}-----		----------$cmol_c$ dm^{-3}----------					---%---	g dm^{-3}
5,1	54	4,2	2	0,87	0,09	5,8	8,81	34,2	41,7

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, no esquema fatorial 5x3, com um tratamento adicional (testemunha), totalizando dezesseis tratamentos. Os fatores consistiram de três doses de cama de aves (2, 5 e 8 Mg ha^{-1}) e cinco doses de nitrogênio (0, 50, 100, 150, 200 kg ha^{-1}). A testemunha recebeu fertilizante mineral a lanço na semeadura nas doses de 120, 80 e 20 kg ha^{-1} de $P_2 0_5$, K_2O e N, respectivamente e cobertura com 200 kg ha^{-1} de N. A adubação da testemunha foi definida de acordo com a análise de solo (Tabela 1) e a produtividade esperada da cultura. Foram utilizadas quatro repetições, totalizando 64 parcelas de 5,0 m de comprimento e cinco linhas (2,25 m de largura).

O preparo da área foi realizado com aplicação do herbicida glyphosate em pré-emergência, na dose de 4 L ha^{-1} de produto comercial, 15 dias antes da semeadura. A semeadura do milho (híbrido 30F53H) foi realizada dia 19/11/2012 utilizando uma semeadora de 5 linhas, espaçadas de 45 cm. A população final esperada por hectare foi de 65.000 plantas. Após a semeadura distribuiu-se nas parcelas a cama de aves, cuja concentração era de 30,7, 28,6 e 34,7 g kg^{-1} de N, P_2O_5 e K_2O respectivamente.. Realizou-se a aplicação de Atrazine (4 L ha^{-1} de produto comercial) e Sanson® (nicosulfuron) na dose 1,5 L ha^{-1} nas datas 17/12/2012 e 21/12/2012, respectivamente. Não houve necessidade de aplicação de inseticidas e fungicidas na condução da cultura.

Em 13/12/2012 realizou-se adubação nitrogenada em cobertura, com as plantas de milho no estádio V4. Aos 30 dias após a semeadura (20/12/2012), com as plantas no estádio V6, realizou-se a medição de altura e a primeira leitura com o medidor eletrônico de clorofila ClorofiLOG CFL 1030 (FALKER, 2008). As leituras de clorofilômetro foram obtidas mensurando-se a folha mais nova completamente expandida de vinte plantas de cada parcela. A altura das plantas foi mensurada na inserção da mesma folha, com dez repetições em cada parcela. O valor da parcela, para leitura de clorofilômetro e altura de plantas, foi obtido calculando-se a média das leituras. No início do pendoamento (17/01/2013) realizou-se nova leitura de clorofilômetro. Posteriormente, realizou-se a medição da altura de inserção de espigas (22/03/2013) utilizando uma trena e diâmetro de colmo no segundo entrenó na mesma data com o uso de paquímetro. Na colheita (03/04/13) foram contadas e colhidas as espigas da parcela útil (4 metros das três linhas centrais da parcela). Após a trilha determinou-se a massa total de grãos da parcela útil e retirou-se uma amostra para determinação da massa de cem grãos e umidade. Para o cálculo da produtividade e massa de cem grãos a umidade dos grãos foi corrigida para 14%. Calculou-se ainda o número de grãos por espiga.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e análises complementares. A testemunha foi comparada com os demais tratamentos utilizando teste de Dunnet ao nível de 5% de probabilidade (bilateral). Os efeitos das doses de cama de aves e de nitrogênio foram avaliados por meio de análise de regressão. Os modelos de regressão ajustados foram escolhidos pelo método dos polinômios ortogonais correspondentes à regressão de mais alto grau que foi significativa (BANZATTO e KRONKA, 1989), observando-se a significância biológica do modelo. Os dados foram analisados utilizando-se os programas Assistat (SILVA e AZEVEDO, 2002) e Estat (BARBOSA et al., 1992).

A análise econômica foi realizada com base na estimativa de custo para implantação da cultura do milho na safra 2012/2013 na região de Rio Verde (GO) publicada por COMIGO

(2012). Nesse orçamento, foram considerados os custos de calagem, preparo do solo no sistema plantio direto, semeadura, tratos culturais, colheita e frete, armazenamento por 30 dias além de outros custos como assistência técnica, juros, INSS e arrendamento. O custo total estimado para implantação da cultura foi de R$ 3077,92 por hectare. Na estimativa considerou-se na semeadura a utilização de 400 kg ha^{-1} do fertilizante NPK 08-20-18 a um custo por hectare de R$ 522,00. Em cobertura considerou-se a aplicação de 240 kg ha^{-1} do fertilizante NPK 36-00-12 a um custo por hectare de R$ 324,00.

Para avaliar o resultado econômico do presente trabalho foram substituídos na estimativa os custos de adubação de plantio e cobertura. Sem os custos citados, a estimativa é de R$ 2231,92. Considerou-se no presente trabalho um custo de R$120,00 por tonelada para cama de aves e para cobertura R$ 1200,00 a tonelada de uréia, o fertilizante usualmente utilizado na região na cultura do milho. Para a testemunha considerou-se o custo da adubação de plantio da estimativa publicada, de R$ 522,00.

No orçamento publicado por COMIGO (2012) a capacidade operacional da operação de distribuição de fertilizante em cobertura é de 5 ha h^{-1}. Para efeito dos cálculos considerou-se uma eficiência de campo de 70%, valor frequente nesse tipo de operação mecanizada (BALASTREIRE, 1987). Entretanto, para distribuição de cama de aves a capacidade operacional é reduzida, pelo maior volume aplicado o que gera maior necessidade de paradas para abastecimento. Assim reduziu-se a eficiência de campo para 60% , obtendo uma capacidade operacional de 4,28 ha h^{-1} e ao custo orçado de R$ 45,00 a hora máquina obtém-se o custo de R$ 10,35 por hectare para distribuição da cama de aves.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Índice de suficiência de nitrogênio

Na análise do índice de suficiência de nitrogênio (ISN) (Tabela 2), considerou-se como valor de referência o maior valor observado entre os tratamentos em cada um dos estádios avaliados. No estádio V6 o maior valor de leitura de clorofilômetro observado foi no tratamento 8 Mg ha^{-1} de cama de aves associada a 150 kg ha^{-1} de N. No estádio Vt o maior valor observado foi com o tratamento 5 Mg ha^{-1} de cama de aves associada a 200 kg ha^{-1} de N.

Tabela 2. Índices de suficiência de nitrogênio em V6 (ISN V6) e no florescimento (ISN Vt).

Cama (Mg ha^{-1})	N (kg ha^{-1})	ISN V6	Suficiente	ISN Vt	Suficiente
2	0	0,85	N	0,79	N
5	0	0,93	N	0,89	N
8	0	0,93	N	0,90	N
2	50	0,97	S	0,90	N
5	50	0,99	S	0,92	N
8	50	0,95	S	0,95	S
2	100	0,97	S	0,92	N
5	100	0,96	S	0,98	S
8	100	0,96	S	0,95	S
2	150	0,96	S	0,95	S
5	150	1,00	S	0,97	S
8	150	1,00	S	0,95	S
2	200	0,95	S	0,97	S
5	200	0,98	S	1,00	S
8	200	0,97	S	0,97	S
QUI	200	0,98	S	0,96	S

As plantas suficientemente nutridas apresentam valores iguais ou superiores a 0,95 de acordo com critério proposto por Peterson et al. (1993). Observou-se que no estádio V6 os tratamentos que receberam doses a partir de 50 kg ha^{-1} de nitrogenio quimico estavam bem nutridas, independente da dose de cama de aves. Esse resultado provavelmente ocorreu devido à menor necessidade desse elemento para atender a demanda fotossintética da cultura nesse estádio de desenvolvimento.

No florescimento a demanda da cultura mostrou-se mais elevada, pois a dose de 50 kg ha^{-1} de N aplicada com 2 e 5 Mg ha^{-1} de cama de aves e 100 kg ha^{-1} de N com 2 Mg ha^{-1} de cama não foram suficientes para atender a demanda da cultura. Como relata Rambo et al. (2007), a avaliação do ISN pode proporcionar alta eficiência técnica, econômica e de uso do N na cultura do milho, sendo importante para a maximização dos lucros.

Análise de variância

As leituras com clorofilômetro, tanto em V6 quanto no florescimento, apresentaram significância para os fatores nitrogênio e cama de aves, bem como para a interação entre os mesmos (Tabela 3). Esse resultado diferiu do observado por Lima Neto et al. (2012) em experimento na mesma área, que não verificou resposta significativa em termos de clorofila em V6 para a cama de aves. O efeito residual da cama de aves pode ter contribuído para o esse comportamento, visto que o experimento já havia sido conduzido no ano anterior nas mesmas parcelas. Segundo Malavolta e Moraes (2006), cerca de 10% do nitrogênio dos

fertilizantes orgânicos é disponibilizado no segundo ano de cultivo, sendo o que efeito residual pode se estender por até três anos.

Tabela 3. Resumo da análise de variância de leitura de clorofilômetro no estádio V6 (LcV6), leitura de clorofilômetro no estádio Vt (LcVT), altura de plantas no estádio V6 (AltV6), altura de espiga (Altesp), diâmetro de colmo (Dcol), massa de 100 grãos (M100g), número de grãos por espiga (NgrEsp) e produtividade (Prod), sob doses crescentes de cama de aves (CA) e nitrogênio (N) em cobertura. Jataí, GO, Safra 2012/2013.

FV	GL	LcV6	LcVT	AltV6	Altesp	DCol	M100g	NgrEsp	Prod
N	4	28,17 **	25,19 **	4,73 **	0,47 ns	8,06 **	5,34 **	6,15 **	16,81 **
CA	2	11,14 **	11,58 **	21,43 **	26,78 **	19,36 **	39,61 **	5,54 **	23,26 **
NxCA	8	4,04 **	2,77 *	1,01 ns	0,50 ns	1,88 ns	1,11 ns	2,13 ns	1,77 ns
T vs Fat.	1	3,16 ns	2,06 ns	2,75 ns	0,70 ns	9,47 **	0,16 ns	0,00 ns	0,34 ns
(Trats.)	15	11,36 **	9,87 **	4,84 **	4,01 **	6,37 **	7,31 **	3,52 **	8,55 **
Blocos	3	2,63 ns	2,23 ns	3,30 *	8,67 **	3,39 *	15,86 **	12,00 **	0,79 ns
CV(%)		2,25	3,43	4,95	2,79	2,20	3,89	6,81	7,11

*, **, ns. Significativo a 5%, 1% e não significativo, respectivamente, pelo Teste F

As demais variáveis estudadas, exceto altura de espigas, apresentaram efeito significativo para os dois fatores, nitrogênio e cama de aves, e interação não significativa. Lima Neto et al. (2012) não observaram efeito de N para as variáveis altura de plantas e altura de espigas na mesma área. Essa divergência pode ter ocorrido por ser o segundo ano de cultivo, devido ao efeito residual da cama de aves ou mesmo por diferenças nas condições climáticas.

Tratamentos em relação a testemunha

Os resultados submetidos ao Teste de Dunnet (Tabela 4) demonstraram que em geral as maiores doses de N associadas as maiores doses de cama de aves proporcionaram resultados iguais ao da testemunha, exceto o diâmetro de colmo.

Verificou-se que para leituras do clorofilômetro em V6 os tratamentos que não receberam N em cobertura apresentaram valores mais baixos. Entretanto, no estádio Vt, o tratamento com 8 Mg ha^{-1} de cama de aves sem N em cobertura não diferiu da testemunha. Provavelmente, isso ocorreu pela mineralização da cama de aves e disponibilização do N. O comportamento da variável foi semelhante ao da altura de plantas em V6, em que apenas o tratamento com 2 Mg ha^{-1} de cama de aves e sem cobertura com N foi menor que a testemunha. Isso evidencia que embora haja necessidade de mineralização do resíduo orgânico para disponibilização de N, uma parte está disponível no início do desenvolvimento da cultura além do fornecimento de outros nutrientes pela camda de aves. Na altura de espigas entretanto, os tratamentos não diferiram da testemunha, uma vez que é uma característica mais influenciada pela genética do que pelo ambiente (TAFFAREL, et al. 2012).

Tabela 4. Teste de Dunnet para leitura de clorofilômetro no estádio V6 (LcV6), leitura de clorofilômetro no estádio Vt (LcVT), altura de plantas no estádio V6 (AltV6), altura de espiga (Altesp), diâmetro de colmo (Dcol), massa de 100 grãos (M100g), número de grãos por espiga (NgrEsp) e produtividade (Prod), sob doses crescentes de cama de aves (CA) e nitrogênio (N) em cobertura. Jataí, GO, Safra 2012/2013.

CA	N	LcV6	LcVT	AltV6	Altesp	Dcol	M100g	NgrEsp	Prod
2	0	51,53a	54,50a	21,62a	115,82a	21,00a	32,23a	389,93a	7251,85 a
5	0	56,52a	61,11a	24,70 b	113,15a	21,90a	34,38 b	457,51 b	9509,78 b
8	0	56,53a	61,97 b	25,62 b	114,60a	22,12a	35,20 b	502,77 b	10266,21 b
2	50	58,90 b	61,88 b	24,15 b	112,97a	21,67a	32,08a	472,96 b	9394,27 b
5	50	60,13 b	63,26 b	26,25 b	117,40a	22,50a	36,03 b	475,83 b	10336,02 b
8	50	58,20 b	65,69 b	25,80 b	113,97a	23,20 b	37,62 b	495,36 b	10826,95 b
2	100	59,19 b	63,65 b	23,22 b	118,35a	22,35a	33,37 b	499,24 b	9658,94 b
5	100	58,77 b	67,67 b	24,70 b	117,07a	23,20 b	36,26 b	515,17 b	10935,93 b
8	100	58,40 b	65,44 b	25,95 b	112,25a	22,77 b	36,13 b	519,47 b	10735,55 b
2	150	58,55 b	65,39 b	23,75 b	113,35a	22,42a	33,86 b	498,64 b	10312,96 b
5	150	60,74 b	67,16 b	25,02 b	119,87a	22,47a	36,69 b	480,67 b	10361,43 b
8	150	60,97 b	65,56 b	26,02 b	120,22a	22,95 b	37,30 b	495,21 b	11773,04 b
2	200	58,09 b	66,94 b	22,55a	108,37a	21,72a	34,29 b	498,13 b	10904,04 b
5	200	59,61 b	68,92 b	24,02 b	107,45a	22,67 b	37,78 b	501,67 b	10949,70 b
8	200	59,09 b	66,72 b	23,85 b	116,12a	22,72 b	37,48 b	520,35 b	11796,78 b
QUI		59,55 b	66,03 b	25,52 b	114,60a	21,60a	35,66 b	489,06 b	10342,00 b
CV (%)		2,22	3,43	4,95	3,06	2,2	3,89	6,81	7,34

Na variável diâmetro de colmo a testemunha não diferiu de todos os tratamentos com a dose de 2 Mg ha^{-1} de cama de aves. Com a dose de 5 Mg ha^{-1} de cama de aves e as doses mais altas de N, assim como os tratamentos com 8 Mg ha^{-1} de cama de aves que receberam N apresentaram maior diâmetro de colmo, provavelmente em função da disponibilização de diversos outros nutrientes pela cama de aves. A massa de 100 grãos foi menor que a testemunha nos tratamentos com 2 Mg ha^{-1} de cama de aves associada as doses de 0 e 50 kg ha^{-1} de N, demonstrando deficiência nutricional após o florescimento (FANCELLI e DOURADO NETO, 2000). Por sua vez, o número de grãos por espigas e a produtividade apresentaram comportamento idêntico, com todos os tratamentos, exceto a dose de de 2 Mg ha^{-1} de cama de aves sem nitrogênio em cobertura, não diferindo da testemunha. Isso evidencia que o menor aporte de N evidenciado pelo resultado das leituras de clorofila e altura afetou a diferenciação do número de óvulos e consequentemente a produtividade (MENGEL e BARBER, 1974 citados por DUETE et al., 2008).

Leituras do Clorofilômetro

Uma vez que para leitura do clorofilômetro houve interação significativa procedeu-se ao desdobramento da interação.

A resposta em termos de leitura de clorofilômetro em função das doses de N no estádio V6 apresentou-se com um modelo quadrático para todas as doses de cama de aves (Tabela 5). Esse resultado evidencia que a quantidade de N fornecidos nas maiores doses, foi superior às exigências das plantas em estádio pouco avançado, que não necessitariam de doses tão elevadas para suprir as suas exigências para produção de clorofila.

Tabela 5. Desdobramento da resposta em termos de clorofila foliar em função das doses de N dentro das doses de cama de aves.

Variável	Cama de Aves (Mg ha^{-1})	Equação	R^2
Clorofilômetro V6	2	LC = 52,33093 + 0,12037 N - 0,00047 N^2	0,86
	5	LC = 56,91514 + 0,04870 N - 0,00017 N^2	0,68
	8	LC = 56,38843 + 0,04269 N - 0,00013 N^2	0,76
Clorofilômetro VT	2	LC = 55,12693 + 0,12353 N - 0,00034 N^2	0,96
	5	LC = 61,71900 + 0,03905 N	0,88
	8	LC = 63,20100 + 0.01876 N	0,67

"LC" Leitura de clorofilômetro, "N" Dose de N (kg ha^{-1})

No estádio Vt a cultura respondeu linearmente para as doses 5 e 8 Mg ha^{-1} de cama de aves. Na maior dose (8 Mg ha^{-1}) a cultura responde de forma menos acentuada ao aumento da dose de nitrogênio, provavelmente pela disponibilização do N imobilizado pela microbiota do solo pela adição do resíduo. Na dose 2 Mg ha^{-1} a resposta foi quadrática, possivelmente em virtude da limitação de outros nutrientes que afetaram a resposta da cultura às doses de N, como por exemplo o potássio (K). O suprimento adequado de N e K frequentemente aumenta a resposta de ambos, e a não-adição de um deles pode levar a decréscimos da resposta do outro, tanto em termos de produtividade quanto de acúmulo nos tecidos do vegetal (NOVAES et al. 2007).

Segundo Cantarella (1993), apesar de ter a maior percentagem de absorção de nitrogênio no período de 40 a 60 dias após a germinação, a cultura do milho ainda pode retirar do solo cerca de 50% do N necessário as suas exigências após o início do florescimento.

Verificou-se resposta para as leituras de clorofila em função das doses de cama de aves nas doses de 0 e 150 kg ha^{-1} no estádio V6 (Tabela 6).

Tabela 6. Desdobramento da resposta em termos de clorofila foliar em função das doses de cama de aves dentro das doses de N.

Variável	Nitrogênio (kg ha^{-1})	Equação	R^2
Clorofilômetro V6	0	LC = 50,693 + 0,8338 CA	0,75
	150	LC = 58,073 + 0,4025 CA	0,82
Clorofilômetro VT	0	LC = 52,971 + 1,2446 CA	0,84
	50	LC = 60,439 + 0,6342 CA	0,98

"LC" Leitura de clorofilômetro, "CA" Dose de cama de aves (Mg ha^{-1})

Para as leituras realizadas no florescimento também houve resposta, porém para as doses 0 e 50 kg ha^{-1}. Não houve resposta significativa para as demais doses de N avaliadas. Não se esperava a resposta às doses de cama de aves com a dose de 150 kg ha^{-1} de N. Nas doses mais baixas (0 e 50 kg ha^{-1} de N), a resposta ocorre pois as plantas se mostram deficientes e a quantidade de N fornecido pela cama é suficiente para apresentar efeito significativo. Nas doses maiores, não se observa resposta à cama de aves pois as plantas estão bem nutridas com a adubação mineral.

Resposta às doses de nitrogênio

O nitrogênio influenciou a altura de plantas em V6 (Tabela 7) com resposta quadrática, semelhante ao resultado observado para clorofila no mesmo estádio. Isso demonstra que as maiores doses foram excessivas para esse estádio de desenvolvimento.

Tabela 7. Equações de regressão das doses de N sob doses de cama de aves.

Variável	Equação	R^2
AltV6	ALT = 24,11324 + 0,02370 N - 0,00013 N^2	0,76
DCol	DCOL = 21,70761 + 0,01754 N - 0,00007 N^2	0,98
M100g	M100G = 34,20860 + 0,01174 N	0,92
NgrEsp	NGRESP = 463,5115 + 0,24683 N	0,64
Prod	PROD = 9325,197 + 10,0903 N	0,91

"N" Dose de N (kg ha^{-1})

A altura de espigas não foi influenciada pelo fator, demonstrando que nos estádios inicias a adubação quimica nitrogenada propicia desenvolvimento mais acelerado das plantas. Resultados semelhantes foram observados por Adami et al. (2012) nos quais as diferenças de altura de plantas nos estádios inicias são mais evidentes. Mitchell e Tu (2005) citados por Adami et al. (2012) comparando os mesmos níveis de N usando nitrato de amônio e cama de aves observaram que as plantas que receberam fertilizante mineral foram maiores que as plantas fertilizadas com cama de aves.

O diâmetro de colmo ajustou-se ao modelo de regressão quadrático para as diferentes doses de N, característica usualmente relacionada com a produtividade, visto que com melhor desenvolvimento das plantas aumenta a quantidade de fotoassimilados armazenados no colmo, que posteriormente serão translocados para o enchimento dos grãos aumentando a produtividade. O fato do modelo ajustado ser quadrático indica que a dose ótima para as condições estudadas era inferior á máxima utilizada.

A produtividade e suas componentes massa de 100 grãos e número de grãos por espiga ajustaram-se ao modelo linear, no qual as maiores doses de nitrogênio propiciam maiores valores, corroborando com Lucena et al. (2000). Esperava-se resposta semelhante entre estas

variáveis visto que a produtividade está intimamente relacionada com a massa dos grãos e a quantidade de grãos que cada espiga apresenta. As plantas de milho definem o número de grãos por espiga nos estádios iniciais de desenvolvimento sendo que a deficiência de N nesses estádios pode reduzir a diferenciação do número de óvulos nos primórdios da espiga (MENGEL e BARBER, 1974 citados por DUETE et al., 2008). As doses mais baixas de N, nos estádios iniciais, acarretaram menor número de grãos por espiga.

A massa dos grãos é definida posteriormente (FANCELLI e DOURADO NETO, 2000), próximo ao florescimento. Uma vez que a resposta dessa variável também foi linear, infere-se que a disponibilização do N pela cama de aves próximo ao final do ciclo, evidenciado pelas leituras de clorofilômetro em Vt, não foi suficiente para atender às exigências da cultura nesse nutriente.

Resposta às doses de cama de aves

Tanto a altura de plantas quanto a altura de espigas são influenciadas pelo aumento da dose de cama de aves (Tabela 8), na qual as maiores doses proporcionam maiores alturas.

Tabela 8. Equações de regressão das doses de Cama de aves sob doses de N.

Variável	Equação	R^2
AltV6	ALTV6 = 22,49167 + 0,39833 CA	0,90
AltEsp	ALTESP = 108,49 + 1,23 CA	0,99
DCol	DCOL = 21,613 + 0,1533 CA	0,91
M100g	M100G = 32,396 + 0,5973 CA	0,86
NgrEsp	NGRESP = 459,15 + 5,8083 CA	0,99
Prod	PROD = 9021,488 + 262,5489 CA	0,99

"CA" Dose de cama de aves (Mg ha^{-1})

Gomes et al. (2005) verificou que plantas de milho adubadas com cama de aviário no sulco de semeadura apresentam-se mais altas quando comparadas aquelas adubadas á lanço, possivelmente devido a concentração do adubo por volume de solo ser maior. Assim, nas maiores doses o maior aporte de nutrientes favoreceu o desenvolvimento das plantas até o estádio de florescimento da cultura, indicando que outros elementos, além do nitrogênio, podem estar correlacionados ao incremento dessa variável.

Houve resposta em termos de diâmetro de colmo ao aumento da dose de cama de aves, evidenciando maior aporte nutricional nas doses de cama de aves mais elevadas, propiciando melhor desenvolvimento e armazenamento de fotoassimilados pelas plantas. Resultados semelhantes foram observados por Adami et al. (2012) com aumento do diâmetro de colmo no milho pela adição de cama de aviário. Essa resposta pode ser favorável para redução de perdas na colheita pois colmos de maior diâmetro tendem a reduzir o tombamento de plantas.

O processo de mineralização da cama de aves demanda certo período, e alguns

nutrientes, como o N são imobilizados pela microbiota do solo e disponibilizados ás plantas após o declino da população de microrganismos. Apesar disso a cultura respondeu em termos de massa de 100 grãos, número de grãos por espiga e produtividade, indicando que o ganho de produtividade provavelmente não foi comprometido pelo atraso no fornecimento de alguns nutrientes.

Análise econômica

Para estimar a receita de cada tratamento, foram utilizadas as equações ajustadas para a produtividade em função das doses de N em cada uma das doses de cama de aves (Tabela 9) e para a testemunha com adubação mineral a produtividade média das parcelas.

Tabela 9. Equações ajustadas para produtividade da cultura do milho em função de doses de N em cobertura.

Dose de cama de aves (Mg ha^{-1})	Equação ajustada
2	Y = 7859,804 + 16,446 X
5	Y = 9837,523 + 5,810 X
8	Y = 10278,270 + 8,014 X

A receita foi calculada considerando-se o valor de R$ 23,00 por saca de 60 kg de milho, de acordo com a coleta de preços de COMIGO (2012). Dessa forma, foram obtidos os dados apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Lucro estimado para os tratamentos utilizados de acordo com a produtividade estimada e estimativa do custo de implantação da cultura na safra 2012/2013 na região de Rio Verde – GO publicada por COMIGO (2012).

Tratamento		Custo base	Custo do tratamento	Custo total	Produtiv.	Renda	Lucro
Cama de Aves (Mg ha^{-1})	N (kg ha^{-1})	(R$ ha^{-1})	(R$ ha^{-1})	(R$ ha^{-1})	(kg ha^{-1})	(R$ ha^{-1})	(R$ ha^{-1})
2	0	2231,92	310,35	2542,27	7859,80	3012,92	470,65
2	50	2231,92	383,68	2615,60	8682,11	3328,14	712,54
2	100	2231,92	517,02	2748,94	9504,42	3643,36	894,42
2	150	2231,92	650,35	2882,27	10326,72	3958,58	1076,31
2	200	2231,92	783,68	3015,60	11149,03	4273,79	1258,19
5	0	2231,92	610,35	2842,27	9837,52	3771,05	928,78
5	50	2231,92	743,68	2975,60	10128,05	3882,42	906,82
5	100	2231,92	877,02	3108,94	10418,57	3993,79	884,85
5	150	2231,92	1010,35	3242,27	10709,10	4105,16	862,89
5	200	2231,92	1143,68	3375,60	10999,62	4216,52	840,92
8	0	2231,92	970,35	3202,27	10278,27	3940,00	737,73
8	50	2231,92	1103,68	3335,60	10678,99	4093,61	758,01
8	100	2231,92	1237,02	3468,94	11079,71	4247,22	778,28
8	150	2231,92	1370,35	3602,27	11480,43	4400,83	798,56
8	200	2231,92	1503,68	3735,60	11881,16	4554,44	818,84
QUI	200	2231,92	1055,33	3287,25	10114,49	3877,22	589,97

Verifica-se que o uso de cama de aves associado ao N mineral é economicamente viável e mais lucrativo que a utilização do fertilizante químico, para esse ano agrícola e a estimativa publicada por COMIGO 2012. Observou-se que comparado a testemunha, todos os tratamentos foram mais lucrativos, exceto 2 Mg ha^{-1} sem aplicação de N em cobertura. O maior lucro foi obtido utilizando-se a dose mais baixa de cama de aves e a maior dose de N em cobertura, reafirmando a necessidade de associação do fertilizante orgânico com o N mineral.

Na figura 2 os dados obtidos são apresentados na forma de uma superfície

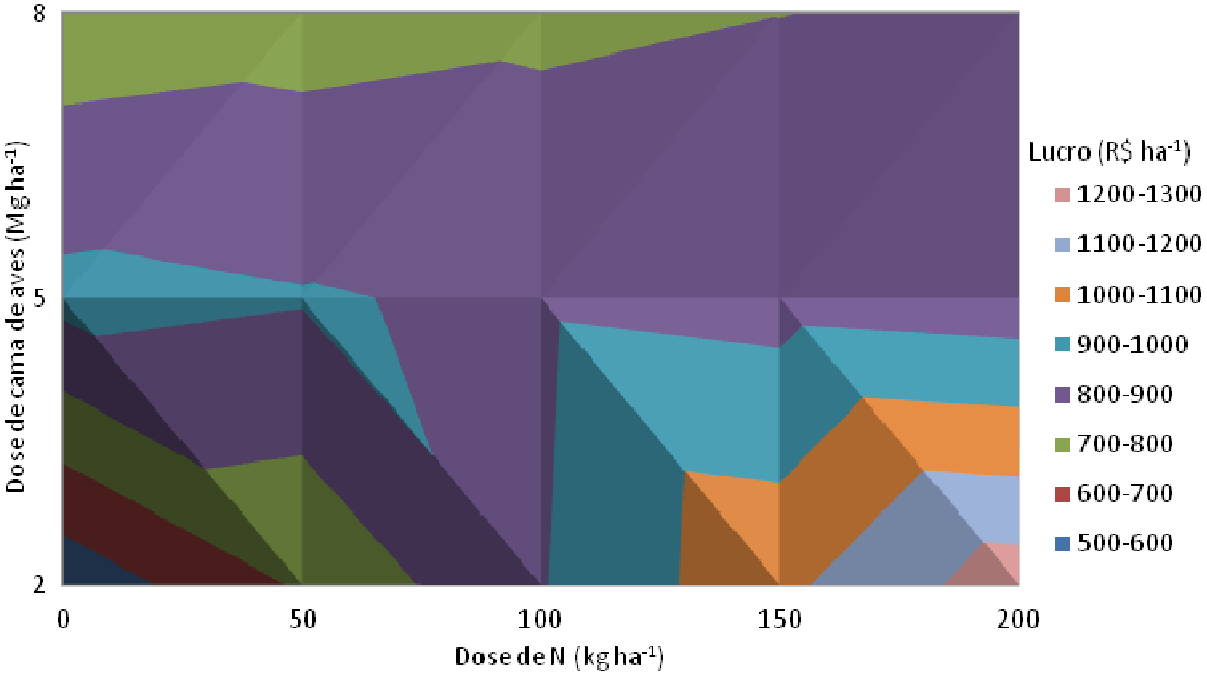


Figura 2. Lucratividade da adubação com cama de aves e nitrogênio mineral na cultura do milho

Entretanto, deve-se considerar a reposição dos nutrientes exportados pela cultura (Tabela 11), calculados a partir dos valores exportados pela cultura do milho citados por Fancelli e Dourado Neto (2000) e produtividade obtida por cada tratamento. De acordo com a exportação de nutrientes, a dose de 2 Mg ha^{-1} de cama de aves, embora mais lucrativa, não é sustentável pois acarreta empobrecimento do solo em fósforo com qualquer dose de N em cobertura. Tecnicamente, o mais recomendável seria utilizar a dose de 5 Mg ha^{-1} de cama de aves sem cobertura nitrogenada ou com até em torno de 50 kg de N ha^{-1} em cobertura.

A decisão de aumentar a dose de N em cobertura deve ser tomada pelo produtor em função da relação de troca esperada para o preço do milho e do N. Observa-se que para essa safra, embora com maior produtividade, a utilização de maiores doses de N foi menos lucrativa. Em um ano com expectativa de alta no preço do milho, pode ser interessante utilizar maior dose de nitrogênio e/ou cama de aves.

Tabela 11. Adição e exportação de nutrientes pela cultura do milho adubado com cama de aves e N mineral em cobertura.

CA	Lucro	Adicionado(kg ha^{-1})				Exportado(kg ha^{-1})			Diferença(kg ha^{-1})		
(Mg ha^{-1})	(R$ ha^{-1})	N cob.	N	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O
2	1258,19	200	61,4	57,2	69,4	158,3	86,8	57,5	103,1	-29,6	11,9
2	1076,31	150	61,4	57,2	69,4	146,6	80,4	53,3	64,8	-23,2	16,1
5	928,78	0	153,5	143,0	173,5	139,7	76,6	50,8	13,8	66,4	122,7
5	906,82	50	153,5	143,0	173,5	143,8	78,9	52,3	59,7	64,1	121,2
2	894,42	100	61,4	57,2	69,4	135,0	74,0	49,0	26,4	-16,8	20,4
5	884,85	100	153,5	143,0	173,5	147,9	81,1	53,8	105,6	61,9	119,7
5	862,89	150	153,5	143,0	173,5	152,1	83,4	55,3	151,4	59,6	118,2
5	840,92	200	153,5	143,0	173,5	156,2	85,6	56,8	197,3	57,4	116,7
8	818,84	200	245,6	228,8	277,6	168,7	92,5	61,3	276,9	136,3	216,3
8	798,56	150	245,6	228,8	277,6	163,0	89,4	59,2	232,6	139,4	218,4
8	778,28	100	245,6	228,8	277,6	157,3	86,3	57,2	188,3	142,5	220,4
8	758,01	50	245,6	228,8	277,6	151,6	83,1	55,1	144,0	145,7	222,5
8	737,73	0	245,6	228,8	277,6	146,0	80,0	53,0	99,6	148,8	224,6
2	712,54	50	61,4	57,2	69,4	123,3	67,6	44,8	-11,9	-10,4	24,6
QUI	589,97	200	20,0	120,0	80,0	143,6	78,8	52,2	76,4	41,2	27,8
2	470,65	0	61,4	57,2	69,4	111,6	61,2	40,6	-50,2	-4,0	28,8

4. CONCLUSÕES

O aumento do teor de clorofila está diretamente relacionado ao aumento da dose de N, tanto na forma orgânica quanto mineral, sendo que há interação significativa entre os fatores.

A disponibilização mais intensa de N da cama de aves ocorre em estádios mais avançados da cultura do milho, após o estádio V6.

As doses de cama de aves e nitrogênio mineral influenciam na expressão das variáveis altura de plantas em V6, diâmetro de colmo, massa de 100 grãos, número de grãos por espiga e produtividade.

A altura de espigas não é influenciada pelas doses de N mineral, mas sim pela cama de aves.

A utilização de doses mais baixas de cama de aves associadas a doses mais altas de N mineral é mais viável economicamente, embora a utilização de maiores doses de cama de aves seja tecnicamente recomendada pela exportação de nutrientes.

Doses maiores de cama de aves e N mineral promovem maior produtividade.

5. REFERÊNCIAS

ADAMI, P. F. ; PELISSARI, A. ; MORAES, A. ; MODOLO, A. J. ; ASSMANN, T. S. ; FRANCHIN, M. F. ; CASSOL, L. C. Grazing intensities and poultry litter fertilization levels on corn and black oat yield. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.47, n.3, p.360-368, 2012.

AMADO, T. J. C.; MIELNICZUK, J.; AITA, C. Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.26, p.241-248, 2002.

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F. ; MIELNICZUK, J.; BARTOLINI, C. G. Parâmetros de planta como indicadores do nível de nitrogênio na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, p. 519-527, 2002.

BALASTREIRE, L. A. **Máquinas Agrícolas**. Manole: São Paulo, 1987, 310p.

BANZATTO, A. D., KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. Jaboticabal, FUNEP, 1989. 247p.

BARBOSA, J. C.; MALHEIROS, E. B.; BANZATTO, D. A. **ESTAT: um sistema de análises estatísticas de ensaios agronômicos**. Versão 2.0. Jaboticabal: Unesp, 1992.

BLUM, L. E. B.; AMARANTE, C. V. T.; GÜTTLER, G.; MACEDO, A. F.; KOTHE, D. M.; SIMMLER, A. O.; PRADO, G.; GUIMARÃES, L. S. Produção de moranga e pepino em solo com incorporação de cama aviária e casca de pinus. **Horticultura Brasileira**, Brasília v.21, p.627-631, 2003.

CANTARELLA, H. **Calagem e adubação do milho**. In: BÜLL, L.T. & CANTARELLA, H., (eds). Cultura do milho: Fatores que afetam a produtividade. Piracicaba, Potafos, 1993. p.147-169.

COELHO, A. M.; FRANCA, G. E.; BAHIA FILHO, A. F. C.; GUEDES, G. A. A. Doses e métodos de aplicação de fertilizantes nitrogenados na cultura do milho sob irrigação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.16, p.61-67, 1992.

COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E.; PITTA, G. V. E.; ALVES, V. M. C.; HERNANI, L. C. **Nutrição e adubação do milho**. Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de Produção 1 – Versão Eletrônica – 2ª edição, 2006. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho_2ed/feraduba.htm>. Acesso em junho de 2013.

COMIGO Cooperativa Agroindustrial dos Produtores Rurais do Sudoeste Goiano. **Informe COMIGO** nº 319, agosto 2012 30p.

CORREA, J. C.; BENITES, V. M.; REBELLATTO, A. **O uso dos resíduos animais como fertilizantes.** II Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais – II SIGERA. Foz do Iguaçu, PR. 2011.

DUETE, R. R. C.; MURAOKA T.; SILVA, E. C.; TRIVELIN, P. C. O; AMBROSANO, E. J. Manejo da adubação nitrogenada e utilização do nitrogênio (15N) pelo milho em Latossolo Vermelho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 161-171, 2008.

EGHBALL, B., GINTING, D., GILLEY, J.E. Residual effects of manure and compost application on corn production and soil properties. **Agronomy Journal,** Madison n. 96, p. 442–447, 2004.

EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Rio de Janeiro, 1999. 412p.

FALKER AUTOMAÇÃO AGRÍCOLA LTDA. **Manual do medidor eletrônico de clorofila ClorofiLOG CFL 1030**, Porto Alegre, 2008. 4p.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 360p.

FUKAYAMA, E. H. **Características quantitativas e qualitativas da cama de frango sob diferentes reutilizações: efeitos na produção de biogás e biofertilizante**. Dissertação (doutorado) Universidade Estadual Paulista – UNESP. 2008. 99 p.

GODOY, L. J. G.; VILLAS BÔAS, R. L.; BÜLL, L. T. Utilização da medida do clorofilômetro no manejo da adubação nitrogenada em plantas de pimentão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, p.1049-1056, 2003.

GOMES, J. A.; SCAPIM, C. A.; BRACCINI, A. L.; VIDIGAL FILHO, P. S.; SAGRILO, E.; MORA, F. Adubações orgânica e mineral, produtividade do milho e características físicas e químicas de um Argissolo Vermelho-Amarelo. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v.27, n.3, p.521-529, 2005.

HAHN, L. **Processamento da cama de aviário e suas implicações nos agroecossistemas**. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2004. 130p.

KONZEN, E.A. **Fertilização de lavoura e pastagem com dejetos de suínos e cama de aves**. Sete Lagoas: Embrapa. Milho e Sorgo, 2003. 19p. (Informe Técnico).

LIMA NETO, P. M. ; NOGUEIRA, P. D. M. ; DIAS, D. S. ; SENA JR, D. G. . **Manejo da adubação nitrogenada em cobertura na cultura do milho adubado com cama de aves.** In: IX Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão, 2012, Goiânia. Anais do IX Conpeex/ XX Seminário de Iniciação Científica. UFG, 2012. p. 4177-4190.

LUCENA, L. F. C.; OLIVEIRA, F. A.; SILVA, I. F.; ANDRADE, A. P. Resposta do milho a diferentes dosagens de nitrogênio e fósforo aplicados ao solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande – PB, v.4, n.3, p.334-337, 2000.

MALAVOLTA, E.; MORAES, M. F. **O nitrogênio na agricultura brasileira**. Série estudos e documentos. CETEM (Centro de Tecnologia Mineral). 2006. 72 p.

NOVAES, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do Solo**. Sociedade Brasileira de ciência do solo. Viçosa/MG. 2007. 1017p

PETERSON, T. A.; BLAKMER, T. M.; FRANCIS, D. D.; SCHEPERS, J.S. **Using a Chlorophyll Meter to Improve N Management**. University of Nebraska-Lincoln. NebGuide: G93-1171-A, 1993.

RAMBO, L.; SILVA, P. R. F.; STRIEDER, M. L.; SANGOI, L.; BAYER, C.; ARGENTA, G. Monitoramento do nitrogênio na planta e no solo para predição da adubação nitrogenada em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.3, p.407-417, 2007.

SEGPLAN - **Goiás em Dados 2012**. Secretaria de Estado de Gestão e Planejamento; Instituto Mauro Borges de Estatísticas e Estudos Socioeconômicos - Goiânia:, 2013. 107 p.

SEIDEL, E. P.; SOUSA, R. F. B.; STOFFEL, T.; HEPP, N.E.; OFFEMANN, L.C. **Produtividade da cultura do milho sob diferentes doses de cama de aviário e níveis de compactação** In: II Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais. Foz do Iguaçu, PR. 2011.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4,n.1, p71-78, 2002.

TAFFAREL, L.E. ; PIANO, J. T.; BULEGON, L.G.; DUCATI, C.; CASTAGNARA, D. D.; OLIVEIRA, P. S. R. . **Manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho.** In: XXIV Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012, Águas de Lindóia. XXIV Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012. p. 1475-1480.

Estudo Teórico das Polarizabilidades Lineares de Aglomerados de Alumínio

Pedro Paulo Alves Coimbra [1], Tertius Lima da Fonseca [2]

Instituto de Física, Universidade Federal de Goiás
74.001-970, Goiânia (GO), Brazil
[1] ppacoimbra@hotmail.com, [2] tertius@if.ufg.br

Palavras-chave: Aglomerados de Alumínio, Teoria do Funcional da Densidade, Primeiras Hiperpolarizabilidades

1 Introdução

O estudo de propriedades ópticas não lineares (NLO) de aglomerados de átomos metálicos alumínio tem sido motivado pelas possíveis aplicações nanotecnológicas desses sistemas metálicos [1]. Estudos teóricos mais recentes tem mostrado que aglomerados metálicos podem apresentar propriedades NLO, que são de interesse para aplicações em tecnologias fotônicas [2]. Propriedades eletrônicas como polarizabilidade linear e hiperpolarizabilidade que descrevem as respostas do aglomerado aos efeitos de um campo elétrico externo, podem fornecer informações microscópicas valiosas de interesse básico e aplicado [2]. Um aspecto crítico para a descrição adequada das propriedades eletrônicas é a determinação da estrutura geométrica de mínima energia. Para a realização deste trabalho, as estruturas de mínima energia dos aglomerados foram obtidas com um tratamento teórico que inclui efeitos de correlação eletrônica. Tais efeitos manifestam-se em diversas propriedades moleculares e são particularmente importantes na determinação de resultados realistas para as polarizabilidades [3–5].

Cálculamos as energias eletrônicas com correção de ponto zero de cada aglomerado após a determinação das respectivas geometrias de equilíbrio, a qual empregamos o nivel de cálculo B3LYP, com as funções base 6-311G(2d) e 6-311+G(2df) em três estados de carga sendo eles neutros e carregados positiva e negativamente. Tais aglomerados foram escolhidos por consistirem em importantes sistemas moleculares, podendo ser usados como referência em estudos de outros aglomerados metálicos. Calculamos as transições verticais e adiabáticas para o potencial de ionização e para o separação eletrônica de cada aglomerado e comparamos com os resultados

[2] Revisado pelo orientador.

experimentais. Enfim realizamos os cálculos das polarizabilidades lineares e primeiras hiperpolarizabilidades, empregando a função base 6-311G+(2d), essenciais para um estudo das propriedades eletrônicas.

2 Objetivos

Analisar a influência dos efeitos decorrentes da correlação eletrônica sobre propriedades estruturais e eletrônicas como o potencial de ionização e separação eletrônica de aglomerados de alumínio. Analisar o comportamento das propriedades eletrônicas em função do crescimento do número de átomos do aglomerado e do estado de carga. Um dos objetivos deste trabalho é também reproduzir os resultados reportados por Sun et al. [1] para os aglomerados mencionados acima.

3 Metodologia

As geometrias dos aglomerados de Al_n, Al_n^+ e Al_n^- (com n= 2-15) foram determinadas usando o método B3LYP com os conjuntos de funções base 6-311G(2d) e 6-311+G(2df). Em cada caso, as geometrias de equilíbrio obtidas foram caracterizadas por cálculos de freqüências vibracionais harmônicas. O potencial de ionização adiabático foi determinado como a diferença de energia do estado fundamental do aglomerado neutro e do aglomerado catiônico. De forma similar, a separação eletrônica adiabática foi calculada como a diferença entre aglomerados neutros e aniônicos. Calculamos a energia dos aglomerados catiônicos com a mesma geometria dos neutros para a transição vertical do potencial de ionização. E calculamos a energia dos aglomerados neutros com a mesma geometria dos aniônicos para a obtenção das separações eletrônicas verticais. Os cálculos das propriedades eletrônicas foram realizados no nível B3LYP usando diferentes conjuntos de funções base.

Para determinarmos a primeira hiperpolarizabilidade utilizamos o procedimento de campo finito, em que a energia do sistema é escrita em termos de uma expansão na intensidade do campo elétrico externo aplicado, na qual os coeficientes da expansão representam as componentes das propriedades elétricas deste sistema:

$$E = E_0 - \sum \mu_i F_i - \frac{1}{2!}\sum \alpha_{ij} F_{ij} - \frac{1}{3!}\sum \beta_{ijk} F_{ijk} - \ldots \quad (1)$$

Nesta última, E é a energia do sistema, μ é o momento de dipolo, α a polarizabilidade linear e β a primeira hiperpolarizabilidade. Todos os cálculos foram realizados usando o programa Gaussian03 [7].

4 Resultados e Discussões

4.1 Geometria

Iniciamos esta seção apresentando a geometria de equilíbrio de cada aglomerado de alumínio. Como dito anteriormente os parâmetros geométricos foram obtidos com o método B3LYP usando dois conjuntos de funções base para testar a qualidade dos resultados obtidos. As energias do estado fundamental, levando em consideração a correção de ponto zero, para os aglomerados neutros, positivos e negativos obtidas com as funções base 6-311G(2d) e 6-311+G(2df) são apresentadas nas Tabelas 1 e 2. Na figura 1 são apresentadas as geometrias de equilíbrio no estado fundamental de cada aglomerado.

Os comprimentos de ligação para os aglomerados diatômicos Al_2, Al_2^+ e Al_2^- bem como sua estrutura linear estão em acordo com o resultado anterior reportado por Sun et al. [1]. A geometria de equilíbrio para os Al_3, Al_3^- e Al_3^+ no estado fundamental formam triângulos equiláteros, onde os dois primeiros possuem comprimentos de ligação muito similares medindo aproximadamente 2.54 Å, enquanto que o catiônico possui lados um pouco maiores, resultado também presente em estudos prévios [6,8]. Os aglomerados Al_4, Al_4^+ e Al_4^- possuem simetria romboidal, onde novamente o aglomerado catiônico segue a tendência presente desde o cluster diatômico, possuindo maior comprimento de ligação (2.74 Å) do que os respectivos comprimentos 2.57 Å e 2.58 Å para os aglomerados Al_4^- e Al_4. Todas as estruturas reportadas até o presente momento estão em bom acordo com estudos anteriormente reportados na Ref. [8]. Os aglomerados Al_5 e Al_5^- possuem estruturas planares enquanto que o aglomerado Al_5^+ é o primeiro dentre os aglomerados até então discutidos que não possui uma estrutura planar, mas espacial. Tal estrutura é mais estável que a forma plana [6].

A estrutura do aglomerado Al_6 tanto iônico quanto neutro se assemelha com um octaedro. A estrutura dos clusters de sete átomos é similar aos de seis átomos com a distinção que em uma das metades do octaedro foi acrescentado um átomo de alumínio a mais. Tais estruturas tanto no que diz respeito aos aglomerados de seis e sete átomos de alumínio, estão em concordância com outros trabalhos presentes na literatura [6,8]. Todavia, o estudo de aglomerados de alumínio de 8-10 átomos, utilizado o nível de calculo B3LYP tanto para a base 6-311G(2d) quanto para 6-311+G(2df), nos forneceu resultados um tanto quanto distintos de outras reportagens. Se compararmos a estrutura dos aglomerados Al_8 e Al_8^-, vemos que não há grandes alterações em suas geometrias de equilíbrio, contudo ao compararmos o aglomerado catiônico com os outros dois, percebemos uma mudança significativa em sua estrutura, mudança que não se mostra presente em outros estudos. Nestes outros resultados literários vemos que assim como o aniônico e o neutro, o catiônico possuem estruturas muito similares. A estrutura do Al_9^+ pode ser vista como se tivéssemos acrescentado um

Tabela 1: Resultados B3LYP/6-311G(2d) para a energia total no estado fundamental dos aglomerados de alumínio, incluindo a correção de ponto zero.

n	E_n^+ (u.a)	Mult.	E_n^0 (u.a)	Mult.	E_n^- (u.a)	Mult.
2	-484,606415	2	-484,820722	3	-484,867240	4
3	-727,045812	3	-727,275699	2	-727,334169	1
4	-969,497349	4	-969,726152	3	-969,800821	2
5	-1211,964427	1	-1212,194015	2	-1212,268289	1
6	-1454,431899	2	-1454,667882	1	-1454,750974	2
7	-1696,951356	1	-1697,157734	2	-1697,225023	1
8	-1939,391987	2	-1939,613867	1	-1939,691668	2
9	-2181,857372	1	-2182,075761	2	-2182,168703	1
10	-2424,327658	2	-2424,546341	1	-2424,634725	2
11	-2666,794289	1	-2667,016726	2	-2667,111200	1
12	-2909,275100	2	-2909,496659	1	-2909,579359	2
13	-3151,756157	1	-3151,977411	2	-3152,093842	1
14	-3394,245417	2	-3394,454974	1	-3394,537298	2
15	-3636,706498	1	-3636,906775	2	-3637,000716	1

átomo a mais no Al_8. O mesmo ponto de vista é válido ao analisarmos as estruturas do Al_{10} e Al_9. A estrutura do Al_{10} se mostra quase que inalterável frente a um ganho ou perda de um elétron. As estruturas dos aglomerados Al_{6-9} estão em muito bom acordo com as geometrias de equilíbrio propostas no trabalho de Jones [6]. Os aglomerados de onze átomos são bastante similares uns aos outros, consistindo de um hexágono com um átomo em seu centro sobreposto por um losango. Os Al_{12}^+ e Al_{12} são constituidos de um hexagono sobreposto por um trapézio e um átomo entre eles e sobre o trapézio. O Al_{12}^- consiste em uma leve distorção dessa estrutura. O Al_{13}^- possui a estrutura de um icosaedro regular, enquanto o Al_{13} de um irregular. Em oposição o Al_{13}^+ é formado por um pentagono sobreposto por um hexagono, entre eles há um átomo e sobre o hexagono outro. A estrutura dos aglomerados de quatorze átomos é constituida da adesão de um átomo a mais no Al_{13}^-. E o Al_{15} de dois átomos a mais na estrutura do Al_{13}^-. Os demais de quinze átomos são variantes (distorções) da estrutura do Al_{15}.

Tabela 2: Resultados B3LYP/6-311+G(2df) para a energia total no estado fundamental dos aglomerados de alumínio, incluindo a correção de ponto zero.

n	E_n^+ (u.a)	Mult.	E_n^0 (u.a)	Mult.	E_n^- (u.a)	Mult.
2	-484,607405	2	-484,822270	3	-484,871661	4
3	-727,048483	3	-727,279106	2	-727,341202	1
4	-969,500477	4	-969,730225	3	-969,805851	2
5	-1211,968307	1	-1212,198838	2	-1212,273916	1
6	-1454,436972	2	-1454,672919	1	-1454,756418	2
7	-1696,957122	1	-1697,163671	2	-1697,230931	1
8	-1939,398577	2	-1939,620485	1	-1939,698469	2
9	-2181,864758	1	-2182,083121	2	-2182,176161	1
10	-2424,336130	2	-2424,554734	1	-2424,643212	2

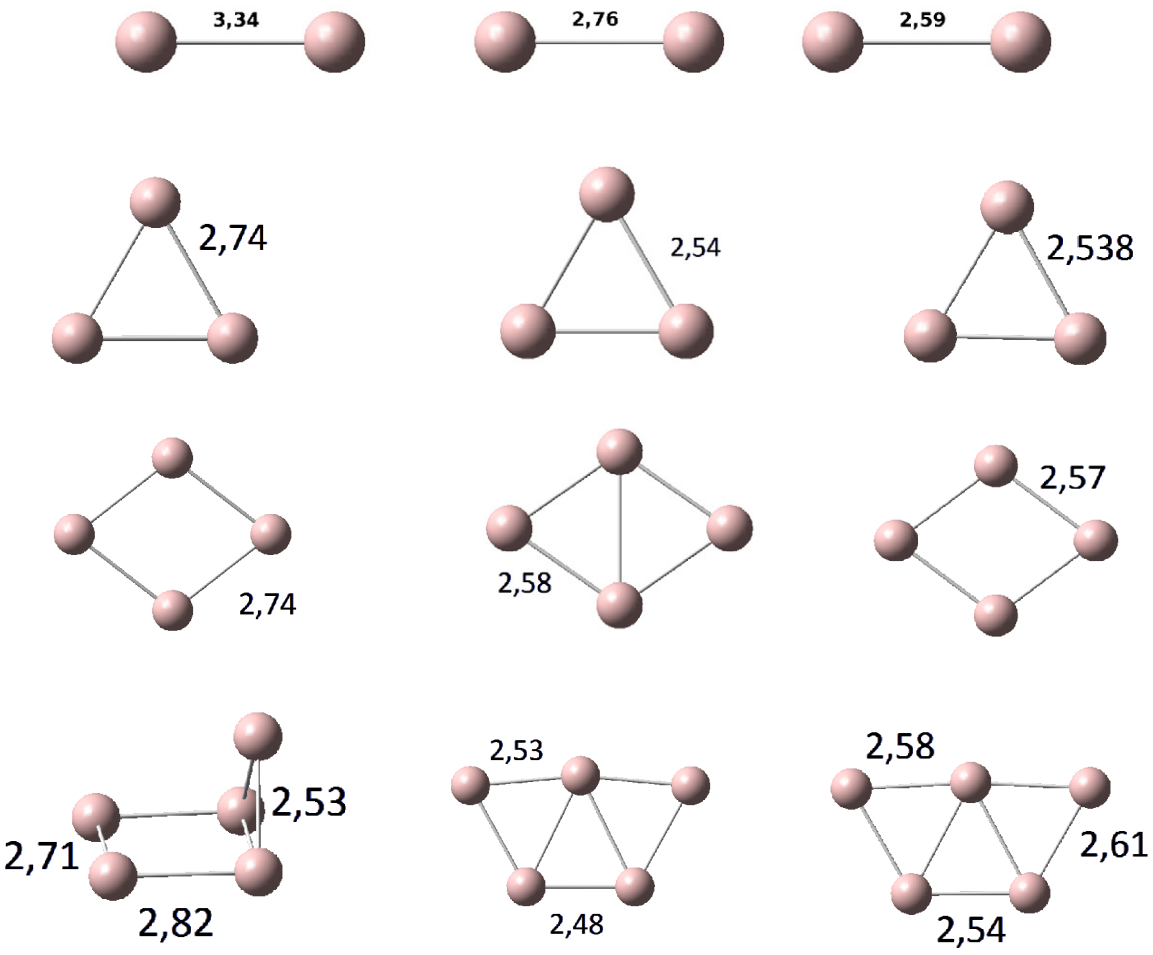


Figura 1: Geometrias otimizadas dos aglomerados neutros e iônicos de dois a cinco átomos de alumínio (comprimentos de ligação em Å).

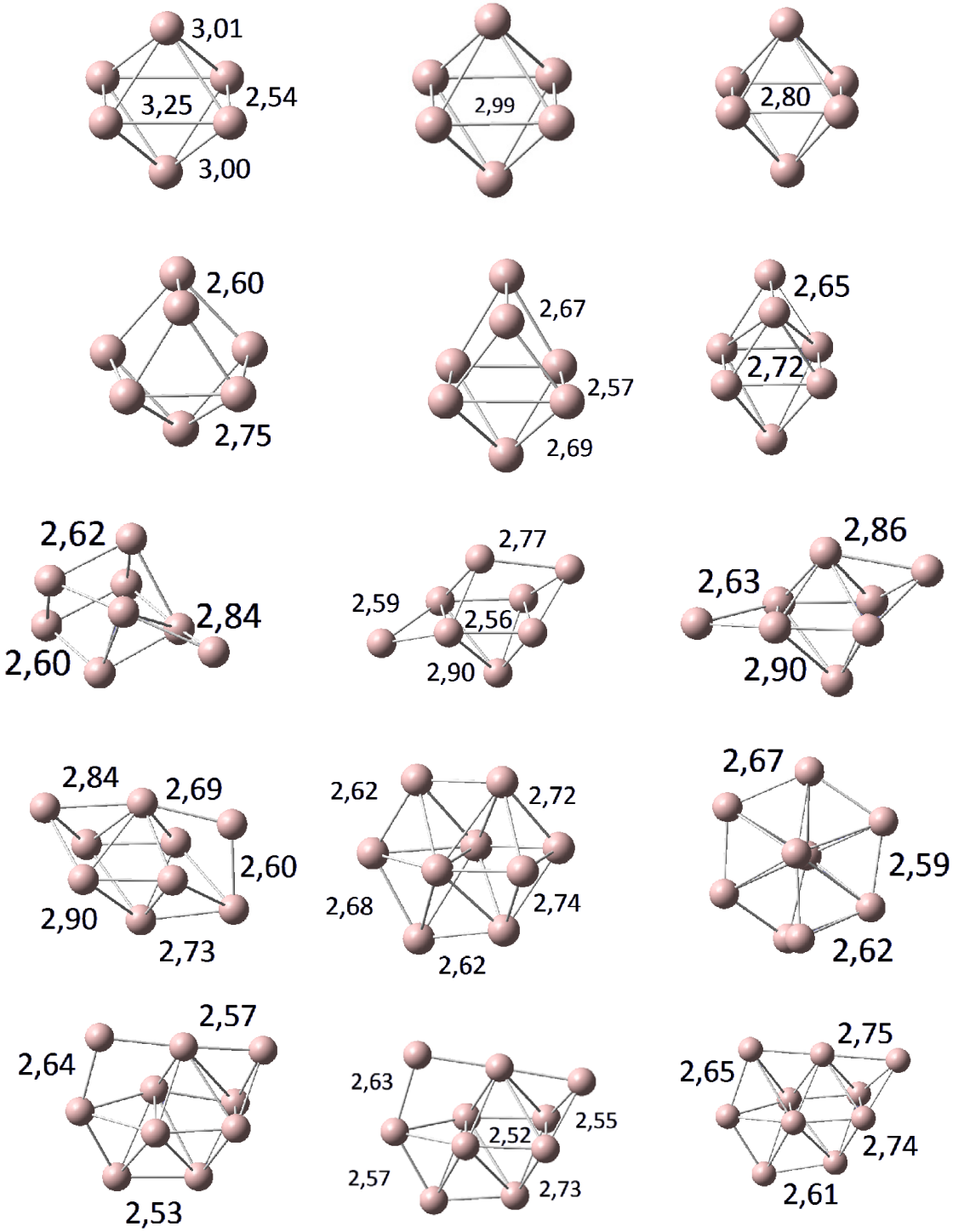


Figura 2: Geometrias otimizadas dos aglomerados neutros e iônicos de seis a dez átomos de alumínio (comprimentos de ligação em Å).

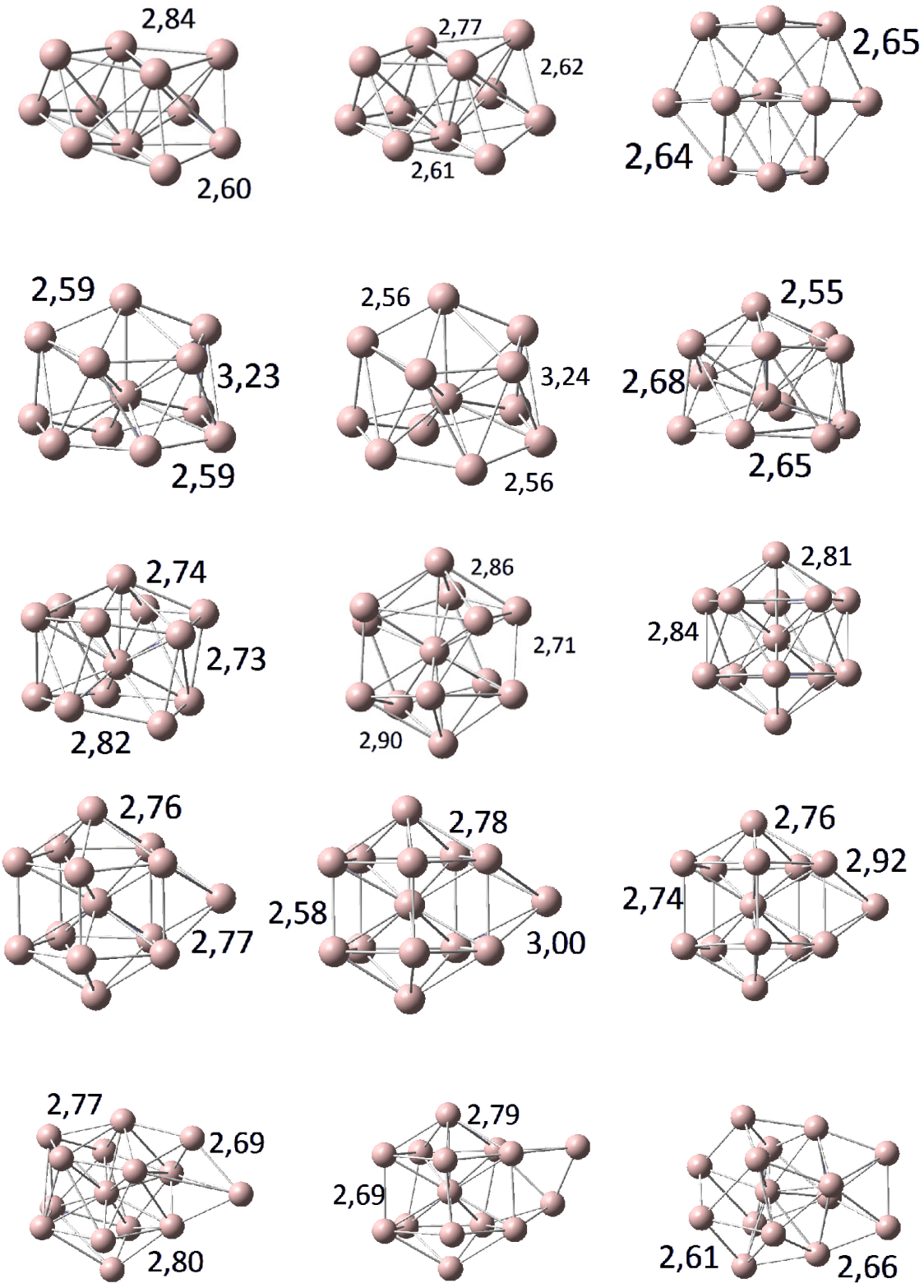


Figura 3: Geometrias otimizadas dos aglomerados neutros e iônicos de onze a quinze átomos de alumínio (comprimentos de ligação em Å).

4.2 Potencial de Ionização e Separação Eletrônica

Nas Tabelas 3 e 4, apresentamos os resultados B3LYP para o potencial de ionização e separação eletrônica adiabáticas e verticais. Os cálculos das transições adiabáticas foram obtidos usando os conjuntos de funções base 6-311G(2d) e 6-311+G(2df). Uma comparação entre resultados 6-311G(2d) e 6-311+G(2df) mostra que a inclusão de funções difusas e/ou de polarização quase não afeta os resultados das propriedades eletrônicas, indicando uma estimativa semi-quantitativa com o conjunto 6-311G(2d). De forma geral, há uma concordância qualitativa entre os resultados adiabáticos com o experimento como mostrado na Figuras 4 e 5. Os resultados experimentais indicam que a transição vertical é mais conveniente para o tratamento destes aglomerados. Nessa última, para o potencial de ionização realizamos o cálculo da energia no estado fundamental dos aglomerados catiônicos com as geometrias dos respectivos aglomerados neutros. O significado físico dessa aproximação é de fácil compreensão e consiste no fato de tratar o aglomerado imediatamente após a eventual perda do elétron, quando sua estrutura não esta relaxada. De maneira similar, a separação eletrônica vertical consiste no cálculo da energia do aglomerado neutro com a geometria do cluster aniônico.

Tabela 3: Resultados B3LYP para o potencial de ionização com diferentes conjuntos de funções base para as transições adiabática e vertical utilizando a base 6-311G(2d).

	Adiabático					
n	6-311+G(2df)	6-311G(2d)	JPCA	Vertical	JPCA	Exp.
2	5,84691	5,83172	5,83	6,13	6,12	6,0 - 6,42
3	6,27571	6,25569	6,26	6,41	6,42	6,42 - 6,5
4	6,2519	6,22619	6,23	6,42	6,42	$>$ 6,5
5	6,27321	6,24755	6,25	6,54	6,50	6,42 - 6,5
6	6,42059	6,42157	6,42	6,68	6,61	6,0 - 6,42
7	5,62061	5,61596	5,62	6,01	6,02	6,0 - 6,42
8	6,03856	6,0378	6,03	6,29	6,32	$\sim$ 6,42
9	5,94209	5,9428	5,94	6,36	6,39	$<$ 6,42
10	5,94865	5,9508	5,95	6,14	6,16	5,9 - 6,42
11	*	6,05296	*	6,14	*	*
12	*	6,02906	*	6,28	*	*
13	*	6,02076	*	6,43	*	*
14	*	5,70246	*	6,05	*	*
15	*	5,44994	*	5,66	*	*

Nossos resultados para o potencial de ionização vertical estão em boa concordância com os valores experimentais [1], como pode ser observado na figura 4 e tabela na 3. A tendência desses estão

Tabela 4: Resultados B3LYP para a separação eletrônica com diferentes conjuntos de funções base para as transições adiabática e vertical utilizando a base 6-311G(2d).

	Adiabático					
n	6-311+G(2df)	6-311G(2d)	JPCA	Vertical	JPCA	Exp.
2	1,34403	1,26585	1,27	1,39	1,39	1,46 ± 0,01
3	1,68976	1,59109	1,59	1,59	1,59	1,89 ± 0,04
4	2,05793	2,03189	2,03	2,03	2,03	2,20 ± 0,05
5	2,04302	2,02114	2,02	2,08	2,08	2,25 ± 0,05
6	2,27217	2,2611	2,26	2,53	2,54	2,63 ± 0,06
7	1,83028	1,83107	2,01	2,10	2,32	2,43 ± 0,06
8	2,1221	2,11712	2,12	2,37	2,38	2,35 ± 0,08
9	2,5318	2,52914	2,53	2,69	2,71	2,85 ± 0,08
10	2,40766	2,40511	2,41	2,64	2,64	2,70 ± 0,07
11	*	2,57083	*	2,70	*	*
12	*	2,25043	*	2,58	*	*
13	*	3,16832	*	3,90	*	*
14	*	2,24020	*	2,41	*	*
15	*	2,55632	*	2,69	*	*

em consistência com os correspondentes valores reportados por Rao et al [8]. Nota-se um máximo para o aglomerado de seis átomos e um mínimo local para o de sete. O potencial de ionização vertical para o Al_7 é 6,01 eV, perdendo apenas para o Al_{15} dentre os aglomerados estudados (5,66 eV). Esse resultado pode ser explicado pela estrutura fechada dos elétrons de valência, tornando

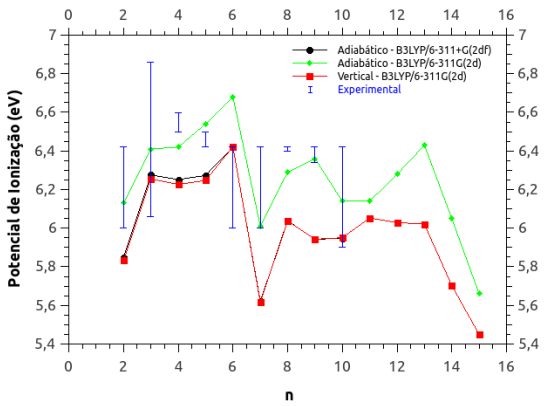


Figura 4: Potencial de ionização dos aglomerados de alumínio.

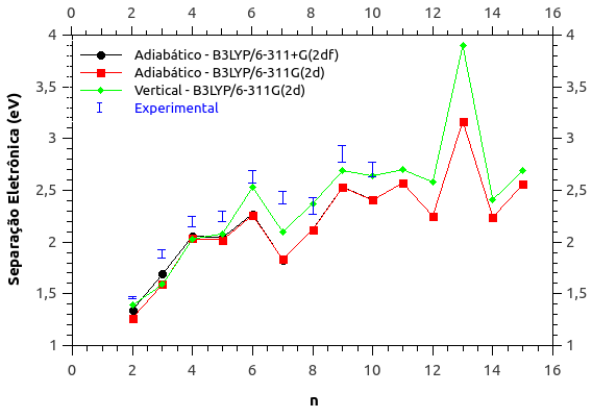


Figura 5: Separação eletrônica dos aglomerados de alumínio.

fácil a perda de um elétron para a formação do Al_7^+.

O valores calculados para a separação eletrônica vertical descrevem bem os resultados experi-

mentais, como podemos observar na Tabela 4 e na figura 5. Como mostrado no gráfico da figura 5, os valores estão ligeiramente abaixo dos valores esperados, entretanto, expressam em bom acordo o comportamento dos valores empíricos.

4.3 Polarizabilidade Linear e Primeiras Hiperpolarizabilidades

Passemos a tratar agora das primeiras hiperpolarizabilidades dos aglomerados de alumínio. As moléculas diatômicas possuem primeira hiperpolarizabilidade nula. Enquanto os aglomerados Al_3^+, Al_3 e Al_3^-, cujas estruturas são triângulos equiláteros, possuem 1,17 (u.a), 6,33 (u.a) e 94,98 (u.a) respectivamente. Os clusters Al_4^+, Al_4 e Al_4^- possuem os respectivos valores 0,00, 0,15 e 4,52 (u.a). O acréscimo de um átomo a mais nos aglomerados de quatro átomos, cujas simetrias são romboidais, causa um súbito aumento nos valores absolutos da primeira hiperpolarizabilidade de cada uma destas estruturas. Os aglomerados Al_5^+, Al_5 e Al_5^- possuem os seguintes valores para essa propriedade 435,21, 544,97 e 1824,89 (u.a). Interessantemente, os aglomerados de seis átomos (octaedros) possuem valores muito baixos (Tabela 5) de primeira hiperpolarizabilidade se comparados com os de cinco átomos. Ao acrescentar um átomo em uma das metades desses octaedros, observamos um considerável aumento nesses valores. E assim como nos aglomerados de cinco átomos, os valores da primeira hiperpolarizabilidade são maiores para as moléculas aniônicas e menores para as catiônicas.

Tabela 5: Resultados B3LYP/6-311G+(2d) para a primeira hiperpolarizabilidade e polarizabilidade linear de cada aglomerado de alumínio.

	Catiônico		Neutro		Aniônico	
n	$\langle\alpha\rangle$	β_{tot}	$\langle\alpha\rangle$	β_{tot}	$\langle\alpha\rangle$	β_{tot}
2	84,95	0,00	123,71	0,00	200,07	0,00
3	120,02	0,17	172,86	6,33	256,21	94,98
4	180,68	0,00	214,62	0,15	308,60	4,52
5	215,83	435,21	266,31	544,97	369,42	1824,89
6	248,19	0,89	285,01	0,38	353,12	0,82
7	270,37	41,71	316,06	305.05	407,57	367,47
8	331,34	173,51	368,37	150,83	456,87	1380,76
9	357,83	194,47	399,69	286,15	481,66	314,90
10	401,28	287,44	446,31	424,29	526,05	1753,96
11	431,76	69,54	478,14	21,17	559,08	641,36
12	461,64	108,74	508,20	32,75	579,55	136,78
13	481,01	413,89	524,07	201,94	584,40	16,48
14	509,04	204,04	568,25	223,47	643,88	249,94
15	575,17	48,48	625,13	831,64	698,01	1916,52

Esse padrão pode ser abservado para os aglomerados de nove, dez e quinze átomos. Uma vez que os clusters de sete, nove e dez átomos não apresentam grandes alterações estruturais frente ao ganho ou perda de um elétron, esta propriedade é atribuída à carga do sistema molecular. Tratando dos clusters de oito átomos, exceto o aglomerado neutro, os demais possuem primeiras hiperpolarizabilidades maiores que os dos respectivos clusters de sete átomos carregados. Para os aglomerados de onze e doze átomos, os aniônicos seguem tendo os maiores valores, porém os neutros possuem os menores. O aglomerado Al_{13}^{-}, apesar de sua carga, possui um valor expressivamente menor que os demais de treze átomos. O Al_{13}^{-} possui a estrutura de um icosaedro regular, enquanto o neutro possui uma leve distorção estrutural em relação ao aniônico. A estrutura do catiônico é acentuadamente distinta desses. Os aglomerados de quatorze átomos possuem uma estrutura muito semelhante a do Al_{13}^{-}, acrescentada de um átomo. As moléculas Al_{14}^{+}, Al_{14} e Al_{14}^{-} possuem valores de primeira hiperpolarizabilidade ligeiramente maiores que o do Al_{13}^{-}. Neste estudo das primeiras hiperpolarizabilidades, podemos concluir que tanto a estrutura quanto a carga são fatores altamente relevantes.

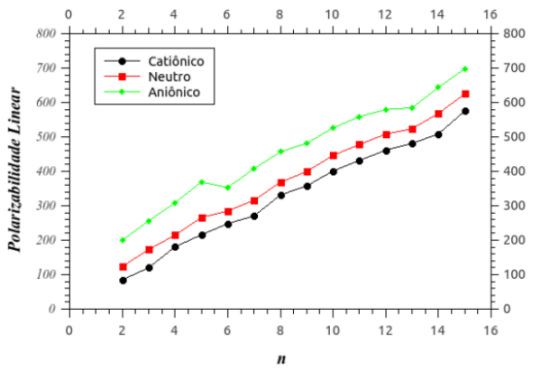


Figura 6: Valor médio para a polarizabilidade linear dos aglomerados de alumínio.

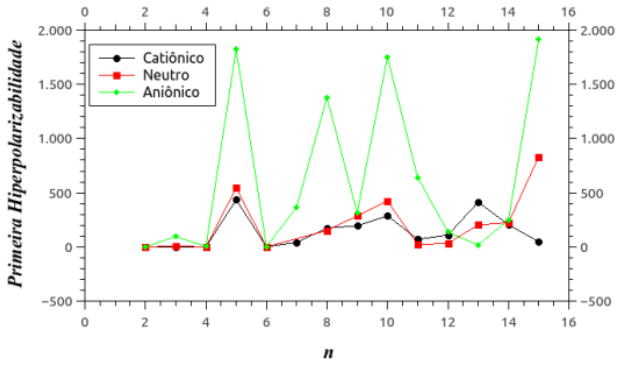


Figura 7: Primeira hiperpolarizabilidade dos aglomerados de alumínio.

Uma outra propriedade eletrônica que estudamos é a polarizabilidade linear, que diferentemente das outras duas tratadas nesta seção possui um carater aditivo, ou seja, apresentam valores crescentes (linearmente) com o aumento do cluster. Os valores da polarizabilidade linear aumentam quando há uma perda de um elétron.

5 Conclusões

Neste trabalho estudamos as propriedades estruturais e eletrônicas de aglomerados de alumínio usando o método B3LYP com os conjuntos de funções base 6-311G(2d), 6-311+G(2df) e 6-311G+(2d). Os resultados obtidos mostram que uma descrição quantitativa do potencial de ionização e separação eletrônica desses sistemas metálicos pode ser obtida com o conjunto de funções base 6-311G(2d).

Tais propriedades eletrônicas apresentam uma concordância quantitativa com o experimento em função do crescimento do número de átomos do aglomerado.

Podemos concluir que a primeira hiperpolarizabilidade depende tanto da geometria quanto da cargas dos aglomerados. Enquanto a polarizabilidade linear é uma propriedade de caráter aditivo, também dependendo da carga desses aglomerados. Podemos dizer, no entanto, que este trabalho reproduz bem os resultados [1], sendo um dos objetivos deste estudo, que é essencial para investigação de novas propriedades eletrônicas.

Referências

[1] J. Sun, W. C. Lu, H. Wang, Z. S. Li, C. C. Sun, J. Phys. Chem. A**110**, 2729 (2006).

[2] C. Bosshard, K. Sutter, P. Prêtre, J. Hulliger, M. Flörsheimer, P. Kaatz, P. Günter, *Organic Nonlinear Optical Materials*; Gordon and Breach Science: Basel, Switzerland, 1995.

[3] B. Champagne, E. Botek, M. Nakano, T. Nitta, K. Yamaguchi, J. Chem. Phys.**122**,114315 (2005).

[4] T.L. Fonseca, H.C.B. de Oliveira, O.A.V. Amaral, M.A. Castro, Chem. Phys. Lett.**413**,356 (2005).

[5] M. Wergifosse, B. Champagne, J. Chem. Phys. **134**, 074113 (2011).

[6] Jones, R. O. Phys. ReV. Lett. **1991**, *67*, 224.

[7] M. J. Frisch, et al., *Gaussian 03*, Revision D.01; Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.

[8] Rao, B. K.; Jena, P. J. Chem. Phys. **1999**, *111*(5), 1890.

Extração e caracterização do amido extraído de rizomas frescos de açafrão (*Curcuma longa* L.)

LÚCIO, P.P.P.[1]; MOURA, C.J. [2*]

Universidade Federal de Goias – Campus Samambaia.
[1] pedropaulo.pl@hotmail.com; [2] celsojose@gmail.com; * Professor orientador

Resumo: O açafrão é constituído por amido, oleoresina e curcumina. Sendo amido em maior proporção no rizoma (até 50%), mas de menor valor no mercado, no entanto sua extração não influi na extração dos outros componentes, e como se trata de amido nativo e o mercado esta cada vez mais interessado neste, vem-se desenvolvendo estudos sobre as propriedades desses amidos. E este é mateira prima para industrias alimentícias ate as têxteis. Assim, esse trabalho objetivou estudar algumas características do amido de cúrcuma. Este amido é rico em amilose, chegando a ter 35%, isto influi em suas propriedades reológicas, como trata de grânulos com superfícies lisas, não tem efeito na reatividade do amido quando modificado quimicamente, bem como nas propriedades funcionais e físico-químicas, sendo esta uma boa caraterística. E como neste amido tem-se o corante natural curcumina, isso faz com que tenha agregação de valor a matéria-prima, e seja mais uma fonte de renda ao industrial. Podendo aplicar o amido em massas prontas para bolo (cenoura/baunilha/laranja), em mostardas, na linha de padarias poderá substituir parte da farinha dos panificados, etc., mas pra isso é necessário que sejam realizadas mais estudos, sobre a estabilidade dos produtos.

Palavras chaves: amido, amilose, cúrcuma, açafrão

1. INTRODUÇÃO

O açafrão (*Curcuma longa L.*), também conhecido como cúrcuma, gengibre dourado ou açafrão da Índia, originária do sudeste asiático, é uma planta herbácea da família Zingiberaceae que possui a curcumina, oleoresina, amido, etc. É considerada uma planta de pequeno porte, largamente cultivada em países tropicais. Tem sido utilizada popularmente como condimento e na indústria alimentícia, como corante e conservante. Além disso, várias pesquisas indicam que a mesma seja empregada como medicamento para tratamentos de doenças, etc., (VILELA, ARTUR, 2008; TAKAHASHI, YABIKU, 1992).

O amido da cúrcuma, apesar de ser o componente de maior proporção no rizoma, ainda não tem expressivas utilizações na indústria, visto que, consideram sua extração como uma atividade secundária, já que a curcumina e o óleo essencial, possui maior valor de mercado. No entanto, o teor de amido, chega-se até 40% no rizoma e não interfere na

extração da curcumina e da oleoresina, vem-se tornando promissora a sua extração (LEONEL, CEREDA, 2002).

O amido é o um polissacarídeo, de diversas variedades de vegetais (raízes, tubérculos, cereais, etc.), utilizados por estes, como fonte de reserva. E armazenado em forma de grânulos tendo sua organização de acordo com sua espécie vegetal. No caso da cúrcuma, segundo Leonel (2007), o amido mostrou-se de forma triangular achatada, tendo seu tamanho variando de 10 a 48 μm. É a fonte mais importante de carboidratos na alimentação humana, representando 80-90% de todos os polissacarídeos da dieta, e o principal responsável pelas propriedades tecnológicas que caracterizam grande parte dos produtos processados (LIPORACCI, J.S.N., *et al.* 2005; LEONEL, M. 2007; WALTER. M., *et al.* 2005).

Estruturalmente, é um homopolissacarídeo composto por cadeias de amilose e amilopectina. A amilose é formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas α(1→4), originando uma cadeia linear. Já a amilopectina é formada por unidades de glicose unidas em α(1→4) e α(1→6), formando uma estrutura ramificada. As proporções em que estas estruturas aparecem diferem entre as diversas fontes, entre variedades de uma mesma espécie e ainda, numa mesma variedade, de acordo com o grau de maturação da planta, resultando em variações dos grânulos de amido com propriedades físico-químicas e funcionais diferenciadas, o que pode afetar sua utilização em alimentos ou aplicações industriais (WALTER. M., *et al.* 2005).

As indústrias alimentícias são as maiores consumidoras de amido, entretanto, este polímero é usado também em um grande número de processos industriais destacando-se seu uso pelas indústrias química e têxtil. Atualmente, devido às restrições a amidos modificados impostas principalmente pelas indústrias alimentícias, as empresas produtoras de amido no mundo vêm mostrando um interesse cada vez maior em amidos naturais com características que atendam o mercado consumidor. Frente a este fato as pesquisas em torno de novas matérias-primas amiláceas têm se intensificado nos últimos anos. Neste ponto, os países em regiões tropicais, como o Brasil, apresentam grande vantagem em relação aos principais produtores de amido no mundo, que estão localizados em regiões temperadas, devido à variedade de culturas tropicais amiláceas.

Com isso, este trabalho objetivou a extração do amido, presente no açafrão (*Curcuma longa L.*), e sua caracterização para que tenha-se conhecimento das características amiláceas deste..

2. METODOLOGIA

Para a extração e caracterização do amido, foram utilizados rizomas frescos de cúrcuma (*Curcuma longa* L.), provenientes de Mara Rosa-Goiás – GO, mantidos sob refrigeração a 5 ºC até seu processamento. Primeiramente, procedeu uma limpeza e seguiu para a extração do amido, onde utilizou água como o meio extrator, metodologia desenvolvida no trabalho de iniciação científica (PIBIC 2011 – 2012), denominado "Caracterização de amido, oleoresina e curcuminóides extraídos a partir dos rizomas frescos de cúrcuma (*Curcuma longa* L.)".

Caracterização físico-química do amido da cúrcuma: o conteúdo de umidade foi determinado de acordo com o método 44-15A, da AACC (1995), utilizando estufa a 130 °C por uma hora. O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl nº 46-13, da AACC (1995), sendo o teor de proteína bruta obtido pela multiplicação pelo fator 5,95. O teor de cinza foi analisado pelo método nº 08-01, da AACC (1995), usando mufla a 600 °C até peso constante. O teor de lipídios foi determinado de acordo com o método nº 30-20, da AACC (1995), utilizando extrator Soxhlet.

Realizou-se a determinação do teor de curcuminóides no amido, através da leitura da absorbância em espectrofotômetro a 425 nm utilizando etanol como branco, utilizando uma curva padrão com curcuminóides Fluka (98% de pureza) para comparação dos resultados.

Para a determinação de cor, utilizou-se calorímetro, ColorQuest II / Hunter Lab. Considerando os parâmetros L, a e b, sendo que as leituras foram realizadas no sistema universal de cor CIELab.

A a microscopia do amido, foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (JEOL – JSM 6610, Japão), utilizando-se um acelerador de voltagem de 2,5kV. A análise de MEV será realizada no laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic) do Instituto de Física da Universidade Federal de Goiás (Goiânia/GO). As amostras foram diluídas em álcool etílico (1/100) e colocadas 2 gotas em suportes de alumínio ou "*stubs*". Após este procedimento as amostras serão recobertas com uma fina camada de ouro em câmara metalizadora (SCO –040 Marca Balzers) e analisadas quanto a forma dos grânulos.

O teor de amilose, foi determinado por método colorimétrico, conforme descrito por Martinez e Cuevas (1989), com adaptações. Uma amostra de 100 mg foi transferida para balão volumétrico de 100 mL, sendo acrescida de 1 mL de álcool etílico 96% GL e 9 mL de solução de NaOH 1 N e colocada em banho-maria a 100°C por 10 minutos, sendo resfriada durante 30 minutos e o volume completado com água destilada. De cada amostra, foi retirada uma alíquota de 5 mL e transferida para balão volumétrico de 100 mL, em que foi adicionado 1 mL de ácido acético 1 N e 2 mL de solução de iodo 2% (p/v) preparada três horas antes da

análise, sendo, então, completado o volume de cada balão volumétrico com água destilada. Para a construção da curva padrão, foi utilizado 40 mg de amilose pura (Sigma) submetida ao mesmo procedimento utilizado nas amostras de farinha e amido de arroz. Foram retiradas alíquotas de 1, 2, 3, 4, e 5 mL do balão volumétrico e foram acrescidos de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1 mL de ácido acético e de 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 e 2 mL de iodo, respectivamente, completando-se o volume a 100 mL com água destilada. A leitura de absorbância foi realizada 30 minutos após adição da solução de iodo a 610 nm.

As medidas reológicas serão baseadas na metodologia proposta por GUERREIRO e MENEGUELLI (2009), onde serão realizados testes em um reômetro de tensão controlada, marca Carri Med, modelo 500 CSL^2. A temperatura de medida será mantida na placa inferior pelo sistema Peltier. A geometria utilizada será cone-placa, com 60 mm de diâmetro e ângulo de 2º. Todas as análises serão feitas em triplicata. As curvas de escoamento serão determinadas por três rampas contínuas com taxa de deformação de 0 a 300 s^{-1} com ciclo ascendente, descendente e ascendente, para avaliar e eliminar a tixotropia. Os espectros mecânicos das diversas amostras serão determinados por varredura da frequência entre 0,01 e 10 Hz, à tensão constante e temperatura de 30 °C, dentro do intervalo linear.

3. RESULTADOS

Segundo Pereira e Stringheta (1998), a composição centesimal da cúrcuma, varia de acordo com o cultivar, local de plantio, práticas agrícolas, uso de fertilizantes e maturidade dos rizomas. Assim, após a extração do amido, procedeu-se a caracterização bromatologica do mesmo, descrito na Tabela 1, a seguir.

Os resultados encontrados da composição centesimal, estão de acordo com o encontrados por Alves et al (2012), no trabalho intitulado de “Avaliação do Efeito da Radiação Gama em Rizomas de Açafrão (Curcuma longa L) Secos e Frescos”, diferindo apenas entre a umidade (11%) e o teor de lipídeos (5%).

Tabela 1. Composição centesimal do amido extraído da cúrcuma

Componentes	Teores %
Umidade	79,31 ± 0,44
Cinzas	1,98 ± 0,02
Lipídeos	1,30 ± 0,07
Proteínas	1,98 ± 0,02
Carboidratos	15,43 ± 0,47

A determinou-se do teor de curcumina (Tabela 2), para averiguar a quantidade de curcumina presente no amido, após ser extraído de forma mecânica, esta determinação è importante, pois è uma das requisito para designar o valor final do amido, para o mercado a qual esta será designado. Umas vez que, quanto maior o teor de curcumina, maior será o valor agregado por este.

Tabela 2. Determinação do teor de Curcumina em amido de cúrcuma e desvio padrão.

	Teor de Curcumina	
Amostras	%	Des. Pad.
1 CC*	1,96 a	0,04
2 CC*	2,28 a	0,02
1 EC**	0,19 b	0,01
2 EC**	0,34 b	0,00

CC* = amido com teor de curcumina integral; EC** = amido com teor de curcumina parcial
Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ($p < 0,05$)

A Tabela 2, demonstra o resultado já esperado, que o teor de curcumina seria estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), já que procedeu-se a extração parcial de curcumina (utilizando álcool 96%), nas amostras 1EC** e 2 EC**. Sendo que o teor médio total de curcumina, entre as amostras 1CC* e 2CC*, apresentou valor de 2.12%.

Segundo HARDER, CANNIATTI-BRAZACA, ARTHUR (2007), a cor é o primeiro critério utilizado na aceitação ou rejeição, por isso, na indústria de alimentos a cor é um atributo importante. A adição de corantes nos alimentos é muitas vezes uma exigência do consumidor. Se a cor for atraente, dificilmente o alimento não será ingerido ou, pelo menos, provado.

Ao analisar-se a cor, tinha-se a hipótese de que, quanto maior o teor de curcumina, maior seria a intensidade da cor, esta foi descartada, já que nas amostras com maior teor de curcumina (1CC* e 2CC*), apresentaram valores dos parâmetros L (luminosidade do branco ao preto) e B (amarelo ao azul) menores do às amostras com baixo teor de curcumina em sua composição. A explicação provável para tal fato se deve pela alta concentração de curcumina causou um escurecimento e principio de turvamente da cor amarela, já que tanto o L quato o B foram menores para 1EC** e 2CC*, e com a extração parcial da curcumina, houve o clareamente já que o L aumentou, tornando-o mais branco (vai do preto=0 ate o branco=100), expondo a coloração amarela, aumentando o B.

Tabela 3. Determinação da cor dos amidos de provenientes da cúrcuma

Amostra	Cor Parâmetros		
	L	A	B
1 CC*	58,89a	9,88a	28,62a
2 CC*	60,48a	12,65a	31,29ab
1 EC**	66,10b	5,12b	34,61b
2 EC**	68,98b	6,49b	40,28c

CC* = amido com teor de curmina integral; EC** = amido com teor de curcumina parcial
Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ($p < 0,05$)

Ainda pela Tabela 3, denota-se que amostras 1CC* e 2CC* possuem cores diferentes estatisticamente ($p < 0,05$), das 1EC** e 2CC*, no parâmetro L, já ao analizar-se o parâmetro B (parâmetro mais importante), tem-se que a amostra 2CC* é estatisticamente igual a amostra 1 EC**. E a amostra 2 EC**, que apresento maior valor de B, não é igual estatisticamente a nenhuma das outras amostras.

O teor de amilose, encontrado no amido de cúrcuma e no padrão (amido de milho), esta descrito na Tabela 4, a seguir.

Tabela 4. Teor de amilose nos amidos de cúrcuma e do milho.

Amostras	Amilose (%)	Des. Pad.
1 CC*	34,52 a	1,08
2 CC*	28,52 b	2,76
1 EC**	32,44 ac	1,80
2 EC**	29,4 bc	1,36
Padrão (Milho)	20,82 d	1,36

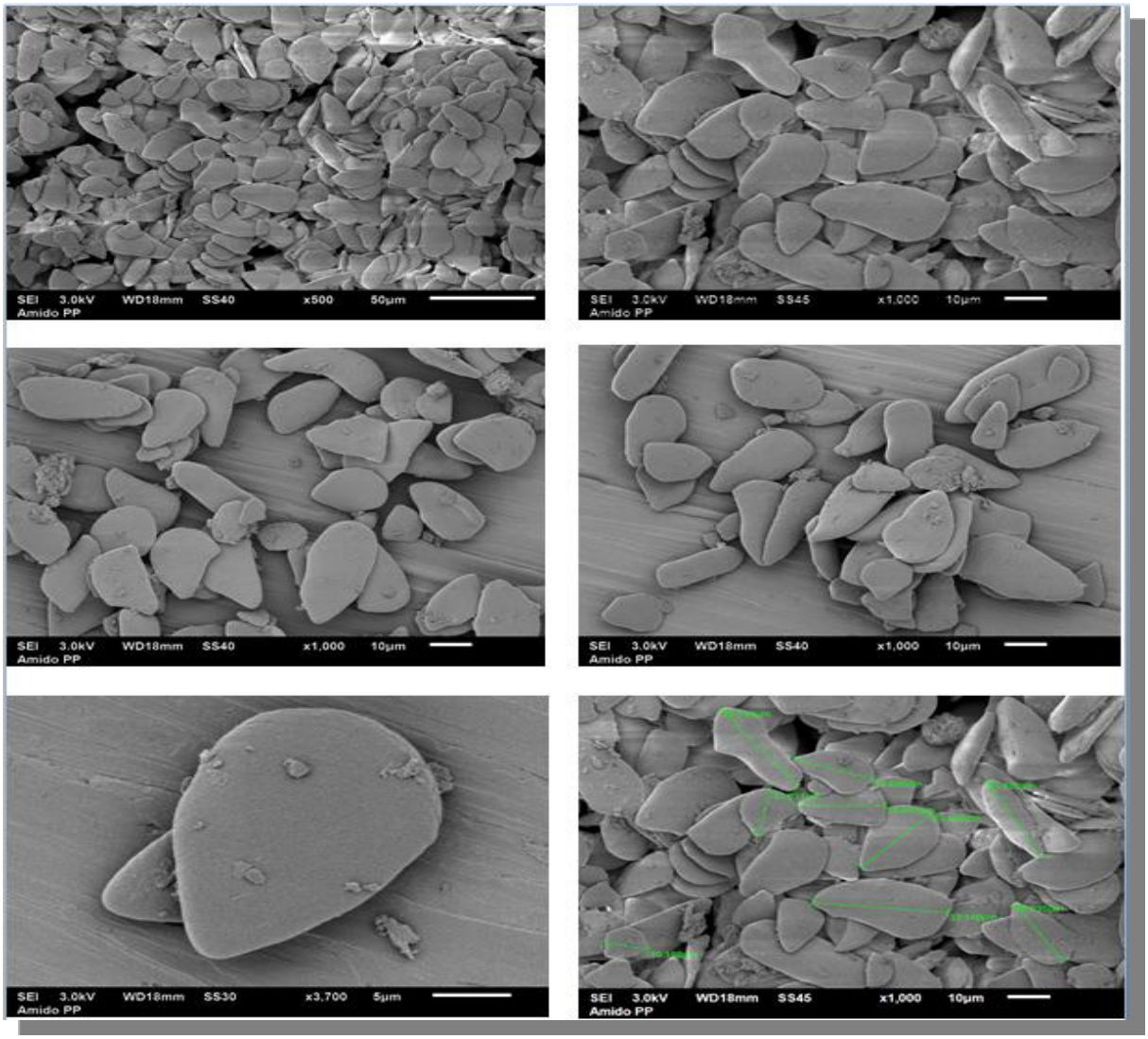
CC* = amido com teor de curmina integral; EC** = amido com teor de curcumina parcial
Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Com o resultado obtido, pode-se notar que o teor de amilose presente no amido de milho e amido de cúrcuma são estatisticamente diferentes ($p<0,05$). Tendo o amido de cúrcuma, um teor de amilose maior em relação ao de milho, que consequentemente apresentará características reológicas distintas.

Com relação ao amido de milho, percebe-se que este teor esta de acordo com o da literatura, Já que segundo Lineback (1984), o amido de milho contém entre 25-28% de amilose, enquanto o de mandioca possui apenas 17%. Algumas variedades de milho, cevada e arroz, referidas pelo termo ceroso ("waxy") são constituídas totalmente por amilopectina,

enquanto outros amidos possuem teores de amilose acima de 50% e são denominados de -*high-amilose*.

Figura1 – Microfotografia em Microscopia Eletrônica de Varredura dos grânulos de fécula cúrcuma



Na Figura 1, pode observa-se que o amido da cúrcuma tem formas irregulares, geralmente “circular e em uma parte tem uma ponta”, ainda pode dizer que estes possuem diferentes diâmetros, pequenos, médios e grandes.

Os diâmetros médios dos grânulos de fécula de cúrcuma variaram de 7 a 32µm, tendo diâmetros médio da molécula de 21.6 µm. Este pode ser comparado com os de outras fontes botânicas, como o da mandioca que segundo Freitas & Leonel (2008), variam de 3 a 32µm. Já Fennema (2000) analisou algumas espécies a mais, como o granulo do amido de milho que em média tem 15 µm, da batata branca tem 33 µm, da batata doce esta entre 25 e 50 µm, etc.

Assim, tem-se que as características morfológicas dos amidos mudam de acordo com a espécie, mas possuem diâmetros semelhantes.

Percebe-se na figura 1, que as superfícies dos grânulos são lisas, não apresentando irregularidades ou porosidade superficiais, essa característica é de suma importância, pois a presença de canais e/ou porosidades presente no amido, pode ter efeito na reatividade do amido quando modificado quimicamente, bem como nas propriedades funcionais e físico-químicas (Bello-Perez et al., 2006).

4. Conclusão

Os resultados obtidos demonstram a possibilidade de aplicação do amido em vários tipos de alimentos, como em massas prontas para bolo de cenoura/baunilha/laranja, em mostardas, na linha de padarias poderá substituir parte da farinha dos panificados, mas pra isso é necessário que sejam realizadas mais estudos, com relação a estabilidade do amido neste produtos, e a readequação da quantidade de cada ingrediente, afim de manter-se qualidade final do produto.

REFERÊNCIAS BIB LIOGRÁFICAS

AACC – American Association Cereal Chemists. **Approved methods**. 8 ed. Saint Paul, 1995.

ALVES, T.A. *et al.* **Avaliação do Efeito da Radiação Gama em Rizomas de Açafrão (Curcuma longa L) Secos e Frescos**. 2012. Disponível em: http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/conpeex/pivic/trabalhos/THAIS%20ATAIDE%20ALVES.pdf. Acessado em: 05/08/2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13624**: cúrcuma: determinação do teor de curcumina: método de ensaio. Rio de Janeiro, 1996.

GUERREIRO, L.M.R.; MENEGUELLI, F.C. Influência do tratamento térmico e da acidez no comportamento reológico de amidos nativos funcionais de milho cerosos orgânicos comerciais. **Ciênc. e Tecnol. de Aliment**., Campinas, 29(2) Apr./June 2009.

HARDER, M.N.C., CANNIATTI-BRAZACA, S.G., ARTHUR, V. Avaliação quantitativa por colorímetro digital da cor do ovo de galinhas **poedeiras alimentadas com urucum (*Bixa orellana*)**. **REVISTA PORTUGUESA DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS.** 102 (563-564) 339-342. 2007

LEONEL, M. Análise da forma e tamanho de grânulos de amidos de diferentes fontes botânicas. **Ciênc. e Tecnol. de Aliment**, Campinas, 27(3): 579-588, jul.-set. 2007.

LEONEL, M; CEREDA, M, P; Caracterização físico-química de tuberosas amiláceas; **Ciênc. e Tecnol. de Aliment**, Campinas, 22(1): 65-69, jan.-abr. 2002.

LINEBACK, D. R. The starch granule: organization and properties. **Bakers Digest,** v. 58, n. 2, p. 16-21, 1984.

LIPORACCI, J.S.N.; MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E. Efeito do método de extração na composição química e nas propriedades funcionais do amido de inhame (*Dioscorea alata*). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 3, p. 345-352, jul./set. 2005.

MARTINEZ, C. Y.; CUEVAS, F. **Evaluación de la calidad culinaria y molinera del arroz**. Guia del estudio. Cali: CIAT. 1989. 75 p.

VILELA, C.A.; ARTHUR, P.O. Secagem do açafrão (Curcuma longa L.) em diferentes cortes geométricos. **Ciênc. e Tecnol. de Aliment**. Campinas, 2008, 28(2): 387-394.

TAKAHASHI, M.; H. YABIKU. Corantes naturais: usos, restrições e perspectivas. **Revista Brasileira de corantes naturais**. Viçosa, MG. 1 (1):246-247, 1992.

WALTER, M.; SILVA, L.P.; EMANUELLI, T. Amido resistente: características físico químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação**. Ciência Rural**. Santa Maria, RS. v.35, n.4, p.974-980, 2005.

DISCURSO CRÍTICO CINEMATOGRÁFICO: DA CRÍTICA IMPRESSIONISTA À INSTITUCIONALIZAÇÃO DO CINEMA

Grenissa Bonvino Stafuzza (Orientadora – UFG-CAC)
grenissa@gmail.com
Lucas Garcia da Silva (Orientando-PIBIC – UFG-CAC)
lucasgarcia27@gmail.com
Poliana Silveira Fraga (Orientanda-PIBIC – UFG-CAC)
poliana_silveira15@hotmail.com

Resumo: Ao refletir sobre as críticas cinematográficas que circulam nas mídias, em geral, na *web* em diversos veículos eletrônicos, e em jornais e revistas impressas, podemos observar tanto a divulgação de críticas cinematográficas informais, denominadas por nós também de críticas impressionistas, produzidas por não-especialistas em cinema em uma veiculação *mass media*, bem como críticas institucionais, produzidas por especialistas em cinema, em especial, por professores universitários, em uma veiculação voltada para um público específico de leitores, geralmente, acadêmicos. Nesse sentido, temos como intuito traçar um percurso de trabalho que ofereça uma fundamentação teórica para pensarmos a construção, gerência e circulação do discurso crítico cinematográfico na sociedade considerando para o trabalho críticas informais e institucionais observando, sobretudo, quais elementos em tais críticas as diferem.

Palavras-chave: discurso; crítica; cinema; estética; universidade; mídia.

Introdução

A pesquisa de discursos críticos cinematográficos *Discurso crítico cinematográfico: da crítica impressionista à institucionalização do cinema*[1] trata-se de uma pesquisa analítica, descritiva e interpretativa das críticas informais, produzidas por não-especialistas em cinema, bem como das críticas institucionais, produzidas por especialistas em cinema (professores

[1] Revisado pela orientadora. A pesquisa *Discurso crítico cinematográfico: da crítica impressionista à institucionalização do cinema* teve seu início em agosto de 2012 e contou com a participação do bolsista PIBIC/UFG, graduando do Curso de Letras Português e Inglês do Campus Catalão-UFG, Lucas Garcia da Silva, até março de 2013. A graduanda, também do Curso de Letras Português e Inglês do Campus Catalão-UFG, Poliana Silveira Fraga, assumiu o projeto substituindo, assim, o referido aluno.

universitários), sendo tais críticas veiculadas na web, jornais e revistas. De acordo com Stafuzza (2011) na comunicação "Discurso crítico: princípios e práticas institucionais" da mesa-redonda "Discurso e instituição: práticas acadêmicas de produção do saber" realizada no IX Congresso Latino-americano de Estudos do Discurso realizado pela Associação Latino-americana de Estudos do Discurso (ALED) na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) no período de 1 a 4 de novembro de 2011, "todo discurso crítico institucionalizado pela universidade baseia-se em quatro princípios norteadores que não são observados no discurso crítico da praça pública". Nesse sentido, a pesquisadora formaliza os quatro princípios que estudamos na pesquisa para pensarmos o discurso crítico cinematográfico. São eles:

> i) A legitimação de um objeto (uma obra, um filme, uma pintura etc.) e seu autor revela a posição do crítico em validar ou desqualificar o objeto criticado (...); ii) a posição teórica do crítico diz respeito às filiações e orientações teóricas adotadas ao se estabelecer uma crítica (...); iii) o posicionamento do crítico relaciona-se à autoridade que ele exerce para falar de tal objeto: o posicionamento diz respeito à formação, o lugar e o status do crítico; iv) a validação da argumentação crítica com o emprego de exemplos, comparações, análises, descrições, comentários etc. na construção da crítica tanto para a legitimação como para a recusa do objeto criticado. (STAFUZZA, 2011, in: Resumos e Programações, ALED: UFMG, 2011, p. 110).

Tal proposição faz-se importante ao estudo proposto, uma vez que apoia a possibilidade de analisar o discurso cinematográfico considerando as diferentes posições de crítica. A partir destes quatro princípios podemos observar a construção do discurso crítico institucional sobre cinema e como a institucionalização do cinema se distancia das críticas impressionistas, informais, produzidas por não-especialistas do assunto, por vezes, apenas espectadores.

Entendemos que quando o sujeito é ou se considera um cinéfilo, isso não é o suficiente para que ele produza críticas institucionalizadas. Através da formação e do estudo continuado é que o crítico torna-se um crítico de cinema; assim como outros críticos, como o literário, o filosófico, o político, para citar alguns. Assim, por meio da Análise do Discurso francesa, podemos considerar as concepções de sujeito e discurso – baseamos nosso estudo em Foucault (2002[a]; 2002[b]) e Pêcheux (1997; 1995) – para teorizarmos sobre a questão do sujeito que tenta (ou deseja) legitimar um filme por meio da crítica (tanto institucional como impressionista).

Outro referencial complementar faz-se importante para evidenciar o funcionamento do discurso crítico cinematográfico, tal sejam as considerações a respeito de "posicionamento"

preconizadas por Maingueneau (2006). Tratamos, em suma, do status produzido pelo "ser professor" que se vincula a apropriação de determinadas vozes percebidas no "dito" da crítica cinematográfica universitária que não são percebidas na crítica impressionista: o professor autor professa em suas críticas acadêmicas cinematográficas determinadas "vontades de verdade" (FOUCAULT, 2002) sobre o cinema que almeja alcançar ou tornar "real" para seu público leitor/espectador. Logo, o professor autor apoia-se em determinadas referências de correntes de crítica cinematográfica tomadas, às vezes, como determinantes da interpretação fílmica e não como uma interpretação para o filme em análise.

É nessa contradição em se perceber essas vozes institucionais da "vontade de verdade" sobre o cinema, que o professor autor amplia as especialidades do caráter pedagógico de sua ação crítica ao interpretar o cinema: a crítica cinematográfica universitária – em uma rápida análise – é um gênero especializado, que ganha sofisticação ao delimitar seu acesso ao público leitor a partir de grupos institucionais bem restritos (alunos e professores universitários, em geral), distanciando-se, assim, das críticas informais, que se baseiam na impressão de leitor sobre determinado filme, sem uma discussão sobre estética no cinema, por exemplo.

Metodologia

O presente estudo é de natureza qualitativa com caráter descritivo, interpretativo e analítico do discurso crítico cinematográfico (crítica institucional, de caráter especializado, e crítica impressionista, de caráter informal). O *corpus* coletado constitui-se de críticas publicadas em revistas especializadas em cinema, em forma de artigos e/ou resenhas, bem como na *web*, também em formato de artigos e/ou resenhas, além de vídeos. A partir de um *corpus* extensivo de críticas, pensamos na configuração pontual de análise das críticas até para mostrar de modo operacional o funcionamento da crítica cinematográfica impressionista, aquela produzida por não-especialistas de cinema, e da crítica cinematográfica institucionalizada, tal seja a produzida por acadêmicos, geralmente professores universitários, que trabalham em um viés teórico de fundamento de crítica.

Nesse sentido, pesquisamos e coletamos discursos críticos cinematográficos institucionais produzidos por professores universitários especialistas em cinema, publicados em revistas especializadas e na *web*, com vistas a descrever e interpretar os posicionamentos institucionais sobre cinema. Pesquisamos e coletamos também discursos críticos cinematográficos informais, publicado em revistas *mass media*, bem como na *web*, com vistas

a descrever e interpretar a crítica impressionista e sua importância na propaganda sobre determinado filme. E, intentamos estabelecer uma comparação analítica entre o discurso crítico cinematográfico institucional, produzido por professores universitários, e o discurso crítico cinematográfico impressionista, produzido por não-especialistas, pensando em estabelecer uma análise sobre os diversos posicionamentos de crítica sobre cinema, bem como observar os elementos que os distanciam.

Resultados

Para a pesquisa de discursos críticos cinematográficos foram realizadas as leituras obrigatórias do referencial bibliográfico proposto no Plano de Trabalho e resenhado boa parte do material, em especial, aqueles referentes à teoria da Análise do Discurso para a fundamentação teórica da pesquisa. Foram também pesquisadas outras fontes que tratassem do tema cinema, no entanto, as obras mais expressivas encontram-se no domínio da Semiótica. Observamos a possibilidade de trabalhar com o diálogo teórico entre as áreas, mas essa questão fugiria do tema proposto que é a de analisar o discurso crítico cinematográfico e não propriamente o cinema, no entanto, esse tema não engessa a possibilidade do próprio aluno pesquisador e da pesquisadora estabelecerem críticas acadêmicas sobre determinados filmes.

Outra etapa parcialmente realizada trata-se do levantamento dos suportes midiáticos que trabalham e veiculam críticas cinematográficas, observando os suportes que trazem críticas institucionalizadas, ou seja, acadêmicas, e os suportes que tem como meta editorial a publicação e divulgação das críticas impressionistas, feitas por não-especialistas de cinema. Podemos observar que, salvo as revistas universitárias que são veículos de divulgação de pesquisas acadêmicas, as fontes geralmente veiculam tanto críticas cinematográficas institucionais quanto críticas cinematográficas informais, sendo este um primeiro resultado obtido pela pesquisa.

Após esse trabalho, iniciamos a formalização e construção do *corpus* de pesquisa, constituído por críticas cinematográficas acadêmicas e impressionistas, a fim de partirmos para as análises.

Corpus coletado

O *corpus* coletado traz a dimensão da produção, gerência e divulgação das críticas cinematográficas acadêmicas e impressionistas, publicadas pelos diversos suportes pesquisados. Elegemos como suporte midiático de divulgação de críticas as revistas especializadas em cinema *Cinema*, *Movie*, *Set*, *Première*, *Preview*, além de sites especializados em cinema e críticas[2], bem como vídeos de críticas cinematográficas publicados no Youtube: pesquisamos, sobretudo, os vídeos publicados pelo Cineclub IESB[3], como representativo de críticas acadêmicas, e os vídeos do Veja Cinema, com a apresentação crítica de Isabela Boscov, como representativos de críticas impressionistas.

i) O macro-corpus

O macro-corpus de trabalho diz respeito à quantidade de críticas coletadas (acadêmicas e impressionistas) como possibilidade de análise do discurso crítico cinematográfico no âmbito teórico da Análise do Discurso. Isso significa dizer que o macro-corpus é quantitativo e extensivo das críticas cinematográficas produzidas, no entanto, ainda não estabelecemos um recorte do suporte midiático, tempo e críticos. Foram coletadas cento e doze críticas (112) considerando todos esses suportes midiáticos pesquisados supracitados. A ideia de continuidade desse trabalho agora é a de separar as críticas e quantificar quantas aparecem publicadas sob a forma de artigo crítico e quantas aparecem publicadas em vídeos. Além disso, pretendemos catalogar tais críticas separando as "crítica acadêmica" das configuradas como "crítica impressionista". Pensamos, inicialmente, em coletar o máximo de críticas que poderiam ser foco de análises para se refletir sobre o funcionamento das críticas cinematográficas institucionais e impressionistas, para após a realização de uma amostragem de análise de tais críticas, estabelecer um recorte de pesquisa.

ii) O micro-corpus

O micro-corpus ainda não foi estabelecido, conforme dito no item anterior, ainda precisamos estabelecer o recorte da pesquisa para realizar o trabalho de construção do micro-corpus, ou seja, do que será analisado conforme a metodologia adotada na pesquisa. No entanto, já temos uma amostra de análise com uma crítica acadêmica – mais bem

[2] Site para acesso: http://criticos.com.br/
[3] Site para acesso: http://cineclubeiesb.wordpress.com/

desenvolvida para a amostra – e uma crítica impressionista – um pouco menos desenvolvida e que precisa ainda ser melhor trabalhada – sobre cinema.

Críticas analisadas

A crítica acadêmica analisada na amostragem foram os vídeos publicados no Youtube intitulados "Cineclube IESB - Amor à Flor de Pele (Wong Kar-Wai, 2000), debate PARTE 1 de 2"[4] e o vídeo que dá continuidade a este, intitulado "Cineclube IESB - Amor à Flor de Pele (Wong Kar-Wai, 2000), debate PARTE 2 de 2"[5], produzido pelo Cineclube IESB, com a participação como crítico debatedor, o Prof. Fábio Crispim de Oliveira.[6]

Nos vídeos em análise, a produção crítica institucionalizada pela/na academia se instaura a partir dos posicionamentos críticos do sujeito-professor crítico e debatedor. Ao elegermos como mote de estudo a análise de discursos críticos cinematográficos que transitam em instituições, sobretudo, na universidade, propomos observar, sobretudo, as práticas acadêmicas de produção do saber institucionalizado pela/na universidade, com a pretensão de problematizar os modos de construção e funcionamento das críticas cinematográficas acadêmicas, bem como os diálogos estabelecidos com outras *epistemes* propostos por seus críticos, nessa análise, em especial, o diálogo que o sujeito professor crítico estabelece com a Literatura. Pensa-se na produção e divulgação dos discursos críticos, em especial, àqueles que emergem no espaço institucional da universidade e são produzidos por sujeitos com status demarcado por seus posicionamentos especializados em relação ao objeto posto em crítica: o crítico acadêmico. Aqui, nos interessa o discurso cinematográfico e, em perceber no discurso crítico princípios e práticas institucionalizadas que mostram como a crítica é construída e como funciona.

Observamos no vídeo, a partir da enunciação do sujeito professor e crítico que toda tomada de posição repousa sobre um posicionamento institucional construído na linguagem por meio do discurso cinematográfico. No vídeo, o cinema de Wong Kar-Wai, com o filme

[4] Link para consulta do vídeo : http://www.youtube.com/watch?v=79rT4aqYRO0 Acesso em 20 de julho de 2013.
[5] Link para consulta do vídeo : http://www.youtube.com/watch?v=MARAND66auo Acesso em 20 de julho de 2013.
[6] Conforme texto de apresentação do currículo lattes do referido professor: "Fábio Crispim de Oliveira possui Mestrado em Teoria Literária pela UnB, graduação em Estudos Sociais - História pela União Pioneira de Integração Social (2004) e graduação em Letras pela Universidade de Brasília (2004). Tem experiência na área de Letras e de Audiovisual, com ênfase em Literatura, Redação e Cinema, atuando principalmente nos seguintes temas: literatura, cinema, audiovisual e historiografia". Acesso ao lattes pelo link : http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K4228834P4 Acesso em 20 de julho de 2013.

Amor à Flor da Pele é o objeto de estudo e de debate do sujeito professor. A análise orienta-se, portanto, no estudo da instituição discursiva da crítica de modo a pensar sobre princípios e práticas institucionais que fundamentam o discurso crítico cinematográfico e, neste vídeo, em especial, observamos a relação de diálogos entre o cinema e a literatura, notoriamente pelo uso terminológico da crítica instaurada.

Observamos que os quatro princípios que orientam o discurso crítico, apresentam-se na construção crítica dos vídeos, sendo eles: i) a legitimação de um objeto (aqui, o filme Amor à Flor da Pele) e seu autor (Wong Kar-Wai) revela a posição do crítico em validar o objeto criticado, sendo que a ação de legitimar não se dá de modo ocasional – um crítico não critica uma obra de arte simplesmente para legitimar a obra e seu autor –, de outro modo, a ação de legitimar um objeto apresenta-se imbricada às vontades de verdade (em termos foucaultianos) do olhar crítico sobre o objeto. Além disso, o sujeito professor crítico estabelece critérios estéticos que faz com que personagens e cenário dialoguem e, assim, o crítico faz com que cinema e literatura entrem em uma relação de aproximação; ii) a posição teórica do crítico diz respeito às filiações e orientações teóricas adotadas ao se estabelecer uma crítica: o crítico vincula-se a determinada corrente de crítica ou, em uma posição menos purista, apresenta um procedimento híbrido de trabalho crítico: é possível relacionar cinema e literatura e isso não se trata de uma inovação em se tratando de crítica cinematográfica, uma vez que são áreas afins, que trabalham com a linguagem imagética; iii) o posicionamento do crítico relaciona-se à autoridade que ele exerce para falar de tal objeto: o posicionamento diz respeito à formação, o lugar e o status do crítico; iv) a validação da argumentação crítica com o emprego de exemplos, comparações, análises, descrições, comentários etc. na construção da crítica tanto para a legitimação como para a recusa do objeto criticado.

É preciso mencionar que tais princípios não são estanques. Contrariamente, tais princípios relacionam-se entre si, sendo constitutivos da crítica cinematográfica analisada. Nota-se que a relação entre o crítico e o status que ele exerce compreende principalmente critérios de jurisdição e de conhecimento: observa-se, em especial, a autorização, a validação, a projeção e a divulgação do discurso crítico cinematográfico acadêmico, por exemplo, que tem a legalidade concedida pela instituição universidade para produzir determinada crítica: o sujeito professor crítico possui Mestrado em Teoria Literária e isso produz determinados sentidos quando confrontamos a teoria literária em sua crítica que valida o filme de Wong Kar-Wai. Nesse sentido, o papel que se reconhece no crítico acadêmico é o do especialista e por isso possui autoridade para enunciar determinado dizer crítico sobre dado objeto: o

cinema. A universidade, por sua vez, seria o lugar institucional mais amplo que conglomera várias práticas institucionalizadas.

Podemos inclusive pensar que ao propor esta amostra de análise, pretendemos com a continuidade da pesquisa fomentar o debate sobre o fundamento teórico em Análise de Discurso praticadas na academia por professores e pesquisadores, pensando-se, por um lado, em apresentar fundamentos para a análise de discursos cinematográficos institucionais, e, por outro, refletir sobre a própria prática discursiva institucional dos professores e críticos.

A segunda crítica que foi analisada para a amostragem trata-se também de um vídeo, agora produzido pela Veja Cinema e também publicado no Youtube[7], sob a edição e apresentação da editora e jornalista Isabela Boscov. O vídeo apresenta-se intitulado como "Veja Cinema: Bastardos Inglórios"[8] e foi analisado como um vídeo de crítica impressionista, aquela que não possui o status de desejo de ser acadêmico, mas que confere a ideia de pretender divulgar a estreia de um filme de forma massificada.

Nesse sentido, o comportamento crítico é outro quando analisamos a crítica não-universitária, aqui, a crítica similar a de jornal, uma crítica cinematográfica de revista que recai na sofisticação da atualidade de propor um vídeo-crítico, com uma linguagem acessível ao público. Podemos relacionar a crítica impressionista formalizada pela editora Isabela Boscov como aquelas notas publicadas nos jornais e revistas, em que consta uma sinopse do enredo fílmico com "cinco estrelas vazadas" que, de acordo com o seu preenchimento pode significar que o filme é excelente (todas as cinco estrelas preenchidas), bom (quatro estrelas), regular (três estrelas), ruim (duas estrelas) ou péssimo (uma estrela). Nesse sentido, não há um estudo especializado sobre o filme, e sim, a apresentação da história, do enredo, com o julgamento da editora do Veja Cinema. Assim, podemos observar que nesse modelo de crítica, tal seja a impressionista, há a obediência aos padrões comerciais, de vendas de filmes que acompanham as bilheterias, em especial, as hollywoodianas.

Conclusões

Podemos observar que, por meio do diálogo entre a crítica universitária cinematográfica e as correntes de teorias e críticas cinematográficas, emerge um discurso

[7] Vejam que o espaço virtual do Youtube conglomera críticas cinematográficas acadêmicas e impressionistas, sendo, portanto, um suporte midiático para a veiculação de críticas independentemente do seu selo ou do status de quem a produz.
[8] Link para consulta do vídeo: http://www.youtube.com/watch?v=xV9GKFg0VvI Acesso em 20 de julho de 2013.

universitário heterogêneo, que se expressa a partir da estética, da cultura fílmica, da pedagogia acadêmica, da instituição etc. revelando, assim, posicionamentos institucionais diversos sobre um mesmo filme. Tais elementos podem ser, em princípio, os elementos que separam a crítica universitária institucional da crítica impressionista, informal.

Ao pesquisar o discurso crítico cinematográfico podemos compreender como são construídos os vários posicionamentos (institucionalizados ou não) de crítica, sendo que tais posicionamentos sinalizam formas de legitimação/validação de um discurso sobre cinema em detrimento de outros.

Considerações finais

Estudar o discurso crítico cinematográfico constitui-se um desafio, uma vez que não há referências sobre esse tema, constituindo-se como um trabalho inédito e, ao mesmo tempo, uma tarefa bastante difícil. Ponderamos que, diferente do que acontece na literatura, por exemplo, em que houve o estabelecimento de uma crítica surgida na imprensa, em que escritores como Victor Hugo, Émile Zola e Machado de Assis, no século XIX, faziam críticas literárias ao mesmo tempo em que publicavam seus próprios escritos literários[9], no cinema, música, teatro e artes, este tipo de inversão de papeis é menos comum, como cineastas fazendo crítica de cinema, ou músicos fazendo críticas de música, por exemplo.

A pesquisa não se encerra com a apresentação deste artigo, pois ainda há muito o que ser pesquisado sobre o discurso crítico cinematográfico. Sabemos por ora que a mídia virtual e impressa são veículos de circulação e divulgação tanto das críticas acadêmicas institucionalizadas, como das críticas impressionistas, não-acadêmicas, informais. Sabemos também da existência de espaços virtuais e impressos que se constituem espaços de *mass media* (a facilidade em se abrir uma conta no Youtube e em se postar vídeos até mesmo caseiros), mas que surgem nesses espaços também críticas acadêmicas (a veiculação dos vídeos de crítica universitária do cinema postado pelo Cineclub IESB, por exemplo). Nesse sentido, a não ser pelas revistas impressas e eletrônicas que trazem o selo universitário, os suportes virtuais e impressos veiculam tanto críticas cinematográficas acadêmicas como críticas cinematográficas informais, ou seja, tais críticas, não tão raro, dividem o mesmo espaço e cabe ao leitor identificar o que procura ler como crítica.

[9] Ver mais sobre o tema da crítica literária universitária em Stafuzza (2009).

Referências

AUTHIER-REVUZ, J. *Palavras incertas. As não-coincidências do dizer*. Tradução e organização de Eni Puccinelli Orlandi. Campinas: EDUNICAMP, 1998.

BAKHTIN, M. M.; VOLOCHÍNOV, V. N. *Marxismo e filosofia da linguagem*. Tradução de Michel Lahud e Yara Frateschi Vieira. São Paulo: Hucitec, 13ª ed., 2009.

BORDWELL, D. *et al. Film art: an introduction.* New York: Knopf, Distributed by Random House, 1986.

DELEUZE, G. *A imagem-movimento* – Cinema 1. Tradução de Rafael Godinho. Coleção Livros de Cinema. Assírio & Alvim: Lisboa, 2004.

FOUCAULT, M. *A Arqueologia do Saber.* Tradução de Luiz Felipe Baeta Neves. Rio de Janeiro: Forense Universitária, 6ª ed., 2002[a].

FOUCAULT, M. *A ordem do discurso.* Tradução de Laura Fraga de Almeida Sampaio. São Paulo: Edições Loyola, 8ª ed, 2002[b].

GADET, F.; HAK, T. "Três épocas". In: *Por uma Análise Automática do Discurso: Uma Introdução à Obra de Michel Pêcheux*. Tradução de Bethania S. Mariani et.al. Campinas: EDUNICAMP, 1997.

LOTMAN, I. M.; TSVIAN, Y. *Dialogo con lo schermo* (trad. Silvia Burini). Coleção Il Castello di Atlante (Vol. 9), Bergamo: Moretti & Vitali, 2001.

MAINGUENEAU, D. *Cenas da Enunciação*. Tradução de Sírio Possenti e Maria Cecília Pérez de Souza e Silva. Curitiba: Criar Edições, 2006.

PÊCHEUX, M. *O Discurso. Estrutura ou Acontecimento.* Tradução de Eni Puccinelli Orlandi. Campinas: Pontes, 2ª ed, 1997.

_____. *Semântica e Discurso. Uma Crítica à Afirmação do Óbvio*. Tradução de Eni Puccinelli Orlandi et al. Campinas: EDUCAMP, 1995.

RAMOS, Fernão. *História do cinema brasileiro*. São Paulo: Art Editora, 1987.

STAFUZZA, G. B. O discurso da crítica literária universitária: sobre James Joyce e Ulysses. (Tese) Doutorado em Linguística e Língua Portuguesa. 274 f. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Ciências e Letras, Campus de Araraquara. Araraquara: UNESP, 2009.

_____. Mais estranho que a ficcção: o autor e o herói na estética do discurso cinematográfico. In: *Revista CASA*, vol. 10, n. 2. Araraquara: UNESP, 2012.

STAFUZZA, G. B. Discurso crítico: princípios e práticas institucionais. In: IX Congresso latino-americano de estudos do discurso - Associação Latino-americana de Estudos do Discurso (ALED). Belo Horizonte: UFMG, 2011, p. 110.

_____. As monstruosidades da crítica: a réplica do diálogo no discurso crítico. In: STAFUZZA, G. B. (Org.). SLOVO – O Círculo de Bakhtin no contexto dos estudos discursivos. 1ª ed. Curitiba: Appris, 2011, p. 117-132.

XAVIER, I. *O discurso cinematográfico: a opacidade e a transparência.* São Paulo: Paz e Terra, 4ª ed., 2008.

WOLFF, J. *Produção social da arte.* Tradução de Waltensir Dutra. Rio de Janeiro: Zahar, 1982.

Referências do *corpus*

"Cineclube IESB - Amor à Flor de Pele (Wong Kar-Wai, 2000), debate PARTE 1 de 2", com Fábio Crispim de Oliveira, Youtube, http://www.youtube.com/watch?v=79rT4aqYRO0 Acesso em 20 de julho de 2013.

"Cineclube IESB - Amor à Flor de Pele (Wong Kar-Wai, 2000), debate PARTE 2 de 2", com Fábio Crispim de Oliveira, Youtube, http://www.youtube.com/watch?v=MARAND66auo Acesso em 20 de julho de 2013.

"Veja Cinema: Bastardos Inglórios", com Isabela Boscov, Youtube, http://www.youtube.com/watch?v=xV9GKFg0VvI Acesso em 20 de julho de 2013.

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA CORONARIANA E VENTRICULAR DE CORAÇÃO ISOLADO DE RATOS WISTAR MEDIANTE AO TRATAMENTO AGUDO COM PEPTÍDEOS ISOLADOS DE ANFÍBIOS

Poliana Peres Ghazale[1]; Diego Basile Colugnati[2]

Departamento de Ciências Fisiológicas - Instituto de Ciências Biológicas

Poliana_pghazale@hotmail.com[1]; dcolugnati@yahoo.com.br[2]

ORIENTANDO[1]; ORIENTADOR[2]

RESUMO

O estudo da ação biológica de peptídeos extraídos de secreções de várias espécies de animais é importante na medida em que estes podem apresentar elevado potencial terapêutico. Nesse sentido a Bombesina (BBS), um peptídeo de 14 aminoácidos extraído do veneno cutâneo de um anfíbio, vem sendo estudada por vários grupos científicos. Tem sido relatado um amplo espectro de ações fisiológicas e farmacológicas que a envolvem principalmente no trato gastrointestinal, pulmão, células tumorais e no metabolismo celular, locais estes em que também atuam dois de seus análogos em mamíferos: o Peptídeo Liberador de Gastrina (GRP) e a Neuromedina B (NMB). Além destes, outros análogos a BBS são isolados de anfíbios, que são chamados de BLP (Bombesin-Like Peptide). Nesse sentido, este trabalho objetivou avaliar a atividade coronariana da BBS e de um BLP e seus efeitos sobre a função cardíaca**.** Foram utilizados ratos da raça Wistar, machos, pesando entre 200 e 280g, que foram submetidos à Técnica de Langendorff para corações isolados, perfundidos em fluxo constante. Foram avaliados: Pressão Intraventricular Sistólica, Pressão Intraventricular Diastólica, dP/dt (positiva e negativa), Pressão de Perfusão e Frequência Cardíaca do coração isolado de ratos Wistar. Nossos resultados mostraram que tanto a BBS quanto o BLP não alteram os parâmetros cardiovasculares quando administrados em *bolus*.

PALAVRAS-CHAVE: Bombesina; Função Cardíaca; Peptídeo.

Revisado pelo orientador

INTRODUÇÃO

Peptídeos extraídos de secreções de diferentes espécies animais têm sido bastante estudados nos últimos anos tendo em vista a sua grande importância no âmbito terapêutico. A exemplo disso é a Bombesina (BBS), um peptídeo isolado da pele da rã *Bombina bombina.* A BBS possui 14 aminoácidos em sua cadeia, estando eles na seguinte sequência: Glu - Gln – Arg – Leu – Gly – Asn – Gln – Trp – Ala – Val – Gly – His – Leu – Met (JENSEN, R. T.et al, 2008).

Os estudos apresentados até o presente momento mostram um largo espectro de ação deste peptídeo em mamíferos. Entre eles destacam-se a termorregulação, glicorregulação, inibição da ingestão alimentar e secreção de hormônios adeno-hipofisários (JENSEN, R. T.et al, 2008).

Em mamíferos, dois peptídeos análogos da BBS já foram isolados: o Peptídeo Liberador de Gastrina (GRP) (MCDONALD, T. J.et al, 1979), e a Neuromedina B (NMB) (MINAMINO, N. et al, 1983). As ações do GRP estão mais relacionadas com a estimulação do músculo liso do Trato Gastrointestinal (GRIDER, J. R.et al, 2004) e do Sistema Urinário (JENSEN, R. T. et al, 2008).Além disso, este apresenta ação na liberação de vários hormônios gastrointestinais, tem efeito nas células imunes (DE LA FUENTE, M. et al, 1991, 1993; DEL RIO, M. et al, 1994; PLAISANCI, P. et al, 1998) e em tecidos tumorais (JENSEN, J. A. et al, 2001; RUFF, M. et al, 1985). Apresenta também ações no Sistema Nervoso Central (SNC), como na termorregulação, ansiedade, regulação do ritmo cardíaco e da ingestão de alimentos (JENSEN, R. T.et al, 2008). Já os efeitos do NMB são mais específicos para a contração de músculo liso, crescimento de alguns tecidos (GLOVER, S. C. et al, 2003), termorregulação, liberação de hormônio tireoestimulante (TSH) (OLIVEIRA, K. J. et al, 2006), estimulação de neurônios no sistema nervoso central (SNC) (JENSEN, R. T. et al, 2008), efeitos comportamentais (MERALI, Z. et al, 2006) e sobre a transmissão sensorial espinhal (JENSEN, R. T. et al, 2008).

Para esses dois análogos, encontram-se 3 receptores em mamíferos: BB1, BB2 e BB3. A NMB tem mais afinidade pelo BB1, o GRP mais afinidade pelo BB2 e o BB3 ainda foi pouco estudado (JENSEN, R. T.et al, 2008).

Segundo Katarzyna Kaczynska et al a administração sistêmica da BBS causa um aumento na pressão arterial e na frequência cardíaca de ratos anestesiados. Branimir

Revisado pelo orientador

Zogovic et al discutem que esses efeitos da BBS são causados pela excitação do Sistema Nervoso Autônomo Simpático. Assim este peptídeo surge como uma potencial ferramenta terapêutica para doenças cardiovasculares.

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), as doenças cardiovasculares lideram o ranking das principais causas de morte no Brasil. São responsáveis por 29,5% dos casos de morte, seguidas pelo câncer (15,6%) e por causas externas (12,5%), dados de 2008. Esse fato sugere uma importância significativa de se estudar os mecanismos normais e de doença do sistema cardiovascular , bem como, a ação de substâncias que possam alterar seu estado fisiológico .

Neste sentido a BBS vem sendo bastante estudada do ponto de vista farmacológico, já que possui um largo espectro de ação nos mais variados sistemas do organismo, porém sua ação diretamente no Sistema Cardiovascular ainda é pouco elucidada. Assim este trabalho terá como finalidade investigar os efeitos da BBS diretamente sobre o tecido cardíaco e coronariano.

METODOLOGIA

Ação cardiovascular da Bombesina e seu Homólogo.

Animais

Para a realização deste trabalho utilizamos ratos machos, da raça Wistar, adultos, pesando entre 200 e 250g no início dos experimentos, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Goiás. Os animais foram ser alojados em grupos de cinco ratos, em gaiolas apropriadas, com livre acesso à comida e água. As condições deste biotério obedecem a um ciclo claro-escuro de 12 horas (claro: 7:00h - 19:00h), sendo a temperatura ambiente mantida constante entre 21+ 1^{o}C. O número total de ratos utilizados foi 8.

Revisado pelo orientador

Preparo para o Coração Isolado e Protocolo experimental

Os ratos foram eutanasiados após 15 minutos de administração de heparina (400 UI, i.p.). O tórax foi aberto e o coração cuidadosamente dissecado mergulhados em uma solução nutridora gelada de Krebs Ringer contendo em mM: NaCl 118.4, KCl 4.7, KH_2PO_4 1.2, $MgSO_4$ _ $7H_2O$ 1.2, $CaCl_2$ _ $2H_2O$ 2.5, glucose 11.7, e $NaHCO_3$ 26.5. Os corações foram separados dos resíduos de demais órgãos, e o arco aórtico foi seccionado logo abaixo de sua bifurcação. A aorta foi então canulada e o coração foi perfundido, de maneira retrógrada, em fluxo constante por solução de Krebs Ringer aquecida a 37 ± 1 °C e saturada com solução carbogênica (95% de O_2 e 5% de CO_2). Um transdutor de pressão (MLT0699 Adinstruments®) foi conectado à via de perfusão para registro de variações da pressão de perfusão mediante a reatividade das coronárias. Um balão preenchido com água e conectado a um transdutor de pressão (MLT0699 Adinstruments®) foi introduzido no ventrículo esquerdo através de uma incisura no átrio esquerdo para a medição da pressão intraventricular.

Os animais foram divididos em dois grupos: ao grupo 1 (n=4) foi administrada a bombesina em *bolus* (150 µL) com concentrações crescentes de 10^{-8} M a 5 X 10^{-5} M. Ao grupo dois (n=4) foi administrado o peptídeo homologo à bombesina em dose única (máxima concentração da bombesina - 5 X 10^{-5} M) . Este grupo foi submetido somente a uma dose do peptídeo homologo da bombesina (*bolus* 150 µL) devido o fato de que a quantidade sintetizada até o momento não permite curvas dose resposta. Ambos os grupos foram submetidos ao mesmo protocolo (a exceção do peptídeo utilizado e concentrações). Após um período de aproximadamente 35 minutos de estabilização, até que o coração permanece com a atividade fisiológica praticamente inalterada com o tempo, o peptídeo foi adicionado e curvas de concentração-resposta foram realizadas. Feitas as curvas o sistema foi perfundido novamente com solução livre de qualquer peptídeo para se avaliar a função normal do coração.

Foram monitorados durante todo o tempo os parâmetros: Pressão Ventricular Sistólica (PVS), Pressão Ventricular Diastólica (PVD), dP/dT + e dP/dT -, Pressão de Perfusão (PP) e Frequência Cardíaca (FC). Os sinais obtidos foram enviados ao sistema de aquisição e análise de dados (MP100, BioPac Systems, Inc., Goleta, CA, EUA). As análises levaram em consideração a média dos valores obtidos 60 segundos antes da administração dos peptídeos e 60 segundos após.

Revisado pelo orientador

Análise de dados

As variações de PVS, PVD, dP/dT + e dP/dT -, FC e PP foram expressas como média ± EPM e analisadas através do ANOVA de uma via com medidas repetidas, seguidos pelo teste de Bonferroni, enquanto que os do grupo do BLP foram analisados pelo teste t de Student pareado. Os resultados somente foram considerados significativos quando $p<0,05$.

Considerações éticas

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Goiás. A parte experimental foi realizada no Laboratório de Órgãos Isolados, Departamento de Ciências Fisiológicas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás.

RESULTADOS

Todos os parâmetros foram analisados 60 segundos antes e 60 segundos depois da aplicação de cada *bolus* dos peptídeos. Dessa forma, os gráficos de resultados estão representados como antes e depois da administração de cada concentração do respectivo peptídeo.

Podemos observar que a administração da BBS em *bolus* não levou a nenhuma alteração dos parâmetros cardiovasculares analisados em quaisquer concentrações (Figura 1), assim decidimos testar o BLP na maior concentração utilizada de BBS e assim como o ocorrido com a BBS o BLP não levou a nenhuma alteração dos parâmetros cardiovasculares analisados (Figura 2).

Revisado pelo orientador

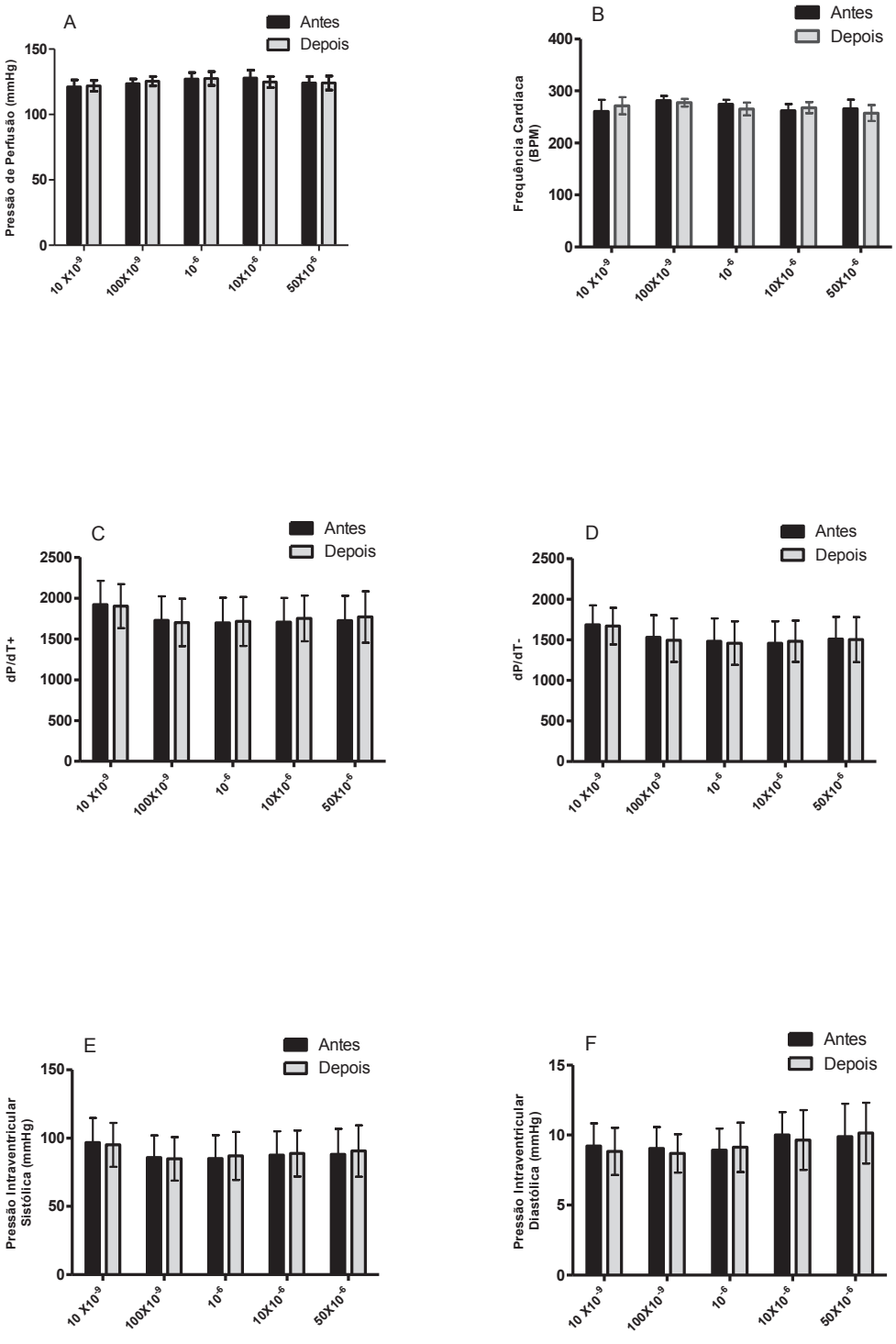


Figura 1 – Variação da Pressão de Perfusão (mmHg) (A), Frequência Cardíaca (bpm) (B), dP/dt + (mmHg/s) (C), dP/dt – (mmHg/s) (D), Pressão Intraventricular Sistólica (mmHg) (E) e Pressão Intraventricular Diastólica (mmHg) (F) antes e depois da aplicação do *bolus* em concentrações crescentes de BBS, em mol/L.

Revisado pelo orientador

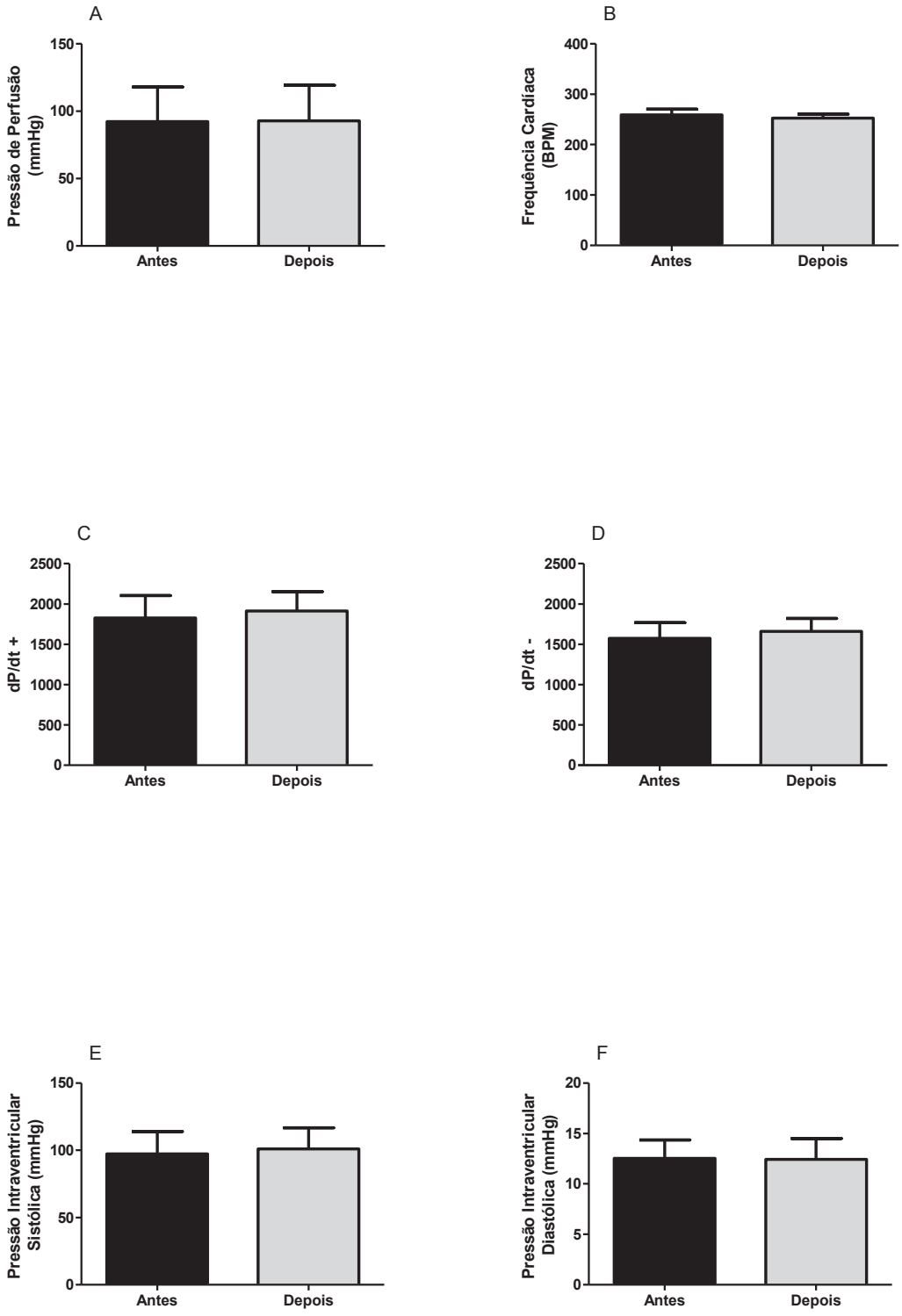


Figura 2 – Variação da Pressão de Perfusão (mmHg) (A), Frequência Cardíaca (bpm) (B), dP/dt + (mmHg/s) (C), dP/dt – (mmHg/s) (D), Pressão Intraventricular Sistólica (mmHg) (E) e Pressão Intraventricular Diastólica (mmHg) (F) antes e depois da aplicação do *bolus* em concentrações crescentes de BLP em mol/L.

Revisado pelo orientador

DISCUSSÃO

O sistema de coração isolado permite a avaliação da atividade cardíaca sem a interferência do Sistema Nervoso, já que o tecido está livre de inervação, não permitindo assim que haja ação autonômica sobre o mesmo. Dessa forma, esse estudo permitiu avaliar se a BBS causa algum efeito diretamente no tecido cardíaco, sem a ação simpática relatada em outros estudos, isto é, se há receptores da BBS no tecido cardíaco, e não só no Sistema Nervoso Autônomo Simpático (ZOGOVIC, B.; PILOWAKY, P. M., 2011).

Nossos resultados mostraram que nem a BBS e nem o BLP provocaram alterações da PVS, PVD, dP/dT + e dP/dT -, PP e FC. Isto sugere que ambos os peptídeos não apresentam ação direta sobre o coração. Sabe-se que mamíferos expressam três subtipos de receptores de BBS: o BB1, o BB2 e o BB3 (JENSEN, R.T. et al, 2008). Dentre estes os receptores com mecanismos mais conhecidos são o BB1 e o BB2. Isto se deve ao fato de que existem peptídeos de ocorrência endógena em mamíferos com afinidade a estes dois receptores (JENSEN, R.T. et al, 2008). A neuromedina B apresenta grande afinidade ao receptor BB1, este, por sua vez, quando estimulado, apresenta uma grande variedade de respostas fisiológicas dependendo do seu local de ocorrência. Foi demonstrado que o receptor BB1 está expresso em várias regiões do sistema nervoso central, em vários tecidos dos tratos gastrointestinais e urogenitais e também em vasos de tecidos tumorais. Suas ações fisiológicas vão desde contração da musculatura lisa de bexiga, útero, laringe, estômago e intestino delgado, até a modulação de respostas desencadeadas pelo estresse e também por medo, bem como pelo controle do apetite (MILUSHEVA, E. A. et al, 1998; LADENHEIM, E. E., JENSEM, R. T., MORAN, T. M., 1993; LADENHEIM, E. E., KNIPP, S., 2007; MERALI, Z. et al, 2006; MERALI, Z., KENT, P., ANISMAN, H., 2006).

Já o receptor BB2 apresenta como principal ligante o peptídeo liberador de gastrina. Este receptor, quando estimulado, pode apresentar, em grande parte, os mesmos efeitos do receptor BB1, porém este parece estar mais relacionado ao estimulo da secreção gástrica bem como ao controle da liberação de uma série de hormônios relacionados ao metabolismo como o hormônio tireoestimulante, a colecistocinina e a insulina (SCHUBERT, M. L., 2002; BUNNETT, N., 1994).

Revisado pelo orientador

Em um trabalho realizado em 2011 Zogovic e Pilowsky conduziram experimentos avaliando parâmetros cardiovasculares, respiratórios e autonômicos em ratos anestesiados submetidos a administração de BBS na região intratecal. Neste trabalho os autores mostraram que a BBS apresenta efeitos simpato – excitatórios, uma vez que a administração de BBS a 300 uM levou a um aumento da atividade do nervo esplâncnico, aumento da pressão arterial média, aumento da frequência cardíaca, houve também, um aumento do ganho do reflexo de barorreceptores e aumento da atividade do nervo frênico, o que demonstra um componente respiratório da ação da BBS. Além disso, observaram um papel importante do receptor BB2, uma vez que, o bloqueio deste receptor por seu antagonista (ICI-216,140) atenuou grande parte das respostas. No mesmo sentido outros trabalhos tem mostrado respostas cardiovasculares frente a administração sistêmica da BBS como: aumento da pressão arterial média e da frequência cardíaca, relatam ainda que tais respostas são atenuadas ou abolidas mediante bloqueio adrenérgico, tanto beta quanto alfa.

De acordo com os resultados apresentados, o fato de nem a BBS nem o BLP terem exercido relaxamento e nem constrição coronariana, tampouco ventricular, com o protocolo apresentado, indica que estes não apresentam efeitos diretos sobre o tecido cardíaco e coronariano. Entretanto essa hipótese ainda não deve ser descartada.

Talvez respostas mediadas pela BBS e/ou pelo BLP, diretamente no tecido cardíaco, dependam de um maior tempo de exposição a esses peptídeos do que aquele quando administrados em *bolus*. Nesse sentido, estamos realizando novos experimentos com um protocolo diferenciado, onde os peptídeos são administrados diluídos na solução nutridora por um período de cinco minutos, assim acreditamos poder descartar o fator temo de exposição para a ação tanto da BBS quanto do BLP.

Em outro protocolo realizado em nosso laboratório pela aluna de iniciação científica voluntária Karina Pereira Gomes há evidências de que a BBS, mas não o BLP, causa relaxamento na artéria aorta e que tal resposta é dependente do endotélio e mediada pelo óxido nítrico, uma vez que o bloqueio de sua síntese abole o relaxamento aórtico desencadeado pela BBS. Nesse caso, o tecido aórtico torácico também é isolado de fatores extrínsecos, e mantido numa solução nutridora semelhante à do coração isolado.

Portanto nossos resultados mostram que tanto o BLP quanto a BBS apresentam mecanismos de ação muito parecidos, uma vez que, nenhum dos dois desencadeou

Revisado pelo orientador

alterações dos parâmetros cardiovasculares analisados. Além disso, nossos resultados nos levaram a outras questões a respeito da ação da BBS e do BLP diretamente sobre o tecido cardíaco, o que nos leva a procurar outros protocolos para analisar de maneira mais detalhada a ação destes peptídeos.

CONCLUSÃO

O tratamento agudo em *bolus* com BBS e com BLP não provoca alterações da função cardiovascular do coração isolado de ratos Wistar.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados neste trabalho apontam para a necessidade da realização de novos estudos com abordagens experimentais diferentes afim de investigarmos mais detalhadamente os efeitos da BBS e do BLP diretamente sobre o tecido cardíaco. Desta forma, abre-se uma linha de pesquisa bastante promissora com uma variedade bastante grande de perguntas a serem respondidas. A realização deste trabalho também gerou produtos concretos uma vez que seus diferentes resultados foram apresentados em congressos de grande relevância na área de fisiologia e de prospecção de novos peptídeos com ação cardiovascular, sendo um nacional (XVII Simpósio Brasileiro de Fisiologia Cardiovascular) e outro internacional (IX International Symposium Vasoactive Peptides). Além disso, este trabalho faz parte de colaboração com Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia (BIOTEC), localizada na UFPI de Parnaíba, em congruência com a rede Nanobiomed CAPES/Brasil no qual o grupo faz parte desde 2009 e os resultados aqui encontrados estreitaram ainda mais esta cooperação de tal maneira que novos projetos começam a ser pensados. Importante ressaltar que os experimentos aqui realizados são de média para alta complexidade e a aluna mostrou neste período intenso compromisso, estando presente no laboratório por um grande período de horas, de tal maneira que a mesma conseguiu realizar todas as etapas de maneira completa. Além disso, como citado anteriormente a mesma participou de congressos nacional e internacional o que

Revisado pelo orientador

contribuiu de maneira bastante relevante para o início de sua formação como pesquisadora.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BUNNETT, N. Gastrin-releasing peptide. *Gut Peptides*, p 423–445, 1994.

DE LA FUENTE, M.; DEL RIO, M.; FERRANDEZ, M. D.; HERNANZ, A. Modulation of phagocytic function in murine peritoneal macrophages by bombesin, gastrinreleasingpeptide and neuromedin. C. *Immunology,* v. 73, p. 205–211, 1991.

DE LA FUENTE, M.; DEL RIO, M.; FERRANDEZ, M. D.; HERNANZ, A. Stimulation of natural killer andantibody-dependent cellular cytotoxicity activities in mouse leukocytes by bombesin,gastrin-releasing peptide and neuromedin C: involvement of cyclic AMP,inositol 1,4,5-trisphosphate and protein kinase C. *J Neuroimmunol,* v. 48, p.143–150, 1993.

DEL RIO, M.; HERNANZ, A.; DE LA FUENTE, M. Bombesin, Gastrin-releasing peptide, and neuromedin C modulate murine lymphocyte proliferation through adherent accessory cells and activate protein kinase C. *Peptides,* v. 15, P. 15–22, 1994.

GLOVER, S. C.; TRETIAKOVA, M. S.; CARROLL, R. E.; BENYA, R. V. Increased frequency ofgastrin-releasing peptide receptor gene mutations during colon-adenocarcinomaprogression. *MolCarcinog,* v. 37, p. 5–15, 2003.

GRIDER, J. R. Gastrin-releasing peptide is a modulatory neurotransmitter of the descending phase of the peristaltic reflex. *Am J Physiol,*v. 287, p. G1109–G1115, 2004.

JENSEN, J. A.; CARROL, R. E.; BENYA, R. V.The case for gastrin-releasing peptideacting as a morphogen when it and its receptor are aberrantly expressed in cancer.*Peptides,* v. 22, p. 689–699, 2001.

JENSEN, R. T.; BATTEY, J. F.; SPINDEL, E. R.; BENYA, R. V. Mammalian Bombesin Receptors: Nomenclature, Distribuition, Plharmacology, Signaling, and Functions in Normal and Disease States. *PharmacolVer,* v. 60, p. 1-42, 2008.

Revisado pelo orientador

KACZYNSKA, K.; SZEREDA-PRZESTASZEWSKA, M. Vasopressor and Heart Rate Responses to Systemic Administration odBombesin in Anesthetized Rats. *Pharmacological Reports,* v. 63, p. 448-454, 2011.

LADENHEIM, E. E.; JENSEM, R. T.; MORAN, T. M. Receptors for bombesin-like peptides in the rat central nervous system. *Methods Neurosci*, v 11, p 283–293, 1993.

LADENHEIM, E. E.; KNIPP, S. Capsaicin treatment differentially affects feeding suppression by bombesin-like peptides. *Physiol Behav*, v 91, p 36–41, 2007.

MCDONALD, T. J.; JORNVALL, H.; NILSSON, G.; VAGNE, M.; GHATEI, M.; BLOOM, S. R.; MUTT, V. Characterization of a gastrin-releasing peptide from porcine non-antralgastric tissue. *BiochemBiophys Res Commun,* v. 90, p. 227–233, 1979.

MERALI, Z.; BEDART, T.; ANDREWS, N.; DAVIS, B.; MCKINIGHT, A. T.; GONZALES, M. I.; PRITCHARD, M.; KENT, P.; ANISMAN, H. Bombesin receptors as a novel anti-anxiety therapeutictarget: BB1 receptor actions on anxiety through alterations of serotoninactivity. *J Neurosci, v. 26, p.* 10387–10396, 2006.

MERALI, Z.; KENT, P.; ANISMAN, H. Role of bombesin-related peptides in the mediation or integration of the stress response. *Cell Mol Life Sci*, v 59, p 272–287, 2012.

MILISHEVA, E. A.; KORTEZOVA, N. I.; MIZHORKOVA, Z. N.; PAPASOVA, M.; COY, D. H.; BALINT, A.; VIZI, E. S.; VARGA, G. Role of different bombesin receptor subtypes mediating contractile activity in cat upper gastrointestinal tract. *Peptides*, v 19, p 549–556, 1998.

MINAMINO, N.; KANGAWA, K.; MATSUO, H. Neuromedin B: a novel bombesinlikepeptide identified in porcine spinal cord. *BiochemBiophys Res Commun,* v. 114, p. 541–548, 1983.

OLIVEIRA, K. J.; ORTIGA-CARVALHO, T. M.; CABANELAS, A.; VEIGA, M. A.; AOKI, K.; OHKI-HAMAZAKI, H.; WADA, K.; WADA, E.; PAZOS-MOURA, C. C. Disruption of neuromedin B receptor gene results in dysregulation of the pituitary-thyroid axis. *J MolEndocrinol*, v. 36, p. 73–80, 2006.

PLAISANCI, P.; BARCELO, A.; MORO, F.; CLAUSTRE, J.; CHAYVIALLE, J. A.; CUBER, J. C. Effects of neurotransmitters, gut hormones, and inflammatory mediators on mucusdischarge in rat colon. *Am J Physiol,* v. 275, p. G1073–G1084, 1998.

Revisado pelo orientador

REICHELT, M. E.; WILLEMS, L.; HACK, B. A.; PEART, J. N.; HEADRICK, J. P. Cardiac and Coronary function in the Langendorff-perfused Mouse Heart Model. *Exp Physiol,* v. 94, n. 1, p. 54-70, 2008.

RUFF, M.;SCHIFFMANN, E.; TERRANOVA, V.; PERT, C. B. Neuropeptides are chemoattractantsfor human tumor cells and monocytes: a possible mechanism for metastasis.*ClinImmunolImmunopathol,* v. 37, p. 387–396, 1985.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. *Curr Opin Gastroenterol,* v 18, p 639–649, 2012.

ZOGOVIC, B.; PILOWAKY, P. M. IntrathecalBombesin is Sympathoexcitatory and Pressor in Rat. *Am J PhysiolRegulIntegr Comp Physiol,* v.301, p. R1486–R1494, 2011.

Revisado pelo orientador

IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES SSR E SNP EM CAGAITA (*Eugenia dysenterica*), UTILIZANDO FERRAMENTAS DE BIOINFORMÁTICA E DADOS DE SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO*

Priscila Magalhães da Veiga Jardim[1]; Alexandre Siqueira Guedes Coelho[2]

[1] Bolsista PIBIC, graduanda em Agronomia, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, CP 131, Goiânia-GO, Brasil, 74001-970;

[2] Orientador, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, CP 131, Goiânia-GO, Brasil, 74001-970.

pmdvj@hotmail.com; alexandre.coelho@icloud.com

Unidade Acadêmica/Departamento:

Escola de Agronomia / Setor de Melhoramento de Plantas

* Revisado pelo orientador.

RESUMO

Os marcadores moleculares têm sido frequentemente utilizados em estudos de caracterização da diversidade e da estrutura genética de populações. O objetivo deste trabalho foi identificar, no genoma de *Eugenia dysenterica,* conjuntos de marcadores moleculares SSR (*Simple Sequence Repeats*) e SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*) para o desenvolvimento de estudos futuros de caracterização genética. Os dados de sequenciamento de nova geração foram inicialmente submetidos às análises de controle de qualidade para retirada de sequências de baixa qualidade. Posteriormente foram utilizadas ferramentas de montagem de genomas para obtenção dos *scaffolds*. As sequências obtidas dos *scaffolds* foram então submetidas às análises de anotação preliminar e de identificação de marcadores SSR e SNP. Para alguns dos marcadores identificados foram desenhados *primers* que permitirão a utilização destes marcadores em estudos de caracterização genética de populações naturais de *Eugenia dysenterica*.

Palavras-chave: sequenciamento de nova geração, bioinformática, microssatélites, cagaita.

1 INTRODUÇÃO

A ocorrência de mudanças evolutivas em pequena escala, como as mudanças de frequências gênicas dentro de uma população, é chamada de microevolução. Esses processos evolutivos (tais como mutação, deriva genética, fluxo gênico e seleção natural) são estudados a partir da análise simultânea de vários locos ou regiões do genoma. Estes estudos englobam a compreensão do padrão e do grau de heterogeneidade do genoma até as origens, relações e história demográfica das populações amostradas (LUIKART, G. et al., 2013).

Para se chegar a essas informações são utilizadas técnicas de análise genética, dentre as quais se encontra o sequenciamento de nova geração (NGS - *Next Generation Sequencing*). As plataformas de sequenciamento de nova geração estão proporcionando uma produção de dados genéticos em grande quantidade a custos e tempos cada vez mais reduzidos (METZKER, 2010). Em contraposição, as técnicas tradicionais de análise genética não são capazes de equacionar a grande demanda de obtenção de conhecimentos sobre a dinâmica evolutiva das espécies, principalmente das espécies ameaçadas de extinção. Por haver um eminente e acelerado processo de degradação do bioma Cerrado e de outros biomas brasileiros se faz necessário certa urgência no desenvolvimento de novas metodologias de análise genética. Neste sentido, somente o desenvolvimento de ferramentas computacionais mais eficazes e poderosas poderá viabilizar a análise de dados que estão se tornando disponíveis para várias espécies (FERREIRA et al., 2000).

A importância do Cerrado se dá por ele ser uma formação savânica tropical que ocupa aproximadamente 2,0 milhões de Km², correspondendo a 23,1% do território brasileiro (BUSHBACHER, 2000). Além da sua extensão o Cerrado brasileiro apresenta uma enorme variedade de espécies vegetais que podem ser aproveitadas para múltiplas finalidades, tais como: fármacos, alimentação humana e animal, madeira, preservação de ecossistemas entre outras (ALMEIDA et al., 1998).

Algumas espécies vegetais do Cerrado podem se constituir em potenciais fontes de exploração econômica, desde que a pesquisa e o desenvolvimento tecnológico viabilizem o seu aproveitamento (BARBOSA, 1996). Neste contexto, insere-se a cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC), uma espécie frutífera nativa do Cerrado, aproveitada pela população local para uso alimentar e medicinal.

O emprego de novas técnicas de análise genética, baseadas no sequenciamento de DNA e na utilização de ferramentas de bioinformática, permitirá o desenvolvimento de uma gama de marcadores moleculares para a realização de estudos de caracterização da diversidade genética e da caracterização molecular da biodiversidade do bioma Cerrado. A utilização de marcadores moleculares, como os SSR (*Simple Sequence Repeats*) e os SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*), em Biologia da Conservação, permite uma avaliação do nível de endogamia dentro das populações e da quantidade de fluxo gênico existente entre e dentro populações (ALLENDORF et al., 2010).

Nesse contexto, este trabalho teve por objetivo realizar a anotação preliminar de sequências de DNA genômico de *Eugenia dysenterica* obtidas utilizando-se sequenciamento de nova geração; e identificar, no genoma de *Eugenia dysenterica,* conjuntos de marcadores moleculares SSR, baseados no polimorfismo de microssatélites, e SNP, baseados no polimorfismo de nucleotídeos únicos, para utilização em estudos de caracterização genética.

2 METODOLOGIA

Os dados de sequenciamento de nova geração do genoma de *Eugenia dysenterica* foram produzidos no âmbito da rede Genpac. O DNA sequenciado foi obtido a partir de tecidos foliares de indivíduos de populações naturais de *Eugenia dysenterica*.

Inicialmente, os dados de sequenciamento foram submetidos às análises de controle de qualidade para retirada de sequências de baixa qualidade. A análise preliminar das sequências foi realizada pelo software fastqc. As sequencias de baixa qualidade presentes nas extremidades dos *reads* foram então eliminadas utilizando-se um critério de valor mínimo de *phred* igual a 39 e 30, para o início e término da sequência, respectivamente. Em uma segunda etapa, regiões com valores médios de *phred* inferiores a 30 ao longo da sequência também foram eliminadas. Essas análises foram feitas por meio do programa trimmomatic (LOHSE et al., 2012). Para uso do software trimmomatic, a linha de comando utilizada foi:

```
java -jar /usr/local/bin/trimmomatic-0.30.jar PE –threads 24 –phred33
./file1.fastq ./file2.fastq LEADING=39 TRAILING=30 SLIDINGWINDOW=4:30
```

sendo que a opção LEADING=39 significa que as sequências de baixa qualidade no início dos *reads* foram eliminadas de modo a satisfazer a condição de que a primeira base do *read* tinha que ter um valor de qualidade *phred* maior ou igual a 39. Já o TRAILING=30 significa que as bases de baixa qualidade do final dos *reads* foram eliminadas de modo a satisfazer a condição de que a primeira base encontrada, a partir do final, tinha que ter valor *phred* maior ou igual a 30. A opção SLIDINGWINDOW=4:30 quer dizer que os *reads* foram avaliados por uma janela móvel de tamanho 4; se uma dentre essas janelas tivesse um valor médio de *phred* inferior a 30 as bases foram eliminadas dali até o final. Só foram mantidos os *reads* com comprimento mínimo de 20 pares de bases.

Em seguida, o genoma de eucalipto (*Eucalyptus grandis*) foi utilizado como referência para se estimar o tamanho dos fragmentos sequenciados. O software Bowtie2 (LANGMEAD & SALZBERG, 2012) foi utilizado para se alinhar os *reads* obtidos de *Eugenia dysenterica* no genoma de referência de *Eucalyptus grandis*. A análise dos resultados obtidos permitiu a obtenção de estimativas do tamanho dos fragmentos sequenciados. A linha de comando utilizada neste caso foi:

```
bowtie2 –p24 –no_unal –no–hd –no-sq –no-mixed –no-discordant –X 1000 –x
genoma_ref -1 file1.fastq -2 file2.fastq –S output.sam
```

O próximo programa empregado foi o MaSuRCA (ZIMIN et al., 2013), com o objetivo de se produzir um *draft assembly* para o genoma de *Eugenia dysenterica*. O *assembly* de uma sequência refere-se à montagem dos fragmentos chamados de *reads*, em uma sequência consenso. O produto final foram arquivos contendo os *contigs* ou *scaffolds* nos quais foram utilizados na identificação dos marcadores SSR e SNP.

Para a identificação dos marcadores SNP foi utilizado novamente o programa Bowtie2 (LANGMEAD & SALZBERG, 2012), o qual é uma ferramenta ultra-rápida e muito eficiente que realiza o alinhamento de *reads* pequenos com um genoma de referência, agora o *draft assembly* gerado anteriormente. Em seguida foi utilizado o programa SAMTools (LI et al., 2009) que é um conjunto de ferramentas que se interagem com o objetivo de processar alinhamentos de *reads* pequenos produzidos pelo sequenciamento de nova geração. O SAMTools transforma um arquivo com extensão .bam num arquivo com extensão .vcf, onde estão identificados os candidatos a marcadores SNP. A visualização ocorreu através do software Tablet (MILNE et al., 2013), um programa que permite a visualização e exploração dos dados de sequência de um *assembly*.

A identificação das regiões contendo microssatélites e desenho dos *primers* dos marcadores SSR foi realizada através do programa IMEx-web (*Imperfect Microsatellite Extraction Webserver*). O IMEx-web (MUDUNURI & NAGARAJARAM, 2007) é uma ferramenta para extração de microssatélites perfeitos, imperfeitos e compostos a partir de sequências do genoma. Foi utilizado o Avanced Mode o qual inclui todas as opções disponíveis no programa. Foram selecionados apenas microssatélites perfeitos com motivos de di, tri, tetra, penta e hexanucleotídeos, com um número mínimo de repetição igual a cinco.

3 RESULTADOS

Os resultados das análises de controle de qualidade podem ser visualizados pela comparação das Figuras 1 e 2. Na Figura 1 nota-se sequências com regiões de baixa qualidade ainda presentes e na Figura 2 sua ausência.

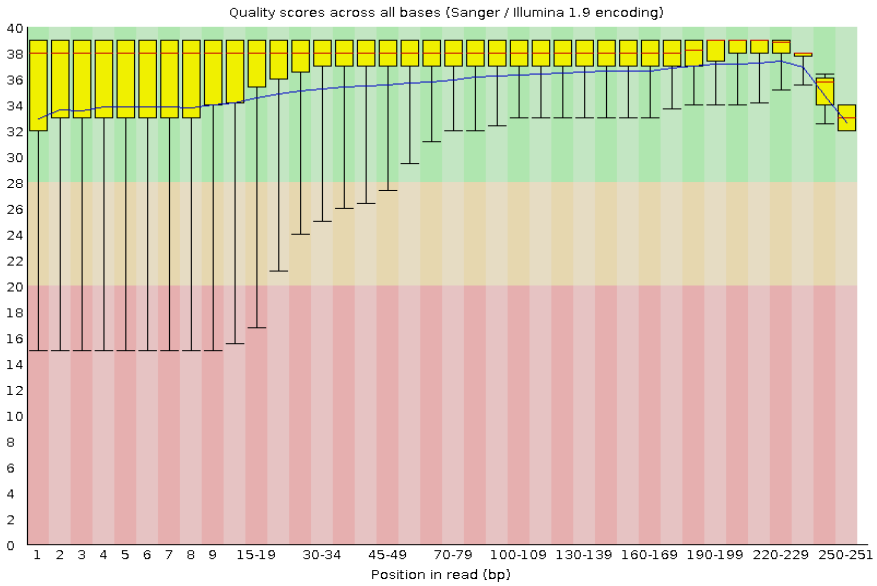


Figura 1 – Gráfico representativo da distribuição dos valores de qualidade *phred* das sequências antes da análise de controle de qualidade.

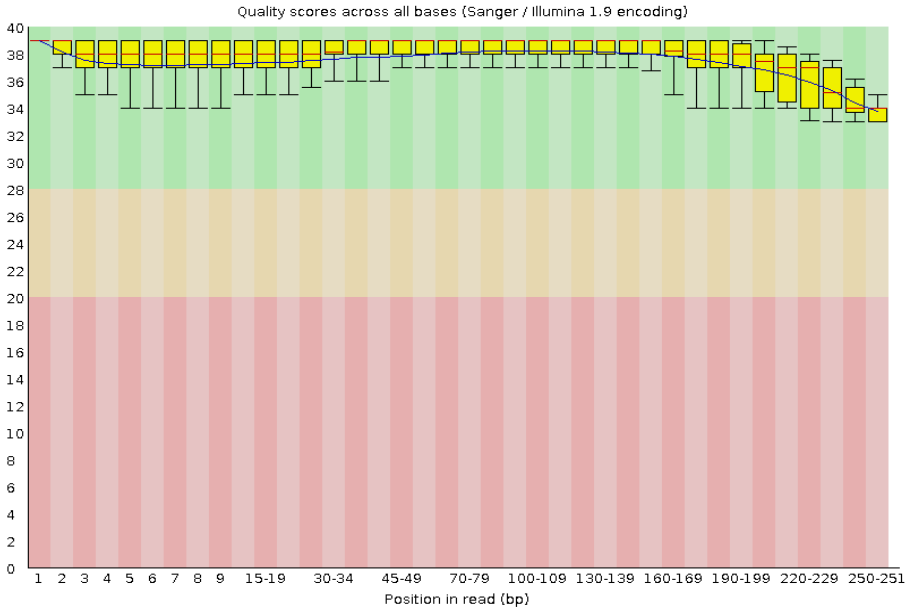


Figura 2 – Gráfico representativo da distribuição dos valores de qualidade *phred* das sequências após a análise de controle de qualidade.

As análises de alinhamento permitiram o mapeamento de 4,5% dos *reads* de *Eugenia dysenterica* no genoma de *Eucalyptus grandis*. O gráfico representativo da distribuição dos tamanhos dos fragmentos sequenciados está representado na Figura 3.

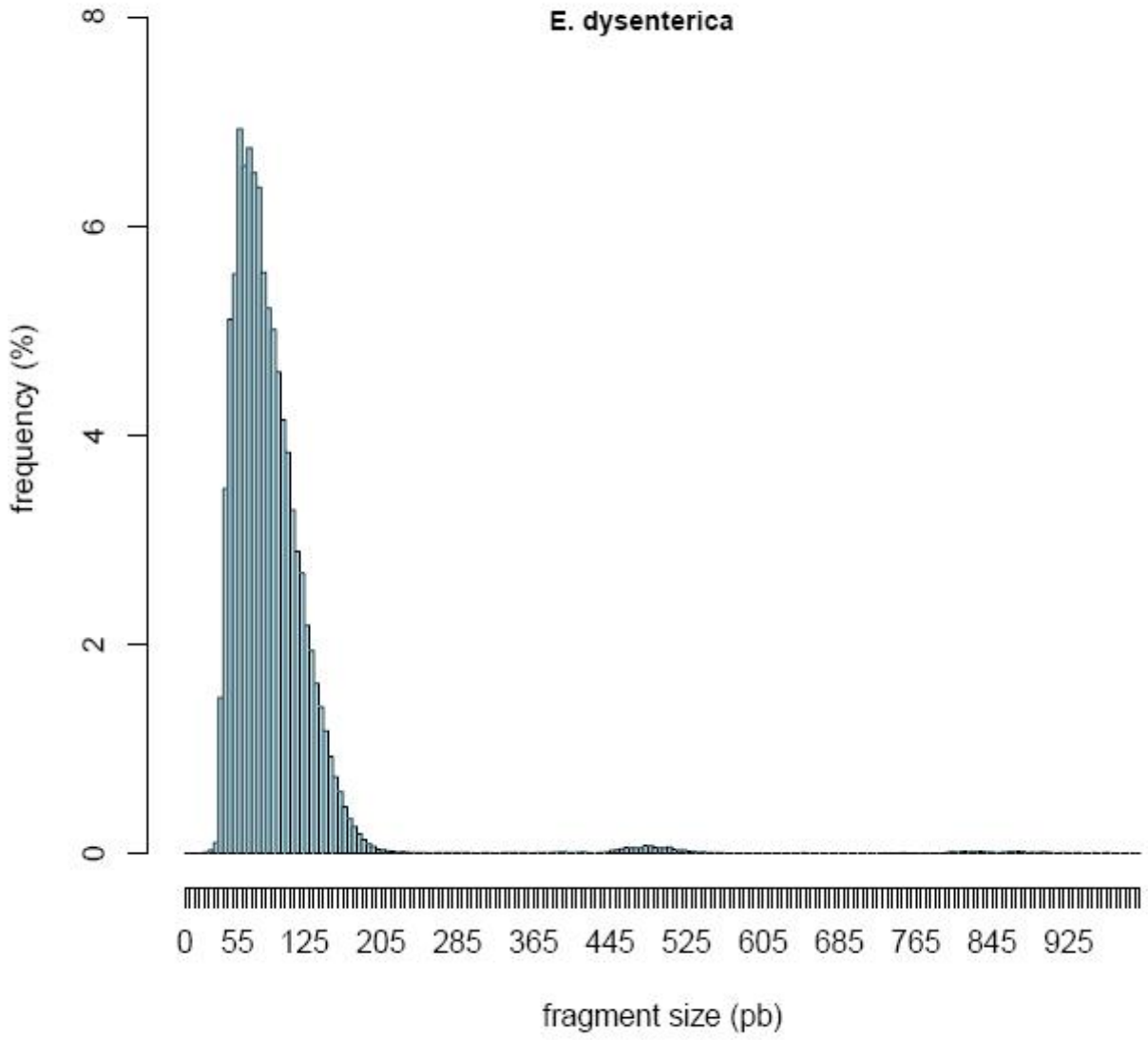


Figura 3 – Distribuição de frequência dos tamanhos de fragmentos sequenciados de *Eugenia dysenterica*.

A Tabela 1 apresenta os resultados das análises de estatística descritiva sobre os tamanhos dos fragmentos sequenciados. O sequenciamento teve uma cobertura estimada de 2,56x, admitindo que o genoma de *Eugenia dysenterica* tenha aproximadamente 680Mb.

Tabela 1 – Estatísticas descritivas dos tamanhos de fragmentos sequenciados (em pb).

Média	93,3
Variância	5221,7
Desvio padrão	72,3
Erro padrão	0,1
Amplitude total	980
CV%	77,4

Foram identificados 412 SNP putativos sem inserções ou deleções (*indel*) e com valores de qualidade maiores que 200. Uma amostra dos SNP putativos encontrados está representada na Tabela 2.

Tabela 2 – Marcadores SNP putativos de *Eugenia dysenterica* encontrados pela análise: posição do SNP no *draft assembly* e valores de qualidade associados.

#CHROM	POSIÇÃO	SNP	QUAL	#CHROM	POSIÇÃO	SNP	QUAL
jcf7180000100910	1787	A/G	225	jcf7180000101654	238	T/C	225
jcf7180000100922	2148	A/G	225	jcf7180000101716	90	A/G	225
jcf7180000100936	2383	C/A	225	jcf7180000102366	252	A/G	224
jcf7180000100952	272	C/T	225	jcf7180000102489	296	T/C	225
jcf7180000100974	421	T/C	225	jcf7180000102582	244	G/A	225
jcf7180000100991	945	A/T	210	jcf7180000102639	269	T/A	222
jcf7180000101042	608	A/G	225	jcf7180000102697	58	T/C	223
jcf7180000101078	140	A/G	211	jcf7180000105035	387	T/C	225
jcf7180000101136	261	G/A	205	jcf7180000105433	300	C/T	225
jcf7180000101179	184	A/G	225	jcf7180000105590	226	C/T	225
jcf7180000101189	142	C/T	225	jcf7180000105783	56	C/G	213
jcf7180000101326	119	T/C	225	jcf7180000106069	186	T/C	227
jcf7180000101348	179	A/G	225	jcf7180000111224	65	A/G	203
jcf7180000101492	501	C/T	225	jcf7180000116478	287	C/T	222

A análise em busca de regiões microssatélites permitiu a identificação de um total de 57051 locos microssatélites e 4758 de microssatélites compostos, considerando o número mínimo de repetição de motivos como cinco. Para alguns destes locos foram desenhados *primers* (Tabela 3).

Tabela 3 – *Primers* SSR selecionados no genoma de *Eugenia dysenterica.*

loco	Sequências dos *primers* (*forward* e *reverse*)	SSR	tamanho	Tm (°C)	GC (%)
Edy_101	ACGGTGACAAATCCCAAGAG CTGATGGGCATTGTCTGATG	$(CAT)_6$	173	60.0 60.1	50.0 50.0
Edy_102	GGGGATGCTCATATAGCAGTTT TGCCCTAAACACAGATGGAA	$(AGT)_6$	174	59.5 59.1	45.5 45.0
Edy_103	AGGGGACATCGATACAAGTGA GATATCGAATGCGAGGTGGT	$(GA)_{10}$	176	59.4 59.9	47.6 50.0
Edy_104	TGGCGAGGCTCCTGTATATC ATGCCAGACGTTTTGCCTAC	$(AGAA)_5$	195	60.2 60.1	55.0 50.0
Edy_105	CCTAAACGCAATTAACGACCT TATCGTCCCCGTCGTTTTAG	$(GGC)_7$	150	58.3 60.0	42.9 50.0
Edy_106	CTTTGAGCGTGAAGTGCAGA CCATCATTTTTCCCCCTCTC	$(AG)_{18}$	194	60.3 60.6	50.0 50.0
Edy_107	TGTTCGTTTCATGGCATTTT CGATCATGTCTCGGGTTTTT	$(AAT)_6$	196	59.0 59.9	35.0 45.0
Edy_108	CATCCCCCTCTCTTTCCTCT CGCAAGGTCAACAAAGTCTG	$(CT)_{10}$	156	59.6 59.5	55.0 50.0
Edy_109	GGCAGAGAACCCAAATGAAA GCTCCTCTGCCTCTGTTTTG	$(TCT)_{11}$	152	60.1 60.1	45.0 50.0
Edy_110	TTCTCTTGGATGACCACGTC AATTCAAACCTCGGTTACCAAA	$(TATT)_5$	150	58.6 59.8	50.0 36.4
Edy_111	GGAGTTCATCGTCATCGTCA CACGTTATTTCGCCTTGGTT	$(GGGA)_6$	195	59.6 60.0	50.0 45.0
Edy_112	AAAACCAGATCAACGGCTCA AAGTTTCATATCGGGCCTTG	$(GA)_{19}$	150	60.6 59.0	45.0 45.0
Edy_113	GACTTTCGACCACCCACAAC AGTTCACGGCCAAGAGAGAA	$(TC)_{16}$	151	60.4 60.0	55.0 50.0
Edy_114	AAGCCCAATCTTTCTTGTGC ATGGGTCGTCCCTTTTCTCT	$(AG)_{18}$	225	59.3 59.9	45.0 50.0
Edy_115	GATTCTTACCGCGTCCTTTG GGAGGTAACATGCTGTTTTGC	$(AAGAA)_5$	192	59.7 59.6	50.0 47.6
Edy_116	CTGGCCTCAAGTTGTCATCA TCACGTCAAATGCATCTATCAA	$(TCT)_{10}$	152	59.8 59.2	50.0 36.4
Edy_117	AAAAGAGCATCCGGGAAAAA AGGCGGACAATTCAGACAAG	$(TC)_{19}$	208	60.9 60.3	40.0 50.0
Edy_118	CCCTCCCACCAACAAGAATA TGGATGGGGTGAGCTTCTAC	$(TTAT)_6$	152	59.8 60.1	50.0 55.0
Edy_119	AGGATGCATGCAAATTACCC ATCCCTGTCAACAGCTCCAA	$(CATA)_9$	193	59.8 60.7	45.0 50.0
Edy_120	TCATGCGTTTCTTTTTGTCG GCTCGTGGAGGCTGTATCTC	$(AAAAAG)_5$	169	59.9 60.0	40.0 60.0
Edy_121	AGATGCACGCTCAAAGTGG CATGGTCAGCAACCGTTTTA	$(TACA)_7$	167	60.0 59.6	52.6 45.0
Edy_122	GCTCCCAACTTCAGTTGTCC CTTGCCAACGCTGATGTAGA	$(AAAAG)_5$	153	59.7 60.0	55.0 50.0
Edy_123	ATGCGAGGAAGACGAAAGAG AAGCGATCGTGGAGATGC	$(AAG)_{12}$	152	59.6 59.9	50.0 55.6
Edy_124	TCATCGTTCTGGTTCTTCGTT TCAAACACAGCCACCAATGT	$(ATAAA)_5$	170	59.7 60.0	42.9 45.0
Edy_125	TGGCTTTGAGGCGTTATTTT CGGAATTGCAGAATTGATGA	$(GATAGA)_5$	164	59.7 59.6	40.0 40.0
Edy_126	AGCTTCACCAAGATGGTTGC GAGGTCTCATTCATCCAAACG	$(GAAAG)_6$	194	60.3 59.5	50.0 47.6
Edy_127	GTTTTCACAGCGGGATCCTA GAAGGTTGAAAAAGGCGATG	$(CCTTCT)_5$	170	60.1 59.7	50.0 545.0
Edy_128	TCAATTGGCCATTTTCATCA CCACCGTCAGTTCCTTTTTC	$(TTTCTT)_5$	171	59.9 59.6	35.0 50.0
Edy_129	TGGCTGAGCCTACATCGTAA GTTTGTAGAACCCGGTCGAG	$(ATAC)_6$	161	59.4 59.6	50.0 55.0
Edy_130	GAACCACGGGTTATTCATGG AAAGCTGTTCCTCAAAACAAGA	$(TCGTG)_5$	179	60.1 58.2	50.0 36.4

A Figura 4 ilustra algumas regiões contendo microssatélites para as quais foram desenhados *primers*.

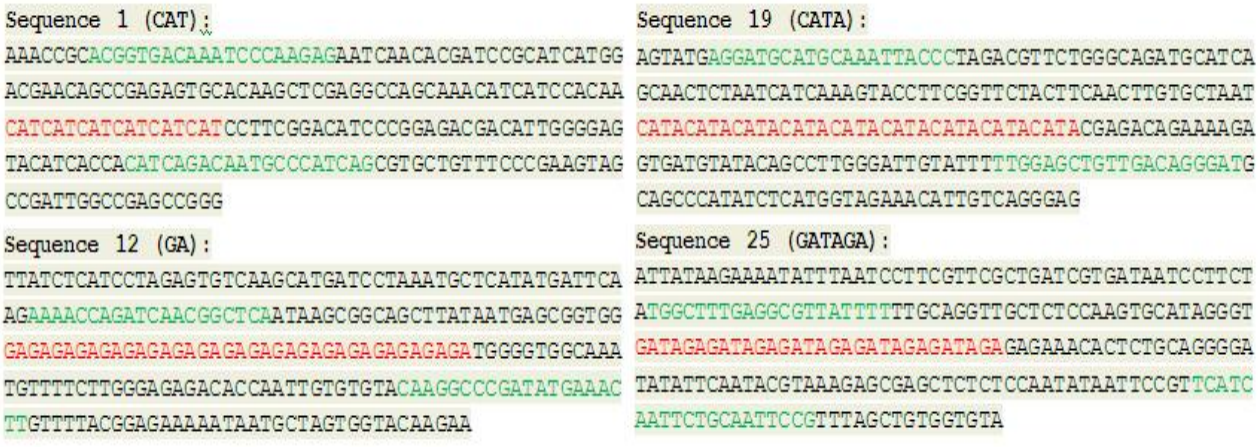


Figura 4 – Sequências do genoma de *Eugenia dysenterica* ilustrando os microssatélites na cor vermelha e os *primers* na cor verde.

4 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam que a estratégia de utilização de dados de sequenciamento de segunda geração, juntamente com as modernas ferramentas de bioinformática, permitiram a identificação de marcadores moleculares em um tempo reduzido e a um custo relativamente baixo, já que todos os programas utilizados são ofertados gratuitamente. Assim, vislumbra-se a utilização desta estratégia para o desenvolvimento de marcadores moleculares SSR e SNP para inúmeras outras espécies nativas do Cerrado, o que deverá incentivar a realização de estudos de caracterização genética voltados para a biologia da conservação deste bioma, na medida em que mais conhecimentos básicos forem obtidos acerca da sua biodiversidade.

5 CONCLUSÕES

A estratégia utilizada neste trabalho, que alia a análise de dados de sequenciamento de nova geração e uso de ferramentas de bioinformática se demonstraram bastante eficientes para a geração de marcadores moleculares para *Eugenia dysenterica*. Marcadores moleculares, tanto SSR quanto SNP, foram identificados com sucesso.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o período de desenvolvimento deste trabalho foi necessário todo um treinamento introdutório a respeito da utilização das ferramentas de bioinformática e dos conceitos de genômica associados. O treinamento e as atividades subsequentes capacitaram-me e permitiram a realização do trabalho. O volume de dados aqui utilizado, ainda que considerado pequeno, foi suficiente para a geração de um considerável número de marcadores moleculares. Claramente, a qualidade dos resultados depende da qualidade do sequenciamento previamente realizado. Estudos futuros, ampliando a quantidade de informações disponíveis acerca do genoma de espécies nativas, deverão possibilitar o desenvolvimento de novos marcadores em uma escala antes inimaginável para estas espécies.

6 REFERÊNCIAS

LUIKART, G. et al. The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing. France, v. 4, p.981-993, 2013

FERREIRA , I. M. Bioma Cerrado: um estudo das paisagens do Cerrado. Catalão, Goiás, p.1-81, 2000

ALLENDORF, F. W. et al. Genomics and the future of conservation genetics. Montana, USA, v.11, p.697-707, 2010

GOMEZ-UCHIDA, D. et al. Single nucleotide polymorphisms unravel hierarchical divergence and signatures of selection among Alaskan sockeye salmon (Oncorhynchus nerka) populations. Seattle, USA, P.1-15, 2011

HOHENLOHE, P. A. et al. Population Genomics of Parallel Adaptation in Threespine Stickleback using Sequenced RAD Tags. PLoS Genet 6(2): e1000862. doi:10.1371/journal.pgen.1000862, 2010

HOHENLOHE, P. A. et al. Next-generation RAD sequencing identifies thousands of SNPs for assessing hybridization between rainbow and westslope cutthroat trout. Montana, USA, 2011

HUFFORD, M. B. et al. Comparative population genomics of maize domestication and improvement. USA, 2012

OUBORG, N. J.et al. Conservation genetics in transition to conservation genomics. The Netherlands, p.177-1872010

POOL, J. E.; HELLMANN, I.; JENSEN, J. D.; et al. Population genetic inference from genomic sequence variation. USA, p.1-11, 2010

SEEB, J. E.; CARVALHO, G.; HAUSER, L.; NAISH, K.; ROBERTS, S.; SEEB, L. W. Single-nucleotide polymorphism (SNP) discovery and applications of SNP genotyping in nonmodel organisms. Seattle, Washington, p.1-8, 2011

STAPLEY, J. et al. Adaptation genomics: the next generation. Montpellier, France , v. 25, n.12, p.705-712, 2010

TRUONG, H. T.; RAMOS, A. M.; YALCIN, F.; de RUITER, M.; VAN DER POEL, H. J. A.; et al. Sequence-Based Genotyping for Marker Discovery and Co-Dominant Scoring in Germplasm and Populations. PLoS ONE 7(5): e37565. doi:10.1371/journal.pone.0037565. The Netherlands, 2012

LANGMEAD, B.; SALZBERG, S. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. Nature Methods. 2012, 9:357-359

LOHSE, M.; BOLGER, A. M.; NAGEL, A.; FERNIE, A. R.; LUNN, J. E.; STITT, M.; USADEL, B.; ROBI, N. A. A user-friendly, integrated software solution for RNA-Seq-based transcriptomics Nucleic Acids Res. 2012 Jul;40(Web Server issue):W622-7

ZIIMIN, A. V.; MARÇAIS, G.; PUIU, D.;SALZBERG, S. L.; ROBERTS, M.;YORKE, J. A. The MaSuRCA Genome Assembler. Submitted to Genome Biology, 2013

LI, H.; HANDSAKER, B.; WYSOKER, A.; FENNELL, T.; RUAN, J.; HOMER, N.; MARTH, G.; ABECASIS, G.; DURBIN, R. 1000 Genome Project Data Processing Subgroup (2009) The Sequence alignment/map (SAM) format and SAMtools. Bioinformatics, 25, 2078-9

MILNE, I.; STEPHEN, G.; BAYER, M.; COCK, P. J. A.; PRITCHARD, L., CARDLE, L.; SHAW, P. D.; MARSHALL, D. Using Tablet for visual exploration of second-generation sequencing data. Briefings in Bioinformatics 14(2), 193-202. 2013

MUDUNURI, S. B.; NAGARAJARAM, H. A. IMEx: Imperfect Microsatellite Extractor. Bioinformatics 23(10):1181-1187. 2007

ZUCCHI, M. I. Análise da estrutura genética de Eugenia dysenterica utilizando marcadores RAPD e SSR. São Paulo, 2012

METZKER, M. L. Sequencing technologies — the next generation. Texas, USA, v.11, p.31-46, 2010.

RELATÓRIO FINAL PIBIC 2012/2013

Avaliação da participação de receptor similar a *Toll*9 (TLR9) na indução de citocinas por formas amastigotas de isolado de *Leishmania (V.) braziliensis* em células mononucleares humanas

Priscila oliveira Souza[1], Anetícia Eduarda Maldaner, Lívia Lara Pessoni, Stéfanne Madalena Marques, Hélio Galdino Júnior, Fátima Ribeiro-Dias[1]

[1]Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, 74650-050
e-mail: pripri.oli@hotmail.com, fatimardias@gmail.com

1. RESUMO

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é um a doença infecto-parasitária causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que acomete pele e/ou mucosas. Dentre as espécies, a que mais prevalece nas infecções é *L. (V.) braziliensis*. Os *Toll-Like Receptors* (TLR) fazem parte de uma família de receptores de reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos. Em camundongos, o TLR9 parece ser importante para o controle inicial do desenvolvimento da lesão e do crescimento dos parasitos *L. (V.) braziliensis*. O objetivo deste trabalho foi avaliar se, em células humanas, o TLR9 está envolvido na indução de citocinas por *L. (V.) braziliensis.* Foram isoladas células mononucleares (CMN) do sangue periférico de indivíduos sadios, as quais foram incubadas com formas amastigotas de *L. (V) braziliensis* IMG3, na ausência ou presença de agonista ou antagonista de TLR9. Após 24 h, foram avaliadas as citocinas fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina 10 (IL-10). Os dados sugerem que o TLR9 não desempenha um papel crucial na indução destas citocinas, porém, a elevada variabilidade individual dos resultados e o baixo número de experimentos realizados não permitem uma conclusão adequada. Experimentos subsequentes devem, ao aumentar o número de amostras, permitir uma melhor definição do papel do TLR9 na infecção de células humanas com *L. (V.) braziliensis.*

PALAVRAS-CHAVE: Leishmaniose, Toll-Like receptor 9, citocinas, células mononucleares, humanos.

Revisado pela orientadora: Fátima Ribeiro Dias.

2. INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma doença infecto-parasitária, causada por protozoários do gênero *Leishmania,* que acomete pele e/ou mucosas. *Leishmania* é um parasito transmitido pela picada de um inseto vetor dos gêneros *Phlebotomus* ou *Lutzomyia.* A maioria das infecções ocorre como zoonoses entre animais silvestres, geralmente roedores, sendo o homem um hospedeiro acidental no ciclo de transmissão (GONTIJO & CARVALHO 2003; DESJEUX 2004). Durante o seu ciclo de vida, o parasito apresenta dois estágios, a forma amastigota, que vive em macrófagos nos hospedeiros vertebrados, e a forma promastigota, que vive no intestino do inseto vetor ou é encontrada em culturas axênicas (ASHFORD, 2000).

No Brasil, as três principais espécies de *Leishmania* causadoras de LTA pertencem a dois subgêneros: *Viannia (L. (V.) braziliensis* e *L. (V.) guyanensis)* e *Leishmania (L. (L.) amazonensis)*. Dentre estas espécies, *L.(V.) brasiliensis* é a mais prevalente, causando desde lesões cutâneas localizadas, disseminadas até a forma mucosa, que atinge as mucosas nasal e orofaríngea (ASHFORD, 2000; GONTIJO & CARVALHO, 2003; BRASIL, 2007).

Em seres humanos, as características do parasito e da resposta imune do hospedeiro definem as diferentes formas clínicas da infecção causada por *Leishmania*, porém, independente de qual seja a espécie envolvida, a cura clínica é obtida após indução de eficiente resposta imune celular. Na leishmaniose cutânea localizada (LCL), quando é causada por *L. (L.) amazonensis*, a lesão apresenta um intenso infiltrado inflamatório de células mononucleares, com macrófagos apresentando grande número de parasitos em vacúolos parasitóforos. Já na infecção causada por *L. (V.) braziliensis*, o infiltrado é menos intenso e os parasitos são escassos nos macrófagos (SILVEIRA et al., 2004). Na forma grave da LTA, a leishmaniose cutaneomucosa (LCM), os pacientes apresentam forte resposta imune celular e progressiva destruição tecidual. A resposta imune celular avaliada na intradermorreação, com antígenos de *Leishmania*, é mais forte do que em pacientes com LCL (CONVIT et al., 1993). Nas lesões, há um intenso infiltrado inflamatório rico em linfócitos e plasmócitos, com poucos macrófagos contendo escassos parasitos. A maioria dos linfócitos é T CD4+ com perfil Th1, ou seja, com elevada expressão de interferon gama (IFNγ) e fator de necrose tumoral (TNF), o que pode ser acompanhado ou não da expressão de interleucina -4 (IL-4) (CÁCERES-DITTMAR et al., 1993; PIRMEZ et al., 1993; AMATO et al., 2003; SILVEIRA et al., 2004).

No início das infecções, os receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) desempenham um papel significante no reconhecimento dos agentes patogênicos. Esta família de receptores possui vários membros, incluindo *Toll-like receptors* (TLR), que reconhecem diferentes padrões moleculares associados a patógenos (JANSSENS E BEYAERT, 2003a e 2003b). Os TLRs iniciam respostas inatas, levando à produção de citocinas inflamatórias por macrófagos e diferentes subtipos de células dendríticas (DC), e interferons do tipo I (IFN) por monócitos, macrófagos e células dentríticas (KAWAI et al, 2011). Após o reconhecimento de moléculas do patógeno pelos receptores celulares, ocorre o início da resposta imune inata, a qual envolve os TLRs, assim como citocinas pro-inflamatórias, tais como o TNF, produzido por macrófagos, e o IFNγ, produzido por células NK (SCHARTON & SCOTT, 1993). O TNF atua aumentando a atividade microbicida dos macrófagos/eliminação dos parasitos, bem como no processo inflamatório. Por outro lado, a IL-10, uma citocina antiinflamatória, que pode ser secretada por várias células da imunidade adaptativa e também por células do sistema imune inato, pode inibir o controle da infecção, bem como o processo inflamatório (SARAIVA & O'GARRA, 2010).

Durante a infecção por *Leishmania*, o reconhecimento de moléculas do parasito pelos TLR parece ser importante para o controle da infecção em murinos (TUON et al., 2008). Os murinos, inoculados com *L.(V.) braziliensis,* apresentam um aumento do tamanho da lesão e da carga parasitária durante as primeiras semanas de infecção, quando comparados com camundongos selvagens, ou seja, a expressão de TLR9 parece ser importante para o controle inicial do desenvolvimento da lesão e do crescimento dos parasitos (WEINKOPFF et al., 2013). O TLR9 é localizado dentro de vesículas endossômicas e é responsável por reconhecer DNA de microrganismos (TAKESHITA et al., 2001). Tuon et al. (2010) avaliaram a expressão de TLR9 em biópsias de lesões de pacientes com leishmaniose cutânea, infectados com *L. (V.) braziliensis,* associando a maior expressão deste receptor à formação de granulomas, importantes para a contenção do parasito. Mais estudos são necessários para avaliar a participação de TLR9 na infecção por *L. (V.) braziliensis*. O papel do TLR9 na produção das citocinas TNF e IL-10, durante a infecção por formas amastigotas de *L. (V.) braziliensis* ainda não foi investigado.

3. **OBJETIVO:** Avaliar a participação do TLR9 na produção de citocinas (TNF e IL-10) induzida por formas amastigotas de *L. (V.) braziliensis* em culturas de células mononucleares humanas.

4. METODOLOGIA

4.1 Obtenção do sangue periférico humano: Foram incluídos doadores sadios, maiores de 18 anos. O sangue venoso foi colhido em tubos à vácuo contendo EDTA (BD Vacutainer TM, Juiz de Fora, MG, Brasil). Os doadores (Bancos de Sangue do Hospital das Clínicas/UFG e INGOH) leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, antes de doarem o sangue. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFG, protocolo 165/08.

4.2 Obtenção de células mononucleares (CMN) do sangue: O sangue (10 mL) foi centrifugado (240 g, 15 min, temperatura ambiente, T.a.). O plasma foi descartado e o sangue diluído (v/v) em solução de EDTA 0,01 M em salina tamponada com fosfato (PBS) pH 7,3 (PBS-EDTA) e aplicado sobre gradiente de densidade (Percoll, Amershan Biosciences, Uppsala, Suécia; d = 1,077). Após centrifugação (1.400 g, 15 min, T.a.), o anel de CMN foi colhido e as células foram lavadas em solução de PBS-EDTA (600 g, 10 min, T.a.). As CMN foram ressuspendidas em meio RPMI 1640 suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB, Gibco, Brasil), 2 mM de L-glutamina, 11 mM de bicarbonato de Sódio, 100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina (Sigma), referido como meio completo. As CMN foram quantificadas e distribuídas (3 x 10^6 células/mL, volume final 400 µL) em placas de 24 poços (Corning Costar).

4.3 Cultivo dos parasitos e obtenção das formas amastigotas de *L. (V.) braziliensis*: O isolado MHOM/BR/2003/IMG (do *Leishbank* IPTSP/UFG), obtido de lesões cutâneas de um paciente com LCL, foi cultivado em meio Grace (Grace's Insect Medium, Sigma Chem. Co., St Louis, MD, EUA) suplementado com 20% de SFB (Gibco) inativado, 2 mM de L-glutamina (Sigma), 100 U/mL de penicilina (Sigma) e 100 µg/mL de estreptomicina (Sigma), sendo assim, considerado meio completo. Os parasitos, na fase estacionária do crescimento (6 dias), foram lavados em PBS (1.500g, 15 min, 10ºC) três vezes e quantificados em hematocitômetro, após fixação (formalina 0,1%). Os parasitos (5 x 10^6) foram inoculados no coxim plantar das patas traseiras de camundongos C57BL/6 deficientes em INFγ. Após o desenvolvimento das lesões (~3-4 semanas), os camundongos foram eutanasiados para a retirada das lesões. As formas amastigotas foram obtidas de acordo com a técnica de Ahmed et al. 2003 e Lang et al. 2005. As lesões foram maceradas em PBS pH 7,2 e a suspensão foi centrifugada (114g, 5 min, 10ºC) para a retirada dos fragmentos de tecido. Em seguida, foi realizada outra centrifugação (1.500g, 15 min, 10ºC), sendo os parasitos ressuspendidos em 1

mL de solução de lise de hemácias (90% NH_4Cl 0,16 M; 10% Tris 0,17 M), homogeneizados e incubados por 3 min (temperatura ambiente, T.a.). Após lavagem para retirar a solução de lise (PBS pH 7,2; 1.500g, 15 min, 10ºC), os parasitos foram ressuspendidos em 1 mL PBS pH 7,2, e foram acrescentados 900 µL de Percoll 100%. A solução foi homogeneizada, sobreposta de 1 mL de Percoll 40% e 1 mL de PBS pH 7,2. Após centrifugação (2.500g, 30 min, 10ºC), foram obtidos dois anéis e as formas amastigotas foram coletadas do anel de Percoll 100%. Após lavagem em PBS (2.500g, 20 min, 10ºC), as formas amastigotas foram ressuspendidas em 1 mL de PBS e uma alíquota (10 µL) foi fixada com solução formalina 0,1% para quantificação. Os parasitos foram utilizados para infecção das CMN.

4.4 Cultura de CMN e tratamentos: As CMN (3 x 10^6/mL) foram pré-tratadas ou não com IFNγ (100 U/mL, Peprotech, Ribeirão Preto, SP, Brasil) por 24 h, 37 ºC, 5% CO_2 e cultivadas na presença ou ausência de formas amastigotas (relação parasito:célula de 1:5 ou 2 a 4 parasitos por monócitos, considerando 5-10% de monócito nas CMN) em placas de 24 poços. Nos experimentos de avaliação de TLR9, após incubação das CMN sem ou com IFNγ, foi adicionado o bloqueador de TLR9 (ODN , Imgenex, San Diego, CA) 40 minutos antes da adição dos parasitos e/ou o agonista de TLR9 (CpG-ODN, Imgenex, San Diego, CA) juntamente com os parasitos (3 x 10^5 amastigotas). As culturas foram mantidas em atmosfera úmida, contendo 5% de CO_2 a 36 °C por 24 h. Após esse período, o sobrenadante das culturas foi colhido para avaliação da presença de TNF e IL-10.

4.5 Dosagens de TNF e IL-10 por ELISA: TNF e IL-10 foram dosadas nos sobrenadantes de cultura por ensaio imunoenzimático (ELISA), utilizando anticorpos monoclonais purificados de sobrenadantes de hibridomas (gentilmente doados pelo Dr. Giorgio Trinchieri, NIH, EUA), usando coluna de proteína G (Amersham Pharmacia, EUA), conforme instruções do fabricante. Primeiramente, as placas foram sensibilizadas com 100 µL de anticorpo anti-TNF (1 µg/mL, clone B 154.9) ou anti-IL-10 (clone JES907, 0,5 mg/mL), 18 h, 4 °C. Em seguida, as placas foram lavadas com PBS TWEEN 20 (0,05%) quatro vezes e incubadas novamente com 200 µL de uma solução de bloqueio composta de salina tamponada com fosfatos (PBS) pH 7,3 e 3% de SFB, por 40 min. Após este período, as placas foram lavadas novamente e 80 µL do sobrenadante das culturas foram aplicados em duplicatas, sendo as placas incubadas por 24 h, a 4 °C. Posteriormente, as placas foram lavadas quatro vezes com PBS TWEEN 20 e 80 µL do segundo anticorpo (Clone B157.7 anti-TNF biotinilado, 1,0 µg/mL ou clone B27 anti-IL-10 biotinilado, 5,0 µg/mL) foram adicionados. Após 1 h de

incubação à 37°C, as placas foram lavadas quatro vezes e foram acrescentados 80 µL de conjugado estreptoavidina-peroxidase (Sigma; 1:2000). Após 40 min de incubação, à temperatura ambiente, as placas foram lavadas com PBS TWEEN 20, por oito vezes, e 80 µL de solução substrato (ortofenilenodiamina [OPD] 5 mg e peróxido de hidrogênio (30%) 1:1000 diluídos em tampão citrato-fosfato, pH 5,1) foram adicionados aos poços. Após 25 min (T.a.), para finalizar a reação, foram acrescentados 20 µL de solução de ácido sulfúrico 2 N. A leitura da densidade óptica foi feita em um leitor de microplacas (Multskam, Thermo Labsistems) com filtro de 492 e 620 nm como referência. A concentração do TNF e da IL-10 foi determinada de acordo com uma curva padrão, com limite de detecção de 50 pg/mL para o TNF e de 15 pg/mL para IL-10.

4.6 Análises estatísticas: Os dados foram apresentados como medianas e interquartis, sendo avaliados pelo teste de Mann-Whitney. O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

Foram realizados experimentos para avaliar a produção das citocinas TNF e IL-10 em culturas de CMN com formas amastigotas de *L.* (*V.*) *braziliensis* IMG3. Como pode ser observado na Figura 1, o co-cultivo das CMN com as formas amastigotas induziu um aumento estatisticamente significativo na produção de TNF (IFNγ: 100,0 [100,0 – 267,0] pg/mL *vs* IFNγ + amastigotas 196,0 [100,0 – 1.085,0] pg/mL, n = 13, $p < 0,05$). Como mostrado na Figura 1B, a IL-10 também foi induzida pelas formas amastigotas de *L. (V.) braziliensis* nas CMN pré-tratadas com IFNγ, porém em baixas quantidades (IFNγ: 15,0 [15,0 – 51,6] pg/mL, n = 7; IFNγ + amastigotas: 29,5 [15,0 – 121,4] pg/mL, n = 10, $p < 0,05$). Quando as células foram cultivadas com as formas amastigotas na ausência de IFNγ, as quantidades de TNF e de IL-10 ficaram abaixo do limiar de detecção do ensaio (dados não mostrados).

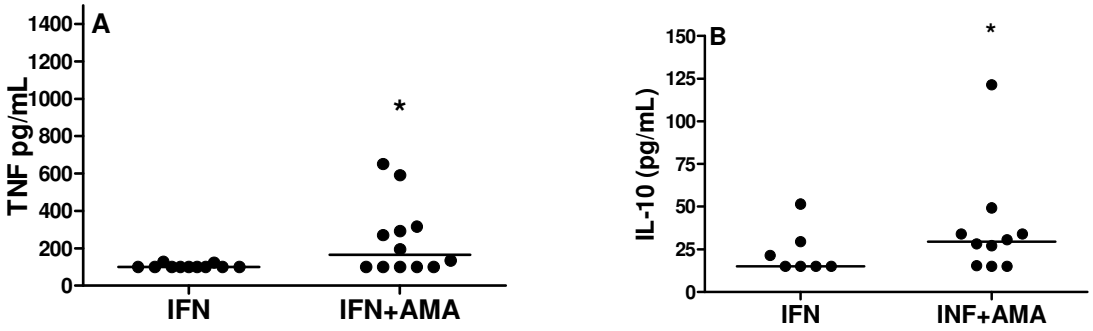


Figura 1. Formas amastigotas de *L.* (*V.*) *braziliensis* induzem a produção de TNF e IL-10 em células mononucleares humanas pré-tratadas com IFNγ. As CMN (1,5 x 10^6 células/poço) foram incubadas por 24 h com IFNγ (IFN, 100 U/mL), sendo em seguida, adicionadas as formas amastigotas (AMA, 3 x 10^5 parasitos/poço). Os sobrenadantes foram colhidos após 24 h de incubação e as concentrações de TNF e IL-10 foram mensuradas pelo método de ELISA. O limiar de detecção do TNF foi de 50 pg/mL e o da IL-10 foi de 15 pg/mL. São apresentados os valores individuais e as linhas horizontais são as medianas (em A, n = 13; em B, n = 7 e n = 10). *p < 0,05 (IFN *vs* IFN + AMA)

Em seguida, foram realizados dois experimentos para padronização das concentrações do agonista de TLR9 (CpG), sendo utilizadas concentrações de 2,5 µg/mL, 5 µg/mL e 10 µg/mL, adicionado junto com os parasitos, para obtenção de uma curva concentração-resposta. Em seguida, também foram realizados experimentos utilizando o antagonista de TLR9 (ODN). O bloqueador foi adicionado às culturas de CMN 40 min. antes da adição das formas amastigotas.

Os resultados dos experimentos com o agonista de TLR9 (CPG) podem ser observados na Tabela 1 e os resultados dos experimentos com o antagonista de TLR9 (ODN) podem ser observados na Tabela 2. Observa-se que há uma tendência a um aumento da produção da citocina TNF e uma diminuição da citocina IL-10 quando as culturas são tratadas com agonista de TRL9. Entre cinco pacientes, dois apresentaram um aumento da citocina TNF, e destes cinco, quatro apresentaram uma diminuição na produção de IL-10 quando tratados com agonista de TLR9. Quando tratados com antagonista de TLR9 não há uma definição quanto ao efeito na produção das citocinas, pois dos quatro experimentos realizados, em apenas dois houve produção de citocinas. Em um deles ,a produção da citocina diminuiu ~50% (IFN+AMA = 791,0 pg/mL *vs* IFN+AMA+CPG5 = 398,0 pg/mL) e, em outro, a produção aumentou levemente (IFN+AMA = 1.079,0 pg/mL *vs* IFN+AMA+ODN = 1.245,0 pg/mL). Quanto à citocina IL-10 houve uma tendência à diminuição da produção.

Tabela 1: Dosagens das citocinas TNF e IL-10 em culturas de CMN tratadas com agonista de TLR9 e incubadas com formas amastigotas de *L.* (*V.*) *braziliensis* IMG3.

Experimento	Tratamento	TNF (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)
1	Meio	327,616	102,239
	AMA	269,349	145,915
	IFN	403,272	16,681
	IFN+AMA	607,806	147,219
	IFN+CPG 2,5	277,455	59,105
	IFN+CPG 5	434,017	0
	IFN+CPG 10	127,480	6,520
	IFN+AMA+CPG 5	917,890	132,551
	IFN+AMA+CPG 10	750,181	22,165
2	Meio	189,294	180,357
	AMA	161,934	179,596
	IFN	231,778	189,140
	IFN+AMA	255,669	128,749
	IFN+CPG 2,5	303,802	105,933
	IFN+CPG 5	292,656	111,800
	IFN+CPG 10	277,455	63,342
	IFN+AMA+CPG 5	452,764	151,565
	IFN+AMA+CPG 10	549,032	124,403
3	Meio	228,308	160,039
	AMA	206,015	144,394
	IFN	490,799	223,479
	IFN+AMA	521,672	219,579
	IFN+CPG 5	84,920	32,921
	IFN+CPG 10	143,694	54,216
4	Meio	139,640	153,520
	AMA	139,640	174,272
	IFN	123,386	47,000
	IFN+AMA	286,576	128,314
	IFN+CPG 2,5	166,494	56,606
	IFN+CPG 5	130,014	20,752
	IFN+CPG 10	139,640	27,163
	IFN+AMA+CPG 5	199,428	22,599
	IFN+AMA+CPG 10	224,255	24,664
5	MEIO	126,974	138,636
	AMA	100,627	84,529
	IFN	305,057	81,231
	IFN+AMA	356,496	106,150
	IFN+AMA+CPG 2,5	380,310	58,236
	IFN+AMA+CPG 5	346,363	37,702
	IFN+AMA+CPG 10	295,696	33,790

As CMN (3 x 10^6/mL) foram pré-tratadas ou não com interferon gama (IFNγ, 100 U/mL) por 24 h, 37ºC, 5% CO_2. Após, foi adicionado o agonista de TLR9 (CpG) juntamente com os parasitos (3 x 10^5 amastigotas). Após 24 h de incubação, foi colhido o sobrenadante e quantificadas as concentrações das citocinas TNF e IL-10 por meio do método de ELISA. São apresentados os valores individuais de cada experimento e especificados os tratamentos utilizados: AMA = formas amastigotas; IFN = interferon gama; CpG = Agonista de TLR9. Em cinza, a combinação de estímulos que induz a produção de citocinas TNF e IL-10, para comparação com os demais tratamentos.

Tabela 2: Dosagens das citocinas TNF e IL-10 em culturas de CMN tratadas com antagonista de TLR9 e incubadas com formas amastigotas de *L.* (*V.*) *braziliensis* IMG3.

Experimento	Tratamento	TNF (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)
6	Meio	0	10,261
	AMA	0	3,692
	AMA+IFN	0	13,844
	IFN+AMA+ODN	0	3,692
7	Meio	0	81,324
	AMA	0	3,692
	AMA+IFN	791	3,692
	IFN+AMA+ODN	398	3,692
8	Meio	0	37,134
	AMA	0	219,869
	AMA+IFN	0	20,413
	IFN+AMA+ODN	0	3,692
9	Meio	0	278,392
	AMA	0	3,692
	AMA+IFN	1079	308,848
	IFN+AMA+ODN	1245	218,376

As CMN (3 x 10^6/mL) foram pré-tratadas ou não com interferon gama (IFNγ, 100 U/mL) por 24 h, 37ºC, 5% CO_2. Após, foi adicionado o bloqueador de TLR9 (anti-TLR9, ODN) 40 min antes da adição dos parasitos (3 x 10^5 amastigotas). Após 24 h de incubação, foi colhido o sobrenadante e quantificadas as concentrações das citocinas TNF e IL-10 por meio do método de ELISA. São apresentados os valores individuais de cada experimento e especificados os tratamentos utilizados: AMA = formas amastigotas; IFN = interferon gama; ODN = antagonista de TLR9. Em cinza, a combinação de estímulos que induz a produção de citocinas TNF e IL-10, para comparação com os demais tratamentos.

6. DISCUSSÃO

O papel do TLR9 vem sendo investigado em camundongos infectados com *L.* (*V.*) *braziliensis*, apontando um papel importante para este receptor no controle do desenvolvimento das lesões e do parasito, durante as primeiras semanas de infecção (WEINKOPFF et al., 2013). Em seres humanos, o presente trabalho foi uma primeira tentativa de avaliar a participação do TLR9 na ativação de CMN por *L.* (*V.*) *braziliensis* para a produção de citocinas pro- (TNF) e anti-inflamatória (IL-10). Devido à inconsistência dos resultados não foi possível tirar conclusões sobre a participação do TLR9 na indução de citocinas por *L.* (*V.*) *braziliensis.* É conhecido que em seres humanos, geneticamente diferentes, há uma grande variabilidade nas respostas imunes individuais, o que torna necessária a avaliação de um elevado número de amostras para definir um comportamento de grupo. Portanto, mais experimentos devem ser realizados para alcançarmos o objetivo do presente trabalho.

Em seres humanos, Tuon et al. (2010) observaram a presença de TLR9 em fragmentos de biópsias de lesões cutâneas causadas por *L.* (*V.*) *braziliensis*. Estes autores observaram uma associação entre uma maior expressão deste receptor à formação de granulomas, os quais são importantes para a contenção do parasito. Portanto, acreditamos que ao aumentarmos o número de indivíduos avaliados no presente trabalho, possa ser possível observar que o TLR9 participa da ativação de CMN humanas por *L.* (*V.*) *braziliensis.*

7. CONCLUSÃO

Este estudo não foi conclusivo para demonstrar se o parasito *L. (V.) braziliensis* utiliza ou não o receptor TLR9 para ativar a imunidade inata ou se a utilização deste receptor por um agonista apresentaria um sinergismo com as formas amastigotas de *L.* (*V.*) *braziliensis* na indução de citocinas.

8. DIFICULDADES ENCONTRADAS

Os experimentos são demorados, requerendo cerca de dois meses para cada um ter seus resultados analisados. Não foi possível realizar uma quantidade maior de experimentos, pois o agonista e o antagonista de TLR9 acabaram durante os experimentos de padronização e como são importados, não houve tempo hábil para fazer um novo pedido, pois não chegariam a tempo para a realização de novos experimentos.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, S.; COLMENARES, M.; SOONG, L.; GOLDSMITH-PESTANA, K.; MUNSTERMANN, L.; MOLINA, R.; McMAHON-PRATT, D. Intradermal Infection Model for Pathogenesis and Vaccine Studiesof Murine Visceral Leishmaniasis. **Infection and immunity.** v. 71, n. 1, p. 401-410, 2003.
- AMATO VS, DE ANDRADE HF, DUARTE MI, 2003. Mucosal leishmaniasis: in situ characterization of the host inflammatory response, before and after treatment. *Acta Trop 85*: 39-49.
- ASHFORD, RW. The leishmaniases as emerging and reemerging zoonoses. **Int J Parasitol.**v.30, p.1269-1281, 2000.

CACERES-DITTMAR G, TAPIA FJ, SANCHEZ MA, YAMAMURA M, UYEMURA K, MODLIN RL, BLOOM BR, CONVIT J, 1993. Determination of the cytokine profile in American cutaneous leishmaniasis using the polymerase chain reaction. *Clin Exp Immunol 91*: 500-505.

- CONVIT, J.; ULRICH, M.; FERNANDEZ, CT.; TAPIA, FJ.; CACERES-DITTMAS, G.; CASTES, M.; RONDON, AJ. The clinical and immunological spectrum of American cutaneous leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, p. 444-448, 1993.
- DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. Comparative Immunology, **Microbiology and Infectious Diseases**, Oxford, v. 27, n. 5, p. 305-318, Sept. 2004.
- GONTIJO B, CARVALHO MLR, 2003. American cutaneous leishmaniasis. *Rev Soc Bras Med Trop 36*: 71-80.
- JANSSENS, S.; BEYAERT, R. Functional diversity and regulation of different interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK) family members. **Mol Cell**. v. 11, p. 293–302, 2003a.
- JANSSENS S, BEYAERT R. Role of toll-like receptors in pathogen recognition. **Clin Microbiol Rev.** v. 16, n. 4, p. 637–46, 2003b.
- KAWAI, T AND AKIRA, S. Toll-like Receptors and Their Crosstalk with Other Innate Receptors in Infection and Immunity. **Immunit**. v. 34, n. 5, p. 637–650, 2011.
- LANG, T.; GOYARD, S.; LEBASTARD, M.; MILON, G. Bioluminescent Leishmania expressing luciferase for rapid and high throughput screening of drugs acting on amastigote-harbouring macrophages and for quantitative real-time monitoring of parasitism features in living mice. **Cellular Microbiology.** p. 283-392, 2005.
- Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. 2ª Edição. 182p. Ed. Ministério da Saúde, 2007. (http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_lta_2ed.pdf).
- PIRMEZ C, YAMAMURA M, UYEMURA K, PAES-OLIVEIRA M, CONCEICAO-SILVA F, MODLIN RL, 1993. Cytokine patterns in the pathogenesis of human leishmaniasis. *J Clin Invest 91*: 1390-1395.
- SARAIVA, M.; O'GUARRA, A. The regulation of IL-10 prodution by immune cells**.** **Nat Rev Immunol**, v 10, n 3, p.170-81, 2010**.**
- SCHARTON, TM.; SCOTT, P. Natural killer cells are a source of interferon gamma that drives differentiation of CD4+ T cell subsets and induces early resistance to Leishmania major in mice. **J Exp Med.** v.178, p. 567-577, 1993.

- SILVEIRA FT, LAINSON R, CORBETT CE, 2004. Clinical and immunopathological spectrum of American cutaneous leishmaniasis with special reference to the disease in Amazonian Brazil: a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz 99*: 239-251.
- TAKESHITA,F.; LEIFER,CA.; GURSEL, I.; ISHII, KJ.; TAKESHITA, S.; GURSEL, M.; KLINMAN, DM. Cutting Edge: Role of Toll-Like Receptor 9 in CpG DNA-Induced Activation of Human Cells**. J Immunol.** v.167, p. 3555-3558, 2001.
- TUON FF, AMATO VS, BACHA HA, ALMUSWI T, DUARTE MI, AMATO NETO V. Toll-like receptors and leishmaniasis. **Infect Immun.** v. 76, p. 866-872, 2008.
- TUON, FF.; FERNANDES, ER.; PAGLIARI, C.; DUARTE, MIS.; AMATO, VS.; The expression of TLR9 in human cutaneous leishmaniasis is associated with granuloma.**Paras Immunol.**v.32, p. 769-772, 2010.
- WEINKOPFF T, MARIOTTO A, SIMON G, HAUYON-LA TORRE Y, AUDERSET F, SCHUSTER S, ZANGGER H, FASEL N, BARRAL A, TACCHINI-COTTIER F, 2013. Role of Toll-like receptor 9 signaling in experimental Leishmania braziliensis infeccion. *Infect Immun* 81(5):1575-84.

- **Exequibilidade financeira: auxílio Edital MCT/CNPq 14/2010-2011.**

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS NA ÁGUA SUPERFICIAL DO RIO MEIA PONTE

Orientando: Priscila Ramos Freitas

[1]**Orientadora:** Mariângela Fontes Santiago

Unidade Acadêmica: Faculdade de Farmácia - UFG

Endereço Eletrônico: pri_priscilarf@yahoo.com.br

RESUMO

Cada vez mais há redução da quantidade de água potável disponível e em contrapartida há o aumento da população, sendo assim o abastecimento público de água é um fator preocupante para a humanidade tendo em vista que há grande tendência a deterioração da qualidade dos mananciais e a escassez de água. Com objetivo de avaliar a qualidade da água do rio Meia Ponte foi realizada análises físico-químicas e microbiológicas como: Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Oxigênio Dissolvido (OD), Turbidez, pH, Demanda Química de Oxigênio (DQO), Fósforo total, Nitrogênio total, Temperatura, Sólidos totais e Coliformes termotolerantes e realizou-se cálculos do Índice de Qualidade da Água (IQA). Por meio dos parâmetros fornecidos pela empresa Saneamento de Goiás - S/A (SANEAGO) obteve-se valores de IQA. A análise e comparação dos resultados permitiu detectar a presença de degradação no rio Meia Ponte devido a vários parâmetros obtidos acima do limite permitido pela Resolução CONAMA 357 de 2005 e pelos valores de IQA que apontaram para “muito ruim” e “ruim”, além de confirmar que o perímetro urbano influencia na qualidade da água.

PALAVRAS CHAVE

Análise Físico-Química, Meia Ponte, parâmetros, água, índice de qualidade.

1. INTRODUÇÃO

Em julho de 2010 a Organização das Nações Unidas em assembléia reconheceu o acesso a água potável e ao saneamento básico como um direito humano universal e a preocupação se deve a falta de água em quantidade e/ou qualidade, que atinge milhões de pessoas no mundo inteiro e a ingestão de água contaminada tem sido responsável por mais mortes do que qualquer outro tipo de violência, incluindo as guerras (UNWATER, 2011).

[1] Revisado pelo Orientador.

A quantidade e qualidade do abastecimento público de água é uma preocupação da humanidade, devido a escassez de água e a deterioração da qualidade dos mananciais. A qualidade vem sendo comprometida pelo lançamento de efluentes e resíduos, o que exige investimento em estações de tratamento e modificações na dosagem de produtos para garantir a qualidade da água na saída das estações (BRASIL, 2006).

O Brasil é um país privilegiado pelo volume de recursos hídricos de seu território, mas não pela sua distribuição, já que esses recursos se concentram em locais de baixa densidade populacional (ANA, 2010). A população brasileira é de 190.732.694 pessoas e 84% desse total vivem em áreas urbanas (IBGE, 2010) e nas ultimas décadas a população rural cada vez mais tem migrado para as áreas urbanas aumentando as demandas de serviços básicos como moradia e saneamento.

Entre 2000 e 2008, o percentual de municípios brasileiros que tinham rede geral de abastecimento de água em pelo menos um distrito aumentou de 97,9% para 99,4% e os serviços de manejo de águas pluviais, que existiam em 78,6% dos municípios em 2000, chegaram a 94,5% em 2008. Em oito anos, o único serviço de saneamento que não chegou próximo à totalidade de municípios foi a coleta de esgoto por rede geral, que estava presente em 52,2% dos municípios em 2000 e passou a 55,2% em 2008. Em média 68,8% do esgoto coletado era tratado em 2008, valor superior aos 35,3% de 2000, embora menos de um terço dos municípios (28,5%) fizessem o tratamento, com acentuadas diferenças regionais nesse percentuaL (IBGE, 2010).

Há grande interesse científico em um grupo de substâncias químicas presentes no meio ambiente que podem interferir no sistema endócrino de humanos e animais e consequentemente afetar a saúde, o crescimento e a reprodução. Essas substâncias são conhecidas como Desreguladores Endócrinos (BILA et al., 2007).

O destino e a atuação desses interferentes endócrinos no organismo e no meio ambiente são diretamente relacionados com suas propriedades físico-químicas. Logo, para compreensão dos efeitos destas substâncias no meio ambiente as suas propriedades físico-químicas devem ser utilizadas como ferramentas durante os estudos. (GHISELLI et al., 2007).

Segundo Carlsson et al (2006) os produtos farmacêuticos, seus metabólitos e conjugados, são excretados principalmente na urina ou fezes e nos sistemas de tratamento de esgotos podem ser degradados, adsorvido para lodo de esgoto, ou mesmo diluído em águas superficiais. Assim o destino desses poluentes emergentes no meio ambiente é definido pelas características das próprias substâncias e pelas propriedades do meio. Para Vulliet e Cren-

Olivé (2011) é confirmado que a principal rota de entrada desses compostos no meio ambiente se dá através de efluentes de estações de tratamento de esgoto.

O comportamento dos desreguladores endócrinos nas ETE, solo e sedimentos marinhos tem sido investigado, bem como seu transporte e destino no meio ambiente. O conhecimento do destino e dos processos de transporte desses poluentes no meio ambiente é essencial para avaliar seus impactos potenciais no solo e águas naturais. (BILA et al., 2007).

As análises físico-químicas de água são realizadas para verificação dos parâmetros estabelecidos por legislações como a Resolução Nº 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) de 17 de Março de 2005 que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais, bem como as condições e padrões de lançamento de efluentes, a portaria Nº 518 da ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária de 25 de Março de 2004 que dispõe sobre a potabilidade da água e a Resolução CONAMA nº 430 de 13 de maio de 2011 que dispõe quanto às condições e aos padrões de lançamento de efluentes em corpos d'água (BRASIL, 2004; BRASIL, 2005; BRASIL, 2011).

O conceito de qualidade da água sempre possui relação com seu uso, para avaliá-lo existem diversos indicadores que expressam aspectos parciais da qualidade das águas, mas não existe um indicador único que sintetize todas as variáveis de qualidade da água. Geralmente são usados indicadores para usos específicos, tais como o abastecimento doméstico, a preservação da vida aquática e a recreação de contato primário (ANA, 2012).

O Índice de Qualidade das Águas (IQA) foi desenvolvido pela National Sanitation Foundationem em 1970 e adaptado pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) em 1975, que incorpora nove variáveis consideradas relevantes (tabela 1 abaixo) para a avaliação da qualidade das águas, tendo como determinante principal a sua utilização para abastecimento público (CETESB, 2011; ANA, 2012).

Tabela 1: Parâmetros de Qualidade da Água do IQA e respectivo peso.

PARÂMETRO DE QUALIDADE DA ÁGUA	PESO (w)
Oxigênio dissolvido	0,17
Coliformes termotolerantes	0,15
Potencial hidrogeniônico - pH	0,12
Demanda Bioquímica de Oxigênio - $DBO_{5,20}$	0,10
Temperatura da água	0,10
Nitrogênio total	0,10
Fósforo total	0,10
Turbidez	0,08
Resíduo total	0,08

Fonte: CETESB, 2011.

Os valores do IQA obtidos podem ser classificados em faixas de avaliação da Qualidade da Água (variação entre péssima, ruim, razoável, boa e ótima), segundo a tabela 2 abaixo, que varia entre os estados brasileiros (CETESB, 2011).

Tabela 2: Faixas de IQA versus Avaliação da Qualidade da Água.

Faixas de IQA utilizadas nos seguintes Estados: AL, MG, MT, PR, RJ, RN, RS	Faixas de IQA utilizadas nos seguinte Estados: BA, CE, ES, GO, MS, PB, PE, SP	Avaliação da Qualidade da Água
91-100	80-100	Ótima
71-90	52-79	Boa
51-70	37-51	Razoável
26-50	20-36	Ruim
0-25	0-19	Péssima

Fonte: CETESB, 2011.

Como esse índice avalia a condição de utilização da água para fins de abastecimento público, considerando um tratamento convencional, outros usos da água não são diretamente contemplados no IQA. Ou seja, qualquer análise de dados do IQA sempre deve considerar essa limitação (ANA, 2012).

O rio Meia Ponte atravessa 37 municípios e possui diversos usos, dentre eles a captação de água por Sistemas de Abastecimento e a diluição de efluentes. Sabendo a importância desse manancial o presente trabalho visa avaliar por meio de análises físico-químicas e microbiológicas a sua qualidade.

2. METODOLOGIA

A rota da coleta de água foi realizada no período de estiagem, em maio de 2013 de acordo com a ordem dos 06 pontos de amostragem de acordo com a tabela 3 e a figura 1 abaixo. Esses pontos foram escolhidos por serem estratégicos, abrangendo o rio Meia Ponte em todo município de Goiânia.

Tabela3: Pontos de Amostragem

Pontos	**Ponto 1**	**Ponto 2**	**Ponto 3**	**Ponto 4**	**Ponto 5**	**Ponto 6**
Local de Coleta	Captação da Estação de Tratamento de Água Eng. Rodolfo José da Costa e Silva.	Ponte Perimetral Norte	Ponte Avenida Pedro Paulo de Souza.	Ponte Br153	Ponte Avenida das Pirâmides.	Ponte Avenida São Paulo
Coordenadas	16°34'10.05"S 49°19'45.43"O	16°37'41.6"S 49°16'12.8"O	16°38'431.7"S 49°15'24.3"O	16°39'10.0"S 49°13'00.2"O	16°40'52.7"S 49°11'48.6"O	16°41'48.7"S 49°11'37.1"O

Ponto de Referência	_____	Antes da ETE Dr. Helio Seixo de Brito (ETE Goiânia)	Perto dos Bombeiros, após a ETE Goiânia	Ponte inferior após Setor Jaó.	Antes da ETE Aruanã.	Após a ETE Aruanã.

Fonte: Produção do autor.

O percurso tem aproximadamente 35km de extensão e alcança desde o local de captação de água para abastecimento até pontos de lançamento de efluente tratado e áreas de provável lançamento de esgoto bruto.

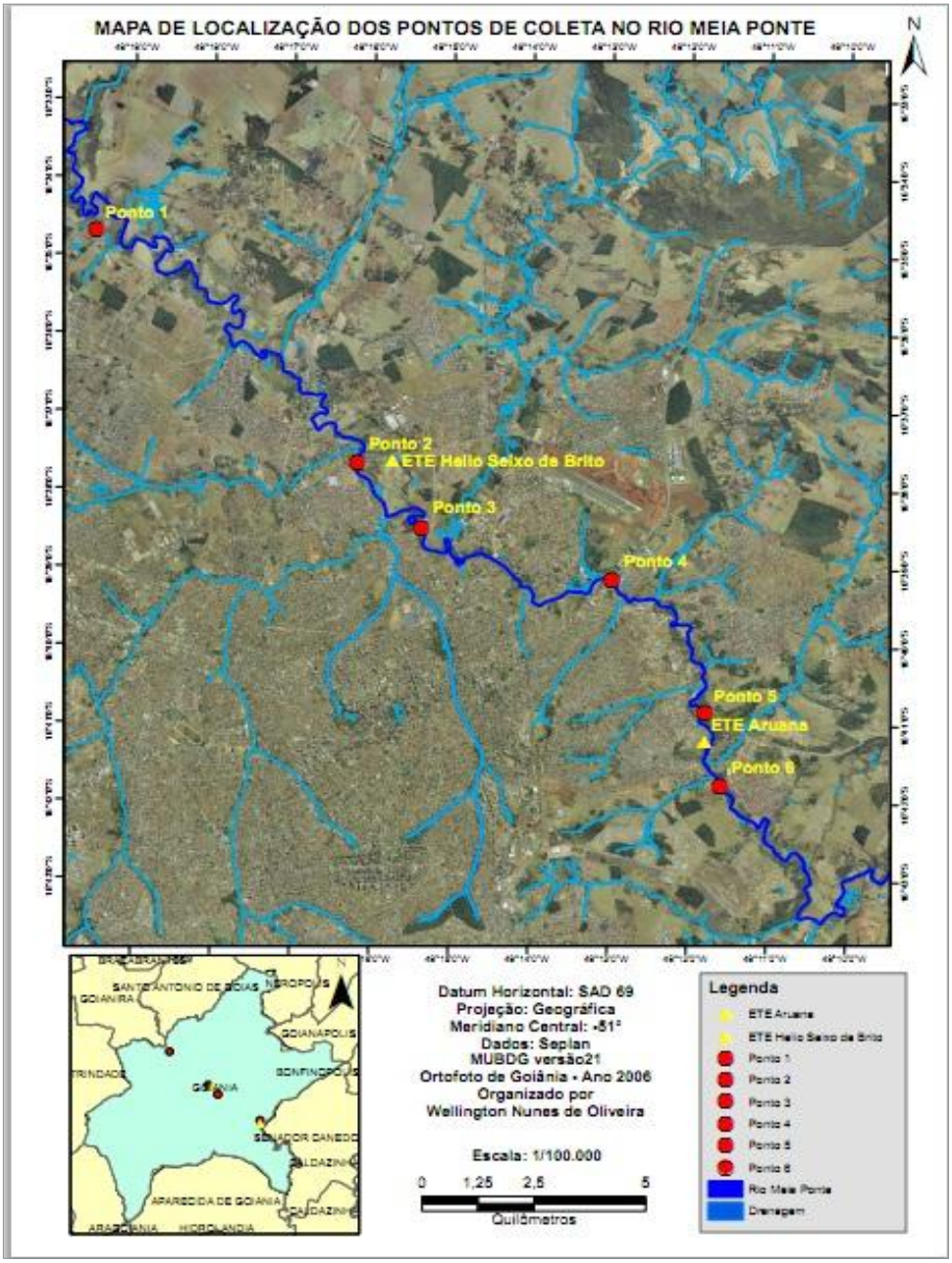


Figura 1: Mapa de Localização dos Pontos de Coleta do Rio Meia Ponte
Fonte: FONSECA, 2013.

As coletas foram realizadas segundo a NBR 9897 referente a Planejamento de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores, além de seguir as orientações do Standard Methods for the Examination of Water And Wastewater (APHA, 1999).

Foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas para avaliar a variação dos parâmetros, que indicam a qualidade da água, nos pontos. Foram 9 parâmetros necessário para avaliação do IQA: Oxigênio Dissolvido, Demanda Bioquímica de Oxigênio – DBO, Nitrogênio Total, Fósforo Total, Oxigênio Dissolvido, Potencial hidrogeniônico, Turbidez, Temperatura da água, Sólidos Totais e Coliformes Termotolerantes; além da análise de DQO e Condutividade. Todos seguindo as orientações do Standard Methods for the Examination of Water And Wastewater (APHA, 1999).

Os horários e datas das coletas foram apresentados na Tabela 4 referente aos resultados. As análises de água foram realizadas no Laboratório de Enzimologia da Faculdade de Farmácia da UFG e no laboratório de Saneamento da Escola de Engenharia da UFG, além do Laboratório de Química do IFG.

Para fins de comparação de dados foram analisados os parâmetros físico-químicos e microbiológicos, bem como o IQA de outros pontos do Rio Meia Ponte nos períodos entre o ano de 2009 e 2011. Esses dados foram fornecidos pela Saneamento de Goiás S/A – SANEAGO (ver em ANEXO II). Quando não constava o valor do IQA este foi obtido por meio de cálculos utilizando os 9 parâmetros e seus respectivos pesos.

3. RESULTADOS

Foram realizadas análises físicas, químicas e microbiológicas. Dentre os parâmetros avaliado 7 constam na Resolução CONAMA Nº 357, de 17 de março de 2005 e dentre as classificações o rio Meia Ponte se enquadra como classe 2. Os resultados das análises foram agrupados na tabela 4 abaixo.

Tabela 4: Resultados dos Parâmetros Físico-Químicos e Microbiológicos

	Resultados no Período de Estiagem					
Parâmetros	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5	Ponto 6
Hora	10:00	12:00	12:50	14:05	14:50	15:50
T (ºC)Água	21,2	22,7	22,6	22,9	22,7	23,6
pH	7,2	6,7	6,7	6,1	6,3	6,5
Turbidez (UNT)	79,40	68,13	88,20	73,60	81,83	96,87
Sólidos Totais ($mg.l^{-1}$)	10,98	4,37	5,78	3,90	0,13	0,12
Coliformes totais (NMP/100ml)	27946	326195	7326150	776200	566050	326700
E.Coli (NMP/100ml)	361	32460	988050	230950	80250	40900
Fósforo Total ($mg.P.l^{-1}$)	0,02	0,05	0,66	0,41	0,28	0,24

Nitrogênio Total ($mg.l^{-1}$)	6,27	8,20	8,53	11,70	10,03	10,00
DBO ($mg.l^{-1}$)	2,744	2,29	15,5	2,87	10,41	11,45
OD ($mg.l^{-1}$)	8,80	6,90	3,50	4,00	7,40	7,00
Condutividade (µS/cm)	99,19	98,05	179,93	152,40	137,67	136,87
DQO ($mg.l^{-1}$)	19,5	15,0	44,5	33,0	27,5	24,0
IQA	48,52	35,43	22,06	25,55	27,99	28,76

Fonte: Produção do autor.

Os valores de IQA também foram calculados e uma vez obtidos foram projetados no gráfico (figura 2) abaixo, notando-se que em comparação com as Faixas de IQA para o estado de Goiás (tabela 2) a Avaliação da Qualidade da Água se enquadra dentro dos limites de ruim e muito ruim.

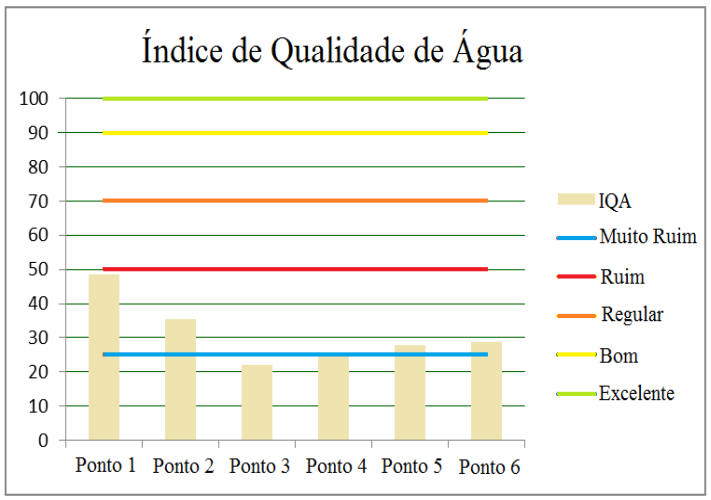


Figura 2: Gráfico do Índice de Qualidade da Água
Fonte: Produção do autor.

Os parâmetros obtidos pela Saneamento de Goiás S/A – SANEAGO referentes ao período de 2009 a 2011 foram dispostos em tabelas para melhor observação dos resultados e dispostas no Anexo II. Algumas datas não foram possíveis de se avaliar o IQA devido a ausência de algum dos nove parâmetros necessários para calculá-lo. Para comparação e classificação dos IQA's foi disposto no anexo I a Tabela 5 que é uma versão adaptada da Tabela 2 de Faixas de IQA versus Avaliação da Qualidade da Água.

4. DISCUSSÃO

Os sólidos totais e a turbidez indicam o aumento dos sólidos no ponto após a ETE Hélio Seixo de Brito e também o aumento de sólidos no período chuvoso. Os sólidos são importantes nas análises de contaminantes emergentes, pois alguns se adsorvem aos sedimentos ou sólidos em suspensão. De acordo com a tabela 4 acima a água do Meia Ponte apresentou uma elevada quantidade de sólidos em suspensão.

Esse fato também foi observado por Carvalho (2011) que citou que a turbidez tende a aumentar quando há maior concentração populacional e industrial e que os efluentes lançados contribuem para o aumento de material em suspensão. No entanto, seus valores de turbidez não alcançaram o limite máximo permitido, estabelecido pela legislação Resolução CONAMA 357 (2005). Já Mendonça (2007) encontrou valores mais elevados no Rio Meia Ponte, ficando entre 15,1 UNT a 254,3 UNT.

A temperatura da água é um dos fatores que interferem na biodisponibilidade dos poluentes emergentes no meio, porém nota-se que segundo a tabela 4 que não houve variação considerável entre os pontos de coleta. Já o pH encontra-se abaixo do limite máximo permitido no ponto 4 comprovando o nível de degradação das águas do rio Meio Ponte nos momentos de coleta.

De acordo com a tabela 4 o parâmetro de condutividade demonstra que uma grande quantidade de íons foi inserida no meio a partir do ponto 3 e este valor foi se reduzindo gradativamente.

Com relação as análises de coliformes termotolerantes observou-se que todos os pontos estão em desconformidade com o limite (1000 NMP/100mL) determinado pela Resolução CONAMA nº 357 de 2005 para os corpos d'água de classe 2.

Como os coliformes termotolerantes são indicadores de contaminação microbiológica e da possibilidade da ocorrência de patógenos associados às doenças de veiculação hídrica (ANA 2012), este resultado prejudica a utilização dessas águas para vários usos, como a recreação de contato primário.

Em relação a análise de fósforo observou-se também desconformidade com o valor limite determinado pela Resolução CONAMA nº 357 de 2005 (valor máximo de 0,1 mg/l P) para os pontos 3,4,5 e 6. Assim tanto os resultados de coliformes termotolerantes quanto para fósforo refletem a carência de tratamento de esgotos domésticos. O que também se aplica as tabelas do anexo II, que em geral possuem a maioria dos seus valores de fósforo acima do permitido.

Para o parâmetro oxigênio dissolvido - OD apenas os pontos 3 e 4 demonstraram desconformidade com a Resolução CONAMA nº 357 de 2005, que dispões que não possa ser um valor inferior a 5mg/l. Essa concentração é afetada diretamente pelos resíduos oxidáveis presentes em efluentes com altas cargas orgânicas. Assim este parâmetro é um indicador importante sobre a capacidade de um corpo d'água manter a vida aquática, pois a sua presença é essencial para sua manutenção (ANA, 2012).

Carvalho (2011) detectou valores abaixo do mínimo exigido pela legislação e Mendonça (2007) constatou que a faixa de concentração no rio Meia Ponte permaneceu entre 2,2 mg/L a 7,0 mg/L. Semelhante as tabelas do Anexo II em que a maioria dos valores obtidos de OD para os diversos pontos encontram-se em conformidade. Deve-se destacar, que a maioria desses pontos são afastados da capital o que favorece uma menor quantidade de poluentes nesses trechos, também observado por Azevedo (2012) que comparou dados num período de 2003 a 2011.

Assim como OD, valores altos de DBO num corpo d'água são provocados geralmente pelo lançamento de cargas orgânicas, principalmente esgotos domésticos. Assim a ocorrência desses valores altos provoca uma diminuição dos valores de oxigênio dissolvido na água, o que pode causar mortandades de peixes e eliminação de outros organismos aquáticos (CETESB, 2011). Para este parâmetro observou-se dois pontos (3 e 6) com valores acima do preconizado na Resolução CONAMA nº 357 de 2005 (10mg/l O_2) e confirmou-se o resultado obtido de OD.

Em relação as tabelas do Anexo II há alguns casos em que o valor obtido encontra-se acima do esperado como alta turbidez em período de chuvas, por meio de um histórico do local seria possível explicar, como a ocorrência de uma antecipação da estiagem ou um episódio de poluição (lançamento de uma carga exagerada de efluentes; ou lançamento industrial de efluente não tratado ou tratado de forma incorreta).

Segundo a ANA (2012) por meio de analises somente dos corpos d'água em áreas urbanas, constou-se que em 2010, 47% dos pontos monitorados apresentaram condição "péssima" ou "ruim". O que confere com o IQA calculado, pois todos os pontos apresentaram resultado de índice "ruim" e o ponto após a ETE Goiânia um índice "muito ruim" (figura 2). Isso se dá pelo reflexo da alta taxa de urbanização observada no País e dos baixos níveis de coleta e tratamento de esgotos domésticos (ANA, 2012).

O índice de qualidade de água calculado confere com os divulgados pela ANA em 2010 (ANA, 2012), pois todos os pontos apresentaram resultado de índice "ruim", exceto o ponto após a ETE Goiânia que teve o índice "muito ruim" (figura 2).

Segundo a figura 2 pode-se observar que o pior índice refere-se ao ponto 3 (muito ruim) devido ao lançamento de efluente da ETE Hélio Seixo de Brito, porém o índice de entrada da cidade (ponto 1) já é considerado ruim por ser o ponto de captação da ETA.

Índices muito baixos são decorrentes da grande quantidade de lançamentos de esgotos com baixo ou nenhum tratamento nos municípios que compõem essa bacia hidrográfica e por ser uma região de cabeceira, ou seja, um local de vazão reduzida e consequentemente de

menor capacidade de diluir as cargas poluidoras. Já segundo a CETESB (2012) águas superficiais com baixo IQA refere-se a presença de interferentes endócrinos.

Para os pontos das tabelas do Anexo 2 os IQA's foram de forma geral:, bom para o ponto ponte saída para Inhumas (brazabrantes) e razoável para ponte na br-153, jusante 500m do lançamento da ETE (Inhumas), montante 1 km da ETE (Inhumas), captação de Itauçu, ponte na rua para cemitério (Itauçu), substação celg 500m após lançamento (Goiânia), chegada ETA\calha parshall (Goiânia) e ponte na av. Perimetral norte (Goiânia).

Esses parâmetros foram melhores (bom e razoável) que os analisados recentemente (ruim e péssimo), isso se deve aos pontos avaliados serem mais afastados da capital sendo portanto menos susceptível a grandes cargas de efluentes e poluição e por se tratar de dados anteriores, ou seja, de 2009 para 2013 houve um aumento significativo de poluentes no rio Meia Ponte, comprovado pelo IQA e também pelos demais parâmetros observados.

5. CONCLUSÕES

O presente trabalho avaliou parâmetros físico-químicos e microbiológicos na água do rio Meia Ponte na cidade de Goiânia-GO. Estas análises demonstraram um caso de degradação no rio, pois vários parâmetros estavam acima do limite estabelecido pela classe 2 da Resolução CONAMA 357 de 2005. O valores de IQA obtidos indicam que a qualidade está de "muito ruim" a "ruim".

Neste estudo assim como em vários outros as maiores concentrações encontradas se referiam ao período de estiagem após o lançamento de ETEs. Além disso, conclui-se que a maioria dos valores obtidos em pontos antes do perímetro urbano encontravam-se dentro dos limites estabelecidos pela Resolução CONAMA 357 de 2005. Após o perímetro urbano também a maioria encontra-se em conformidade, porém nota-se valores cada vez maiores com o passar dos anos e mais casos de não conformidade, o que comprova que a qualidade da água desse rio determinada principalmente pelo perímetro urbano.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho visou avaliar os parâmetros físicos, químicos e microbiológicos para avaliar a qualidade do rio Meia ponte e espera-se contribuir e despertar maiores interesses em estudos nessa área.

Por meio da avaliação dos parâmetros do rio notou-se que a sua degradação vem aumentando gradativamente e busca-se conscientizar para a importância da fiscalização mais persistente de efluentes que venham a ser lançados no mesmo, evitando futuros transtornos.

Deve-se ressaltar ainda que há a necessidade de maior conscientização da população além de maiores investimentos em saneamento básico e no tratamento de efluentes, pois a qualidade da água do rio Meia Ponte é visivelmente influenciada pelo perímetro urbano.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **ABNT NBR 9897. Planejamento de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores.** Brasil, 1987.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **ABNT NBR 9898. Preservação e técnicas de amostragem de afluente líquidos e corpos receptores – Procedimento**. Brasil, 1987.

ANA - Agência Nacional das Águas. **Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil 2009.** Brasília, 2010.

ANA - Agência Nacional de Águas. **Panorama da qualidade das águas superficiais do Brasil: 2012.** Brasília: ANA, 2012.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION: **Standart Methods Examination of Water and Wastewater**, U.S.A, Washington D. C., American Water Works Association, 20 th Edition, 1999.

AZEVEDO, W.J. **Análise da Caracterização da Água do Rio Meia Ponte, Cidade de Goiânia – Goiás: série histórica de 2003 a 2011.** Dissertação de Mestrado. UCB. Brasília, 2012.

BILA, Daniele Maia; DEZOTTI, Márcia. **Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências.** Quím. Nova, São Paulo, v. 30, n. 3, Junho de 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano.** Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília – DF, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Portaria Nº 518.** Março de 2004.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução Nº 357**. Março de 2005.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução Nº 430**. Maio de 2011.

CARLSSON, Carina; JOHANSSON, Anna-Karin; ALVAN, Gunnar; BERGMAN, Kerstin; KUHLER, Thomas. Are pharmaceuticals potent environmental pollutants. Part I: Environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. **Science of the Total Environment** 364 (2006) 67–87.

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Organizadores: BRANDÃO,C.J.; et al.**Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**.São Paulo: CETESB; Brasília: ANA, 2011.

FONSECA, Y. V. P. Estudo Sobre a Ocorrência de Poluentes Emergentes na Água do Rio Meia Ponte na Cidade De Goiânia-GO. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Goiás, Escola de Engenharia Civil. Goiânia, 2013.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. **Interferentes endócrinos no ambiente.** Química Nova, São Paulo, v. 30, n. 3. Junho de 2007.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2008.** Comunicação Social. Agosto de 2010.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo 2010: população do Brasil é de 190.732.694 pessoas.** Comunicação Social. Novembro de 2010.

MENDONÇA, Bruna Craveiro de Sá. **Variabilidade dos processos de autodepuração biológica do Rio Meia Ponte, Goiás, Brasil.** Goiânia. 2007. 93 p. Dissertação de Mestrado – PPGEMA - Escola de Engenharia Civil, Universidade Federal de Goiás.

United Nations Water – UNWATER. **UN-Water Statement on Water Quality. World Water Day.** Março de 2010.

VULLIET, E.; CREN-OLIVÉ, C. Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption. **Environmental Pollution** 159 (2011) 2929 e 2934.

Anexo I

Tabela 5: Classificação dos Valores de IQA

Classificação	Valor de IQA
Muito Ruim	0-19
Ruim	20-36
Razoável	37-51
Boa	52-79
Ótima	80-100

Fonte: Produção do autor.

Anexo II

Tabela 6: PONTE NA BR-153

Parâmetro	07/01/2009	04/03/2009	13/05/2009	08/07/2009	02/09/2009	08/09/2010	03/11/2010	05/01/2011	02/03/2011	04/05/2011	06/07/2011	05/09/2011
Temperatura Água	23,00	24,00	20,00	20,00	********	22,00	22,00	23,00	24,00	23,00	25,00	24,00
Turbidez	138,00	41,20	48,80	13,30	********	21,30	28,80	136,00	74,30	40,80	23,00	15,20
Cor Aparente	90,80	66,40	49,40	4,34	********	34,90	80,10	178,20	122,40	38,30	46,20	50,20
pH	7,37	7,32	7,43	7,41	********	7,41	7,28	6,54	6,86	7,25	7,08	7,19
Cloretos	4,00	5,00	5,00	8,50	********	11,50	6,50	3,00	3,50	5,00	7,50	11,50
O.D.	7,00	6,00	6,00	4,80	********	4,50	7,00	7,50	6,80	7,00	6,30	5,00
D.B.O.	4,50	********	4,80	********	********	6,00	3,00	5,50	4,70	4,00	********	4,50
Índice Col. Total	140000,00	********	230,00	9200000,00	********	2419600,00	402000,00	3076000,00	579400,00	241960,00	241960,00	241960,00
Índice Col. Fecal	********	********	130,00	********	********	920800,00	145000,00	169000,00	54800,00	83600,00	816400,00	104620,00
Nitrato	0,18	0,21	0,28	0,22	0,09	0,01	0,03	0,11	0,11	0,21	0,22	0,15
Nitrito	0,09	0,29	0,26	0,20	0,16	0,05	0,10	0,10	0,03	0,07	0,09	0,09
Nitrogênio Amoniacal	0,35	0,13	0,64	1,89	1,84	2,57	0,47	0,48	0,30	0,40	0,69	1,38
Nitrogênio Total	0,62	0,63	1,18	2,31	2,09	2,63	0,60	0,69	0,44	0,68	1,00	1,62
Fósforo Total	0,44	0,49	0,16	0,15	0,34	********	0,08	0,06	0,04	0,02	0,08	0,13

Sólidos D. Totais	60,44	77,27	76,56	85,14	********	117,70	78,54	67,90	52,25	56,38	94,93	107,80
IQA	40,70	********	50,50	********	********	********	48,90	41,50	44,60	47,20	********	46,60

Fonte: SANEAGO, adaptado pelo autor.

********: Refere-se a ausência de dado.

********: Refere-se a impossibilidade de obtenção do IQA.

Tabela 7: PONTE SAÍDA PARA INHUMAS (BRAZABRANTES)

Parâmetro	07/01/2009	04/03/2009	13/05/2009	15/05/2009	08/07/2009	02/09/2009	08/09/2010	03/11/2010	05/01/2011	02/03/2011	04/05/2011	01/07/2011	05/09/2011
Temperatura Água	23,00	25,00	23,00	23,00	19,00	22,00	21,00	23,00	27,00	23,00	24,00	19,00	25,00
Turbidez	88,40	49,70	51,30	51,30	13,40	15,90	8,98	29,00	523,00	114,00	79,80	34,60	22,00
Cor Aparente	77,30	94,00	71,90	71,90	6,39	54,00	32,00	65,00	468,10	111,90	51,00	93,40	44,40
pH	7,46	7,64	7,60	7,60	7,74	7,46	7,61	7,16	6,77	7,04	7,09	7,39	7,31
Cloretos	0,50	0,50	1,04	1,00	1,50	0,50	2,50	3,20	1,50	1,50	2,50	1,00	1,00
O.D.	6,30	7,00	7,00	7,00	7,40	6,70	7,70	7,50	5,50	6,40	6,80	8,30	7,00
D.B.O.	1,90	4,60	1,80	1,80	0,70	0,40	1,20	2,70	2,00	2,40	3,00	*******	0,50
Índice Col. Total	7000,00	********	630,00	630,00	22000,00	3500,00	805,00	24196,00	111990,00	613100,00	57940,00	8164,00	8164,00
Índice Col. Fecal	********	********	********	********	********	********	********	9804,00	2110,00	6200,00	310,00	218,00	238,00
Nitrato	0,04	0,08	0,17	0,10	0,10	0,10	0,08	0,22	0,01	0,09	0,10	0,04	0,07
Nitrito	0,01	0,07	0,10	0,10	0,01	0,02	0,02	0,10	0,09	0,02	0,02	0,01	0,01
Nitrogênio Amoniacal	0,01	0,07	0,02	0,02	0,08	0,15	0,17	0,16	0,41	0,01	0,04	0,01	0,11
Nitrogênio Total	0,06	0,22	0,29	0,22	0,19	0,27	0,27	0,48	0,51	0,12	0,16	0,06	0,19
Fósforo Total	0,16	0,14	0,06	0,06	0,08	0,10	0,02	0,04	0,00	0,05	0,01	0,05	0,07
Sólidos D. Totais	52,58	61,16	64,90	64,90	59,84	62,65	61,63	72,27	39,80	51,59	55,05	73,48	79,47
IQA	47,00	********	51,30	51,30	54,00	53,60	56,30	48,90	42,90	45,50	46,10	********	51,20

Fonte: SANEAGO, adaptado pelo autor.

Tabela 8: JUSANTE 500M DO LANÇAMENTO DA ETE (INHUMAS)

Parâmetro	07/01/2009	13/05/2009	08/07/2009	02/09/2009	08/09/2010	03/11/2010	05/01/2011	02/03/2011	04/05/2011	06/07/2011
Temperatura Água	23,00	22,00	20,00	23,00	21,00	23,00	23,00	24,00	23,00	19,00
Turbidez	52,50	45,00	15,10	13,30	13,70	63,30	436,00	141,00	389,00	37,90
Cor Aparente	77,60	67,80	5,43	46,70	38,10	108,90	439,50	93,10	37,90	84,50
pH	7,41	7,61	7,70	7,51	7,69	7,22	6,75	7,09	7,10	7,38
Cloretos	1,50	0,40	1,50	5,50	3,00	3,00	1,50	2,00	3,00	2,50
O.D.	6,60	7,50	7,60	6,70	7,00	7,50	5,00	7,00	5,70	8,20
D.B.O.	2,50	1,50	1,20	1,50	1,00	3,70	3,00	4,20	1,50	********
Índice Col. Total	4900,00	16000,00	170000,00	22000,00	1515,00	24196,00	120330,00	241960,00	57940,00	7701,00
Índice Col. Fecal	********	********	********	********	********	12033,00	3680,00	2260,00	960,00	414,00
Nitrato	0,04	0,17	0,12	0,39	0,05	0,06	0,02	0,08	0,16	0,05
Nitrito	0,01	0,06	0,03	0,49	0,02	0,06	0,12	0,02	0,04	0,01
Nitrogênio Amoniacal	0,01	115,30	0,10	0,65	0,07	0,10	0,18	0,01	0,12	0,06
Nitrogênio Total	0,06	115,53	0,25	1,53	0,14	0,22	0,32	0,11	0,32	0,12
Fósforo Total	0,12	0,05	0,15	0,09	0,30	0,08	0,00	0,06	0,01	0,08
Sólidos D. Totais	55,71	63,41	61,65	85,41	59,56	66,60	46,50	52,19	53,02	71,77
IQA	48,40	40,10	52,20	50,80	52,90	46,30	44,00	43,40	46,30	********

Fonte: SANEAGO, adaptado pelo autor.

Tabela 9: MONTANTE 1 Km DA ETE (INHUMAS)

Parâmetro	07/01/2009	04/03/2009	13/05/2009	08/07/2009	02/09/2009	08/09/2010	03/11/2010	02/03/2011	04/05/2011	06/07/2011	05/09/2011
Temperatura Água	24,00	27,00	24,00	24,00	24,00	22,00	23,00	24,00	********	20,00	25,00
Turbidez	41,90	45,10	42,00	15,20	30,70	10,50	64,80	139,00	********	33,10	18,90
Cor Aparente	66,10	91,20	66,20	5,87	37,50	38,90	136,10	93,00	146,00	93,70	42,20
pH	7,45	7,65	7,61	7,79	7,57	7,76	7,26	7,18	7,10	7,40	7,47
Cloretos	1,50	3,50	2,00	0,50	3,00	2,00	3,00	3,50	2,00	1,50	1,00
O.D.	6,70	6,80	7,00	7,40	6,30	8,50	7,50	7,00	6,60	8,40	8,00

D.B.O.	4,20	3,50	1,50	0,40	1,20	1,30	4,50	3,00	1,30	********	3,00
Índice Col. Total	1110,00	********	490,00	54000,00	16000,00	1793,00	24196,00	19863,00	24196,00	12033,00	9804,00
Índice Col. Fecal	********	********	********	********	********	********	19863,00	1810,00	754,00	620,00	189,00
Nitrato	0,04	0,18	0,27	0,12	0,26	0,05	0,14	0,07	0,10	0,06	0,07
Nitrito	0,01	0,28	0,23	0,02	0,18	0,02	0,08	0,02	0,01	0,01	0,01
Nitrogênio Amoniacal	0,02	0,03	0,54	0,08	0,25	0,07	0,18	0,16	0,14	0,08	0,14
Nitrogênio Total	0,07	0,49	1,04	0,22	0,69	0,14	0,40	0,25	0,26	0,15	0,22
Fósforo Total	0,11	0,12	0,05	0,11	0,09	0,01	0,11	0,04	0,01	0,04	0,05
Sólidos D. Totais	55,55	70,78	71,72	60,55	72,93	59,18	63,30	50,98	53,18	76,06	80,46
IQA	48,50	********	51,06	51,00	49,50	54,70	47,90	44,50	********	********	49,40

Fonte: SANEAGO, adaptado pelo autor.

Tabela 10: CAPTAÇÃO DE ITAUÇU

Parâmetro	07/01/2009	04/03/2009	13/05/2009	08/07/2009	02/09/2009	08/09/2010	03/11/2010	05/01/2011	02/03/2011	04/05/2011	06/07/2011	05/09/2011
Temperatura Água	23,00	25,00	21,00	19,00	23,00	21,00	24,00	24,00	24,00	24,00	********	24,00
Turbidez	35,30	26,90	36,00	30,60	21,20	9,33	21,20	172,00	108,00	45,40	********	11,40
Cor Aparente	64,80	72,40	48,50	6,19	36,20	35,50	81,30	119,60	82,60	34,10	********	35,80
pH	7,25	7,51	7,67	7,74	7,78	8,00	7,46	6,87	7,33	7,40	********	7,06
Cloretos	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	********	0,50
O.D.	6,70	7,50	7,30	7,50	7,00	7,50	********	6,50	7,10	7,00	********	7,70
D.B.O.	1,50	1,90	1,10	1,40	0,10	0,70	********	1,30	1,20	1,00	********	1,00
Índice Col. Total	7990,00	********	9200,00	170000,00	17000,00	10462,00	6867,00	13340,00	24196,00	24196,00	10462,00	9208,00
Índice Col. Fecal	********	********	********	********	********	********	2187,00	740,00	17230,00	1187,00	471,00	471,00
Nitrato	0,02	0,02	0,07	0,08	0,05	0,01	0,01	0,03	0,02	0,02	0,02	0,01
Nitrito	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,07	0,01	0,01	0,01	0,00
Nitrogênio Amoniacal	0,01	0,07	0,04	0,09	0,04	0,01	0,08	0,42	0,01	0,08	0,01	0,01
Nitrogênio Total	0,04	0,10	0,13	0,18	0,11	0,03	0,11	0,52	0,04	0,11	0,04	0,02
Fósforo Total	0,08	0,09	0,03	0,15	0,07	0,01	0,02	0,02	0,02	0,00	0,04	0,07
Sólidos D. Totais	22,49	23,32	24,25	22,99	37,73	26,29	46,53	32,50	27,33	25,79	38,33	38,06

IQA	49,90	********	51,50	50,60	51,80	53,80	********	45,80	46,40	49,60	********	52,20

Fonte: SANEAGO, adaptado pelo autor.

Tabela 11: PONTE NA RUA PARA CEMITÉRIO (ITAUÇU)

Parâmetro	07/01/2009	04/03/2009	13/05/2009	08/07/2009	02/09/2009	08/09/2010	03/11/2010	05/01/2011	02/03/2011	04/05/2011	06/07/2011	05/09/2011
Temperatura Água	24,00	26,00	24,00	20,00	24,00	23,00	24,00	25,00	25,00	23,00	22,00	23,00
Turbidez	24,40	25,90	24,00	13,10	11,20	13,90	32,80	260,00	140,00	49,30	20,50	16,20
Cor Aparente	55,70	71,40	45,70	4,21	34,90	28,90	88,10	132,00	101,60	35,70	58,60	31,70
pH	7,40	7,58	7,54	7,72	7,68	7,94	7,37	6,77	7,32	7,26	7,27	7,23
Cloretos	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	3,00	0,50	0,50	1,00	0,50	0,50
O.D.	6,70	7,30	7,00	7,10	6,90	8,00	********	7,50	7,00	7,00	7,80	7,20
D.B.O.	1,90	5,30	0,60	1,90	0,30	2,00	********	3,50	1,00	1,50	********	2,20
Índice Col. Total	28000,00	********	7900,00	92000,00	35000,00	********	68670,00	241960,00	198630,00	72700,00	17329,00	24196,00
Índice Col. Fecal	********	********	********	********	********	********	13170,00	14210,00	16160,00	2160,00	4611,00	24196,00
Nitrato	0,05	0,06	0,22	0,14	0,09	0,02	0,07	0,02	0,04	0,07	0,03	0,07
Nitrito	0,01	0,02	0,03	0,01	0,02	0,02	0,04	0,06	0,02	0,01	0,01	0,00
Nitrogênio Amoniacal	0,01	0,05	0,03	0,05	0,01	0,01	0,10	0,05	0,01	0,01	0,15	0,15
Nitrogênio Total	0,07	0,13	0,28	0,20	0,12	0,05	0,21	0,13	0,07	0,09	0,19	0,22
Fósforo Total	0,08	0,10	0,03	2,29	0,06	0,02	0,01	0,04	0,06	0,00	0,06	0,14
Sólidos D. Totais	32,83	36,24	37,95	37,07	51,81	40,20	51,20	44,80	38,77	34,70	50,76	54,34
IQA	49,40	********	51,60	45,00	52,40	********	********	40,10	45,60	49,10	********	49,80

Fonte: SANEAGO, adaptado pelo autor.

Tabela 12: M - RIO MEIA PONTE (ITAUÇU)

Parâmetro	16/02/2009	28/04/2009	30/06/2009	25/08/2009	17/11/2009	09/03/2010	24/08/2010	16/11/2010	29/03/2011	16/08/2011
Temperatura Água	22,00	21,00	23,00	20,00	24,00	25,00	20,00	22,00	25,00	20,00
Turbidez	61,40	16,30	13,00	12,40	21,60	26,70	9,36	14,50	15,10	13,50
Cor Aparente	140,00	55,00	50,00	25,00	100,00	100,00	4,00	70,00	300,00	80,00

pH	7,10	7,20	7,20	7,20	7,20	7,30	7,30	7,70	7,20	7,10
Cloretos	0,00	********	0,00	********	0,00	0,00	2,00	1,50	0,00	0,00
O.D.	8,40	********	8,70	********	7,50	6,90	8,60	5,70	7,60	7,10
D.B.O.	********	********	********	********	********	********	********	********	********	********
Índice Col. Total	110,00	12000,00	15000,00	12000,00	15,00	2400,00	12000,00	110000,00	9300,00	0,00
Índice Col. Fecal	2,90	930,00	15000,00	12000,00	1,50	2400,00	4300,00	110000,00	9300,00	0,00
Nitrato	********	********	********	********	********	********	********	********	********	********
Nitrito	********	********	********	********	********	********	********	********	********	********
Nitrogênio Amoniacal	********	********	********	********	********	********	********	********	********	********
Nitrogênio Total	********	********	********	********	********	********	********	********	********	********
Fósforo Total	********	********	********	********	********	********	********	********	********	********
Sólidos D. Totais	********	********	********	********	********	********	********	********	********	********
IQA	********	********	********	********	********	********	********	********	********	********

Fonte: SANEAGO, adaptado pelo autor.

Tabela 13: SUBSTAÇÃO CELG 500M APÓS LANÇAMENTO (GOIÂNIA)

Parâmetro	07/01/2009	04/03/2009	13/05/2009	02/09/2009	10/11/2009	03/03/2010	08/09/2010	03/11/2010	05/01/2011	04/05/2011	06/07/2011	05/09/2011
Temperatura Água	25,50	24,00	22,00	23,50	24,00	25,00	21,00	23,00	22,00	23,00	19,00	23,00
Turbidez	104,00	51,50	42,90	13,90	126,00	10,20	7,67	26,70	269,00	70,40	33,50	14,30
Cor Aparente	98,30	38,70	66,20	53,40	166,10	6,70	25,40	70,30	281,20	35,80	93,50	37,10
pH	7,44	7,57	7,63	7,51	7,52	5,14	7,93	7,27	6,75	7,19	7,50	7,40
Cloretos	1,00	0,50	1,50	2,50	0,50	********	2,50	3,00	0,50	2,00	1,50	1,00
O.D.	6,70	7,10	7,20	6,70	7,30	6,20	8,30	********	4,50	8,00	8,10	7,50
D.B.O.	0,50	0,50	1,80	0,30	1,81	1,30	1,50	********	2,30	2,00	********	1,00
Índice Col. Total	5400,00	********	1700,00	5400,00	2300,00	16070,00	7701,00	24196,00	141360,00	24196,00	8164,00	3300,00
Índice Col. Fecal	********	********	********	********	780,00	520,00	********	5475,00	1600,00	459,00	301,00	158,00
Nitrato	0,05	0,09	0,12	0,13	0,11	0,01	0,01	0,10	0,01	0,06	0,03	0,04
Nitrito	0,02	0,02	0,03	0,03	0,09	0,01	0,01	0,02	0,06	0,01	0,01	0,00
Nitrogênio Amoniacal	0,12	0,07	0,07	0,21	0,01	0,20	0,06	0,11	0,22	0,01	0,05	0,09

Nitrogênio Total	0,19	0,18	0,22	0,37	0,21	0,22	0,08	0,23	0,29	0,08	0,09	0,13
Fósforo Total	0,14	0,13	0,05	0,09	0,28	0,35	0,01	0,08	0,07	0,01	0,09	0,09
Sólidos D. Totais	48,84	57,91	57,36	63,85	68,20	********	58,19	79,53	48,90	50,16	78,00	79,03
IQA	46,20	********	50,30	53,00	45,40	********	53,90	********	44,40	48,00	********	53,00

Fonte: SANEAGO, adaptado pelo autor.

Tabela 14: CHEGADA ETA\CALHA PARSHALL (GOIÂNIA)

Parâmetro	07/01/2009	13/05/2009	02/09/2009	07/10/2009	03/03/2010	10/05/2010	07/07/2010	08/09/2010	03/11/2010	05/01/2011	02/03/2011	05/09/2011
Temperatura Água	25,50	22,00	23,50	24,00	24,00	23,00	18,00	21,00	23,00	25,00	24,00	23,00
Turbidez	109,00	34,60	14,00	209,00	91,80	27,20	7,50	7,92	26,50	136,00	156,00	15,40
Cor Aparente	102,90	73,20	53,40	192,50	103,10	49,60	45,70	30,50	67,80	226,60	100,10	39,60
pH	7,45	7,68	7,37	7,75	7,23	7,75	7,50	7,81	7,21	6,67	7,22	7,33
Cloretos	1,50	1,00	2,50	********	********	1,00	********	4,00	3,00	0,50	0,50	1,50
O.D.	6,20	7,00	6,70	********	6,20	7,00	********	7,50	********	4,00	7,10	8,00
D.B.O.	0,30	2,50	0,20	********	2,90	4,00	********	2,00	********	1,50	3,30	2,00
Índice Col. Total	4900,00	1700,00	5400,00	35000,00	1203300,00	24196,00	19863,00	1597,00	24196,00	48840,00	24196,00	6131,00
Índice Col. Fecal	780,00	********	********	2200,00	54800,00	222,00	134,00	********	6867,00	1090,00	749,00	201,00
Nitrato	0,05	0,11	0,12	0,12	0,01	0,08	0,01	0,01	0,01	0,06	0,05	0,05
Nitrito	0,02	0,03	0,02	0,10	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,07	0,02	0,00
Nitrogênio Amoniacal	0,06	0,01	0,23	0,01	0,23	0,18	0,00	0,00	0,09	0,15	0,06	0,07
Nitrogênio Total	0,13	0,15	0,37	0,23	0,26	0,28	0,02	0,02	0,12	0,28	0,13	0,12
Fósforo Total	0,14	0,04	0,09	********	0,14	0,03	0,02	0,02	0,04	0,00	0,04	0,07
Sólidos D. Totais	50,54	58,52	62,75	********	********	50,65	********	65,94	87,72	51,30	48,07	79,97
IQA	46,50	51,20	53,10	********	********	47,90	********	54,90	********	43,90	44,30	51,70

Fonte: SANEAGO, adaptado pelo autor.

Tabela 15: PONTE NA AV. PERIMETRAL NORTE (GOIÂNIA)

Parâmetro	07/01/2009	04/03/2009	13/05/2009	08/07/2009	02/09/2009	08/09/2010	03/11/2010	05/01/2011	02/03/2011	04/05/2044	06/07/2011	05/09/2011
Temperatura Água	25,00	25,00	25,00	19,00	23,00	21,00	23,00	23,00	24,00	24,00	18,00	23,00
Turbidez	114,00	43,20	42,40	13,00	15,70	8,52	25,90	177,00	128,00	62,90	39,50	14,70
Cor Aparente	102,90	86,90	66,30	5,08	48,20	18,60	74,10	218,10	152,10	44,50	87,20	57,80
pH	7,48	7,59	7,42	7,70	7,46	7,52	7,11	6,64	6,98	7,13	7,23	7,25
Cloretos	3,50	6,00	5,00	5,50	5,50	10,00	3,50	2,00	4,00	3,00	6,00	12,00
O.D.	7,10	6,80	6,70	6,80	6,10	6,30	7,00	6,50	6,80	7,00	8,00	6,70
D.B.O.	4,90	********	2,00	1,60	0,10	4,30	3,20	3,60	3,80	2,00	********	4,20
Índice Col. Total	22000,00	********	4000,00	1600000,00	54000,00	11199,00	141360,00	344800,00	198630,00	155310,00	104620,00	141360,00
Índice Col. Fecal	********	********	********	********	********	3441,00	38730,00	11000,00	5380,00	17890,00	24810,00	36540,00
Nitrato	0,08	0,19	0,19	0,23	0,30	0,20	0,18	0,01	0,07	0,13	0,11	0,22
Nitrito	0,05	0,19	0,16	0,10	0,17	0,14	0,05	0,08	0,04	0,03	0,04	0,07
Nitrogênio Amoniacal	0,10	0,29	0,76	0,58	0,54	0,47	0,11	0,05	0,06	0,12	0,12	0,40
Nitrogênio Total	0,23	0,67	1,11	0,91	1,01	0,81	0,34	0,14	0,17	0,28	0,27	0,69
Fósforo Total	0,22	0,25	0,20	0,15	0,54	0,07	0,08	0,05	0,05	0,13	0,07	0,06
Sólidos D. Totais	52,85	67,15	69,57	68,91	74,41	83,10	70,62	55,30	48,84	53,74	76,39	106,86
IQA	41,40	********	47,40	52,80	48,80	51,00	48,10	42,90	43,50	46,20	********	48,50

Fonte: SANEAGO, adaptado pelo autor.

Avaliação das atividades mutagênica e antimutagênica de *Spirulina Máxima* em células somáticas de *Drosophila melanogaster*, teste smart/asa.

Priscila Zei Melo[1], Jefté Barbosa Silva[1] , Lee Chen Chen[2], Salvador de Carvalho[1]
Wanderlene Blanco Nunes[1]
1-Laboratório de Mutagênese com Drosophila, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Geral, UFG, Goiânia-GO.
2- Laboratório de Radiobiologia e Mutagênese, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Geral, UFG, Goiânia-GO.
*Email para contato: Priscila_zei@hotmail.com

Resumo *Spirulina maxima* é uma microalga rica em proteína e outros nutrientes essenciais. Contém compostos fenólicos, tocoferóis e ß-caroteno que são conhecidos por apresentar propriedades antioxidantes sendo largamente utilizada como um adidivo alimentar. Assim, o presente estudo teve como objetivo a avaliação da ação genotóxica e antigenotoxica de *S. maxima* em células somáticas de *Drosophila melanogaster*, pelo teste de mutação e recombinação somática (SMART/asa). Foram utilizadas larvas de terceiro estádio de *D. melanogaster*, e realizados os cruzamentos padrão (ST) e de alta taxa de enzimas de metabolização do tipo citocromo P450 (HB), sendo avaliadas três concentrações diferentes (140, 77 e 35 mg/mL). Para avaliação da atividade genotóxica as doses foram comparadas com controle negativo (água destilada). E para avaliação da atividade antigenotóxica as doses selecionadas foram administradas concomitantemente com a Doxorrubicina, droga anti-neoplásica, e os dados comparado com o controle positivo. Os resultados obtidos demonstram que a *S. maxima* não possui efeito citotóxico significativo sobre as células de *D. melanogaster* em 6 das 7 doses testadas entre os descendentes HB, mas demonstrou-se genotóxica na concentração de (140 mg/ml) nos descendentes ST testados, em comparação com o controle negativo. Por outro lado, apresentou atividade antigenotóxica, modulando danos causados pelo quimioterápico DXR nas doses testadas.

Palavras–Chave : *Spirulina maxima*, antigenotoxidade, mutagenicidade, citotoxicidade, SMART/asa

"revisado pelo orientador"

1. INTRODUÇÃO

A indústria de alimentos está buscando o uso de agentes naturais antimicrobianos e antioxidantes, isolados de plantas, fungos e algas marinhas, para substituir os aditivos sintéticos em alimentos, uma vez que estes trazem efeitos prejudiciais à saúde (BERMEJO *et al., 2008)*.

Dentre as fontes naturais que vêm sendo citadas pelo efeito funcional, associadas à capacidade de prevenir processos oxidativos, encontra-se a *S. maxima* (MIRANDA *et al., 1998;* DEVI MKA *et al* 2009).

S. maxima é uma microalga, que é utilizada como um aditivo alimentar, pois apresenta um perfil nutricional que substitui satisfatoriamente as fontes artificiais de nutrientes, por combinar diversos constituintes de maneira equilibrada. Entre estes constituintes se incluem proteínas, vitaminas do complexo B, minerais, proteínas de alta qualidade, β-caroteno e vitamina E (RICHMOND, 1990; VONSHAK, 1997). Seus compostos fenólicos, o β-caroteno e o tocoferol possuem propriedades antioxidantes (Miranda *et al*., 1998).

Estudos efeitos da suplementação oral de *S. maxima* demonstram o seu efeito sobre a hipertensão arterial, causando redução das pressões sanguíneas sistólica e diastólica, antes e após o tratamento(TORRES-DURAN *et al.* 2007)

Devido a ação de combater radicais livres sugere-se que a mesma possa também auxiliar no tratamento de inúmeras doenças como o câncer. O efeito da *Spirulina* na prevenção de câncer pode ser atribuído à presença de β-caroteno, precursor da vitamina A, o qual apresenta capacidade de controlar a diferenciação e a proliferação celularar nos epitélios (BELAY *et al.*, 1993; BRUNTON *et al.*, 2006).

Para avaliação desses efeitos genotóxicos e antigenotóxicos um grande número de testes de curta-duração estão disponíveis. Dentre esses destaca-se o teste SMART/asa com *Drosophila melanogaster*, que foi primeiramente descrito por Graf e colaboradores em 1984. Caracterizado por ser um teste rápido, barato, que produz resultados confiáveis e facilmente reproduzíveis (GRAF *et al.*, 1984). Tem como base o fato de que, durante o início do desenvolvimento embrionário da *Drosophila melanogaster (D. melanogaster)*, grupos de células dos discos imaginais se separam e proliferam durante o desenvolvimento larval até se

diferenciarem, durante a metamorfose, em estruturas do corpo da mosca adulta (olhos, asas, etc.) (GRAF *et al.*, 1984).

Contudo, ainda não foi realizado nenhum estudo a cerca da avaliação, citotóxica, genotóxica e antigenotóxica da *S. maxima*, por meio do teste SMART/asa cujas informações podem contribuir para sua utilização mais segura.

Tendo em vista a necessidade de uma investigação maior sobre este assunto, a finalidade do presente estudo é verificar o potencial citotóxico, genotóxico e antigenotóxico da *S. maxima*, através do teste SMART/asa, utilizando o cruzamento padrão (ST) e o cruzamento aprimorado (HB).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Agentes químicos

Cloridrato de doxorrubicina (DXR) {(85-cis) - 10 - [(3 - Amino - 2, 3, 6 - tride-oxi - α - L - lixohepaxapiranosil) oxil] - 7, 8, 9, 10 - tetrahidro - 6, 8 11 - trihidroxi 8(hidroxiacetil) - 1 - metoxi - 5, 12 - naftacenodiona}, P. M. 543,5; F. M. C27H29-N-O11HCL; CAS 2314-92-8, conhecida comercialmente como Doxolen® (forma liofilizada fabricada por Eurofarma Laboratórios Ltda, São Paulo - SP).

Spirulina maxima em cápsula produzida pelo laboratório Vita lab, em São Paulo (SP)

2.2 Meios de cultura e condições de cultivo

Os estoques de *D. melanogaster* foram mantidos em frascos de 1/4 de litro contendo meio de cultura específico (500 ml de água, 7 g de ágar, 400 g de banana, 7,5 g de fermento fresco - *Sacharomyces cerevisae* e 1 g de nipagin) (Marques *et al,*1966 modificado). Os ovos foram coletados em frascos contendo meio "frapê" (uma base sólida de ágar - 4% de ágar em água e uma camada de fermento com açúcar).

As larvas foram transferidas para frascos contendo 0,9 g de meio purê de batata (Yoki Alimentos S. A.) sendo posteriormente coletados os adultos emergentes e fixados em etanol 70%. Durante todo o experimento as linhagens foram mantidas a uma temperatura de 25 +/- 1º C e umidade relativa de aproximadamente 60 %.

2.3 Linhagens de *D. melanogaster*

"Multiple wing hairs" (**mwh**), com constituição cromossômica mwh/mwh.

"Flare-3" (**flr3**), com constituição genética flr3/In(3LR)TM3, ri pp sepI(3)89Aa bx34e e Bds.

"ORR;flr3" (**ORR**), com constituição cromossômica ORR; flare-3 (ORR;flr3), com constituição genética ORR/ORR; flr3 /In (3LR)TM3, ri pp sepI(3)89Aa bx34e e Bds (GRAF *et al.*,1989).

2.4 Cruzamentos

Para os testes foram utilizados dois tipos de cruzamentos:

Padrão (ST): Obtidas pelo cruzamento de fêmeas *Flare-3* com machos *mwh*. Este crusamento apresenta níveis basais de enzimas de metabolização.

Alta ativação metabólica (HB): Obtido pelo cruzamento de fêmeas ORR;f*lr3* com machos *mwh.* Este cruzamento apresenta alto nível de enzimas de metabolização - citocromo P450)

2.5 Tratamentos e curva de sobrevivência

A coleta dos ovos foi realizada por um período de 8 h em frascos contendo uma base sólida de ágar (4% de ágar em água), e uma camada de fermento com açúcar (GRAF et al, 1984). Após 72 ± 4h, as larvas provenientes de cada cruzamento padrão (ST) e de alta ativação metabólica (HB), foram transferidas para frascos contendo 0,9 g de meio purê de batata. Em cada frasco foram adicionados 3,0 ml de *S. maxima* em pó diluída em água destilada.

Para o estudo da curva de sobrevivência transferiu-se exatamente 100 larvas de terceiro estádio por tubo, adicionando-se o *S. maxima* nas diferentes concentrações, sendo utilizado em paralelo um controle com água destilada. Decorridas 48 horas, as moscas emergentes foram contadas para se estabelecer a porcentagem de sobrevivência.

Para avaliação dos efeitos genotóxicos foram selecionadas as concentrações de (140; 77; 35 mg/ml), e os dados comparados com o controle negativo (água destilada) .

Para avaliação da atividade antigenotóxica da *S. maxima* foi adicionado em cada frasco 1,5 mL de solução de DXR (0,125mg/mL) concomitantemente com 1,5 mL da *S.*

maxima (140; 77; 35 mg/ml). Foram incluídos os controles positivo DXR (0,125mg/mL) e negativos (água destilada) em ambos os cruzamentos ST e HB.

2.6 Preparação de lâminas

As moscas, estocadas em etanol 70%, foram lavadas em água corrente e embebidas em solução de FAURE (30 g de goma arábica, 20 mLde glicerol, 50 g de hidrato de cloral, 50 mL de água destilada). Em seguida, as asas foram separadas do corpo dos imagos com o auxílio de duas pinças de relojoeiro, distendidas e fixadas sobre a superfície de lâminas secas com a solução de FAURE.

As lâminas contendo 10 pares de asas (5 pares de fêmeas e 5 pares de machos) foram mantidas em uma placa aquecedora a 40ºC por um período mínimo de 24 horas. Posteriormente, foram cobertas com lamínulas (24 x 32 mm), contendo uma gota da solução de FAURE, permanecendo por mais 24 horas a 40ºC com 400 g de peso sobre as lamínulas visando a perfeita aderência das asas às lâminas (GRAF *et al.*,1984).

2.7 Análise microscópica das asas

A análise das lâminas foi realizada em microscópio óptico com ampliação de 400X. Para cada tratamento foram analisados 20 indivíduos de cada sexo (4 lâminas) considerando-se os diferentes fenótipos dos pêlos encontrados tanto nas superfícies dorsal e ventral das asas.

Todas as manchas isoladas por 3 ou mais fileiras de pêlos normais foram consideradas independentes (Graf *et al.*, 1984). As manchas foram classificadas como simples mwh ou flr3, quando somente um dos marcadores se expressou, ou manchas gêmeas, se ambos os fenótipos mutantes - pelos múltiplos (mwh) e pelos com a base alargada (flr3) - estavam presentes. A posição e o tamanho das manchas foram determinados, respectivamente, com o setor da asa e o número de células com os fenótipos mutantes. As manchas foram divididas em classes de diferentes tamanhos: 1; 2; 3 - 4; 5 - 8; 9 - 16; 17 - 32; 33 - 64; 64 -128; 129 - 256; 257 - 512;513 - 1024; > 1024. As classes 1 e 2 são classificadas como manchas pequenas e as demais como manchas grandes (GARCIA-BELIDO & DAPENA , 1974). Foram analisados os compartimentos distais, proximais e as nervuras das asas.

2.8 Análise estatística

Para verificação da possível genotoxidade, aplicou-se o teste X^2 para proporções (FREI E WÜRGLER, 1988). Para tanto, realizou-se uma comparação entre as proporções de manchas encontradas por classe entre as doses testadas e o respectivo controle negativo, estabelecendo-se duas hipóteses:

(I) Ho: a frequência de mutação espontânea e induzida nas moscas tratadas não é maior que a frequência de mutação no respectivo controle.

(II) H1: a frequência de mutação induzida nas moscas tratadas não e menor que m vezes a maior frequência de mutação espontânea observada no controle.

O nível de significância do teste é de 5%. Assim, podem ser consideradas as seguintes decisões:

(a) Aceita-se ambas as hipóteses; como elas não podem ser verdadeiras simultaneamente, nenhuma decisão pode ser tomada tendo, assim, o resultado inconclusivos.

(b) Aceita-se a primeira hipótese e rejeita-se a segunda obtendo-se o resultado negativo.

(c) Rejeita-se a primeira hipótese e se aceita a segunda e o resultado será positivo.

(d) Rejeitam-se ambas as hipóteses e o resultado é um fraco-positivo.

O valor de m é fixado em no mínimo 2, devido á alta freqüência de mutação espontânea verificadas em manchas simples pequenas e o total de manchas simples.

Na análise estatística para antigenotoxicidade das séries tratadas com *S. maxima* associada à Doxorrubicina, as frequências de manchas por mosca foram comparadas aos pares [ex. controle positivo (DXR) versus *S. maxima* + DXR] utilizando o Teste-U não paramétrico de Mann-Whitney & Wilcoxon. A aplicação do teste objetiva excluir-se resultados que sejam falso-positivo, aplicando-se posteriormente o teste X^2 para proporções, sendo os resultados das análises das doses testadas comparadas com o controle positivo (FREI &WÜRGLER 1995).

4. RESULTADOS

Para análise citotóxica da *S. maxima* foi determinada a taxa de sobrevivência dos indivíduos provenientes dos cruzamentos ST e HB tratados com 7 diferentes concentrações (140; 119; 89; 77;56; 35; 7 mg/ml) e do controle negativo (água destilada estéril).

Os resultados são apresentados na **Figura 1**. A análise dos dados demonstra que a *S. maxima* não apresentou efeito citotóxico significativo sobre as moscas para ambos os

cruzamentos (ST e HB) em 6 das 7 tesdadas ao controle negativo. Não houve diferenças significativas entre o número de emergentes do grupo controle quando comparados à qualquer uma das concentrações testadas, exceto na dose 4 (140 mg/mL) para o cruzamento HB.

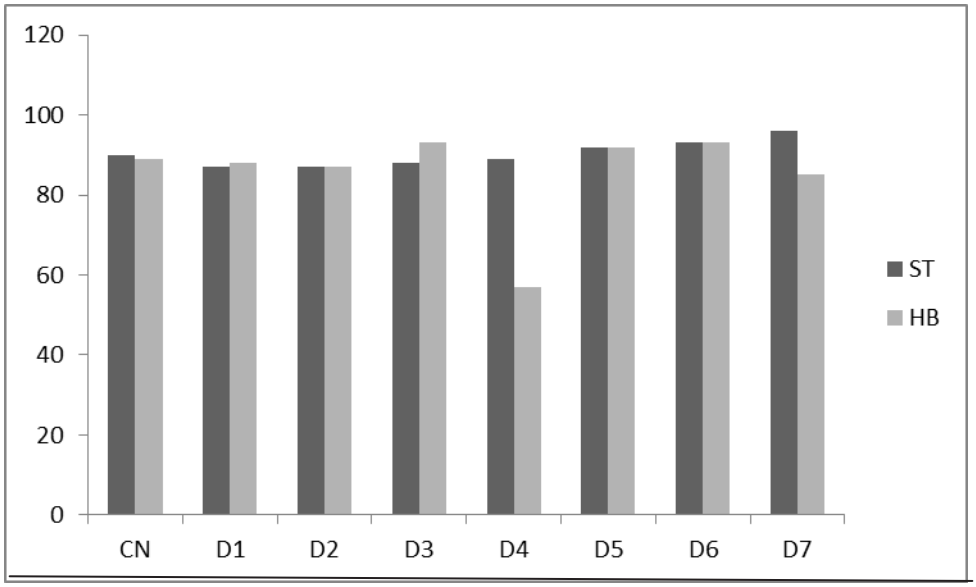


Figura 1. Porcentagem relativa da sobrevivência das larvas de *D. melanogaster* detectada após tratamento com diferentes diluições(140; 119; 89; 77;56; 35; 7 mg/ml) da *S. maxima.*

Para determinação dos possíveis efeitos genotóxicos foram analisadas 40 pares de asas provenientes de adultos emergentes dos dois experimentos independentes, que incluíram o controle negativo (água destilada estéril), controle positivo (DXR - 0, 125 mg/mL) e três diferentes concentrações (140, 77, 35 mg/mL) da *S. maxima.* Os cruzamentos ST e HB foram desenvolvidos simutaneamente para que as larvas fossem tratadas sob as mesmas condições ambientais.

A Tabela 1 apresenta os dados da análise mutagênica da *S. maxima*. A distribuição das manchas simples pequena (MSP) manchas grandes (MSG) e manchas gêmeas (MG) em relação às doses testadas provenientes dos descendentes MH dos cruzamentos ST e HB, respectivamente está representada nas **figuras 2 e 3**.

Na avaliação da atividade genotóxica dos indivíduos trans-heterozigotos marcados (MH) de ambos os cruzamentos, não foi observado um aumento estatisticamente significativo na frequência de manchas simples pequenas, grandes e gêmeas induzidas pela *S. maxima* em relação ao controle negativo, demonstrando que a mesma não foi capaz de induzir eventos mutagênicos e/ou recombinogênicos. Porém a dose 3 (140mg/ mL) de concentração 140mg/ml

do cruzamento ST teve ação genotóxica, pois houve um aumento significativo na frequência de manchas totais quando comparada ao controle negativo.

Tabela de resultados com diagnóstico estatístico pelo teste binomial condicional (Kastembaun e Bowman)

Genótipos e Conc. (mM)	N. de Indiv. (*N*)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico[a]							
		MSP (1-2 céls)[b] *m* = 2		MSG (>2 céls)[b] *m* = 5		MG *m* = 5		TM *m* = 2	
ST									
Água destilada	40	0,10	(04) -	0,05	(02) -	0,05	(02) -	0,20	(8) -
DXR (0,125 mg/ml)	40	0,48	(19) +	0,93	(37) +	1,63	(65) +	3,03	(121) +
35 mg/ml	40	0,00	(00)	0,05	(02)	0,00	(00)	0,05	(02)
77 mg/ml	40	0,00	(00)	0,00	(00)	0,00	(00)	0,00	(00)
140 mg/ml	40	0,35	(14)	0,13	(05)	0,18	(07)	0,65	(26)
HB									
Água destilada	40	0,10	(04) -	0,23	(09) -	0,08	(03) -	0,40	(16) -
Doxorrubicina	40	2,03	(81) +	2,90	(116) +	3,88	(155) +	8,80	(352) +
35 mg/ml	40	0,03	(01)	0,03	(01)	0,03	(01)	0,08	(03)
77 mg/ml	40	0,00	(00)	0,05	(02)	0,00	(00)	0,05	(02)
140 mg/ml	40	0,10	(04)	0,05	(02)	0,00	(00)	0,15	(06)

[a]Diagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würgler (1988): +, positivo; -, negativo; i, inconclusivo. *m*, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha = \beta = 0,05$.

[b]Incluindo manchas simples *flr*[3] raras.

[c]Considerando os clones mwh para as manchas simples mwh e para as manchas gêmeas.

[d]Apenas manchas simples mwh podem ser observadas nos indivíduos heterozigotos *mwh/TM3*, já que o

Tabela 1. Frequência de manchas mutantes observadas nos descendentes MH de *D. melanogaster* do cruzamento padrão (ST) e de alta ativação metabólica (HB) tratados com diferentes concentrações da *S. maxima*.

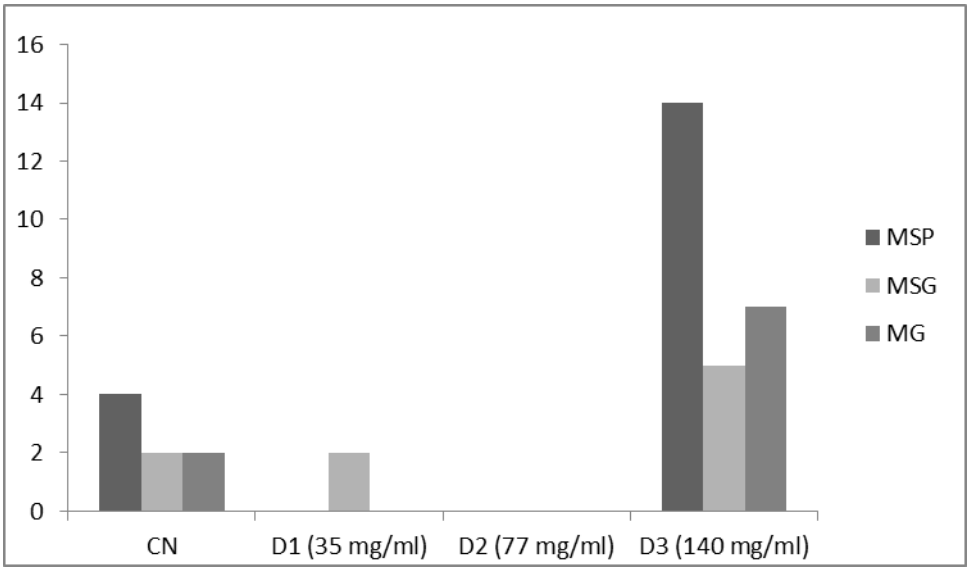


Figura 2 Distribuição de manchas observadas em asas de *D. melanogaster*, dos descendentes MH, provenientes do cruzamento ST tratados com água destilada (controle negativo) e com diferentes concentrações (140;77 e 35 mg/mL) da *S. maxima*.

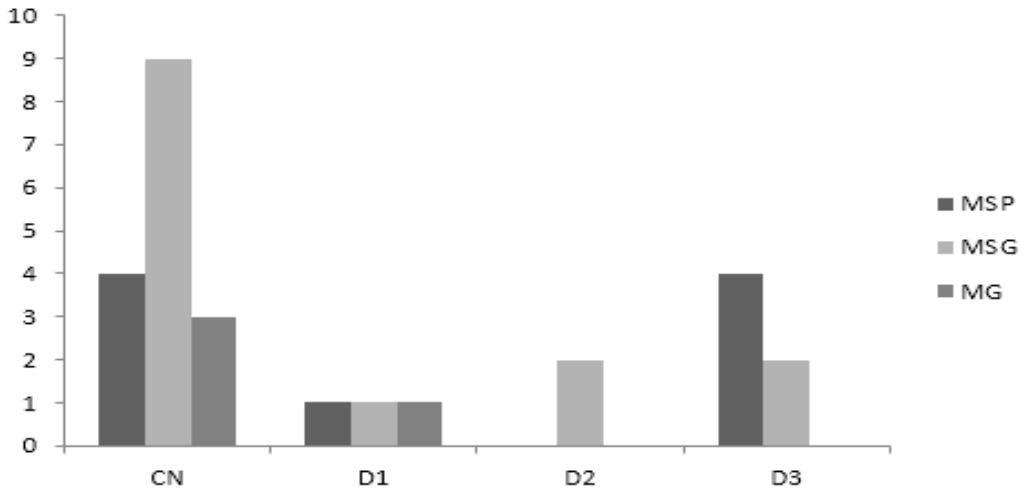


Figura 3 Distribuição de manchas observadas em asas de *D. melanogaster*, dos descendentes MH, provenientes do cruzamento HB tratados com água destilada (controle negativo) e com diferentes concentrações (140;77 e 35 mg/ml) da *S. maxima*.

Os dados obtidos na análise dos indivíduos MH dos cruzamentos ST e HB tratrados com diferentes concentrações de *S. maxima* associada à DXR (0,125mg/mL) são apresentados na **Tabela 2**.

A distribuição das manchas simples pequena(MSP) manchas grandes (MSG) e manchas gêmeas (MG) em relação as doses testadas provenientes dos descendentes MH dos cruzamentos ST e HB, respectivamente está representada nas **figuras 4 e 5.**

Tabela de resultados com diagnóstico estatístico pelo teste binomial condicional (Kastembaun e Bowman)

Genótipos e Conc. (mM)	N. de Indiv. (*N*)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico[a]							
		MSP (1-2 céls)[b] *m* = 2		MSG (>2 céls)[b] *m* = 5		MG *m* = 5		TM *m* = 2	
ST									
DXR 0,125 mg/ml	40	0,48	(19)	0,93	(37)	1,63	(65)	3,03	(121)
Água destilada	40	0,05	(02)	0,05	(02)	0,03	(01)	0,13	(05)
35 mg/ml + DXR	40	0,10	(04) ↓	0,13	(05) ↓	0,30	(12) ↓	0,53	(21) ↓
77 mg/ml + DXR	40	0,13	(05) ↓	0,53	(21) ↓	0,53	(21) ↓	1,18	(47) ↓
140 mg/ml + DXR	40	0,35	(14) i	0,35	(14) ↓	0,70	(28) ↓	1,40	(56) ↓
HB									
DXR 0,125 mg/ml	40	2,03	(81)	2,90	(116)	3,88	(155)	8,80	(352)
Água destilada	40	0,10	(04)	0,23	(09)	0,08	(03)	0,40	(16)
35 mg/ml + DXR	40	0,13	(05) ↓	0,15	(06) ↓	0,38	(15) ↓	0,65	(26) ↓
77 mg/ml + DXR	40	0,03	(01) ↓	0,23	(09) ↓	0,30	(12) ↓	0,55	(22) ↓
140 mg/ml + DXR	40	0,13	(05) ↓	0,28	(11) ↓	0,43	(17) ↓	0,83	(33) ↓

[a]Diagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würgler (1988): +, positivo; -, negativo; i, inconclusivo. *m*, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha = \beta = 0,05$.

[b]Incluindo manchas simples *flr*^{3} raras.

[c]Considerando os clones mwh para as manchas simples mwh e para as manchas gêmeas.

[d]Apenas manchas simples mwh podem ser observadas nos indivíduos heterozigotos *mwh/TM3*, já que o cromossomo balanceador TM3 não contém o gene mutante flr3.

Tabela 2. Frequência de manchas mutantes observadas nos descendentes MH de *D. melanogaster* do cruzamento padrão (ST) e de alta ativação metabólica (HB) tratados com diferentes concentrações do EAHp associadas ao cloridrato de doxorrubicina (DXR) 0, 125 mg/mL.

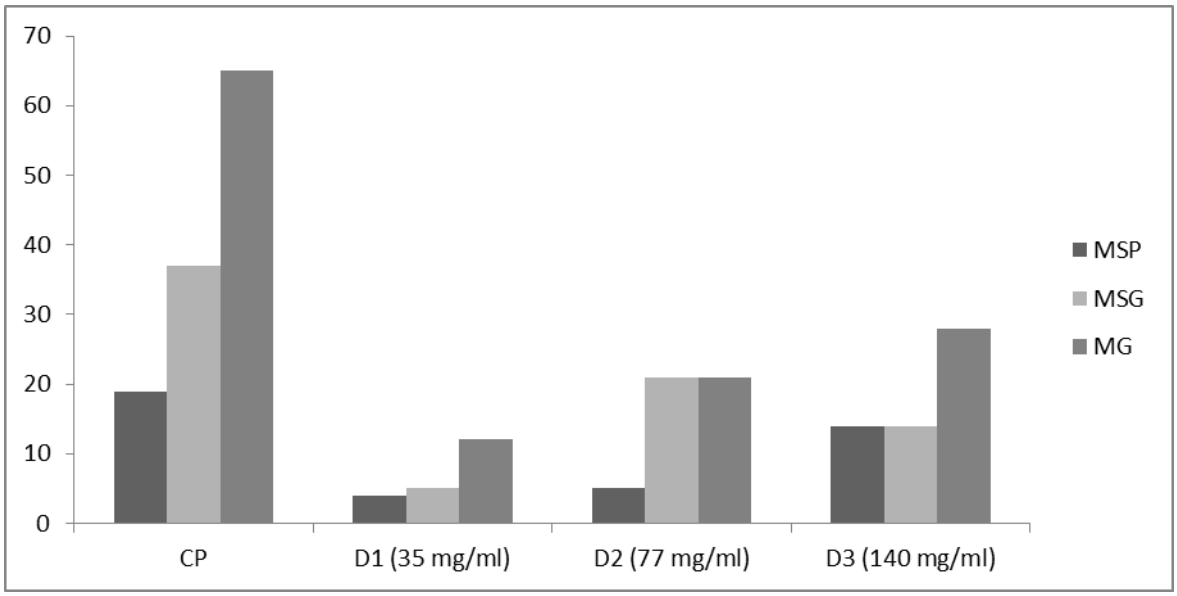


Figura 4: Distribuição de manchas observadas em asas *de D. melanogaster*, dos descendentes MH, provenientes do cruzamento ST tratados com DXR (0,125 mg/ml) isoladamente e em associação com diferentes concentrações (140;77 e 35 mg/ml) da *S. maxima*.

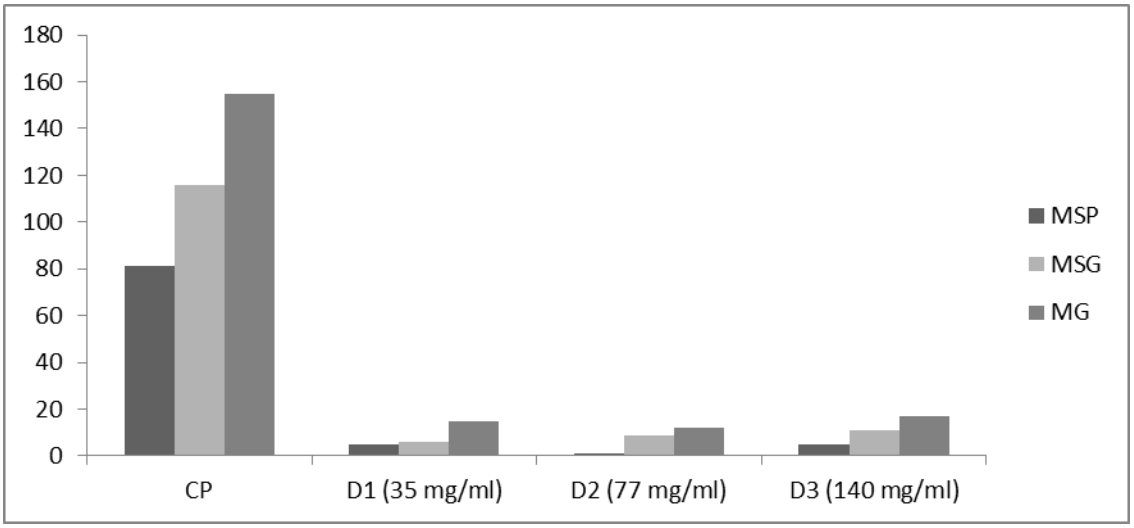


Figura 5: Distribuição de manchas observadas em asas de *D. melanogaster*, dos descendentes MH, provenientes do cruzamento HB tratados com DXR (0,125 mg/ml) isoladamente e em associação com diferentes concentrações (140;77 e 35 mg/ml) da S. maxima.

Em todas as doses testadas quando comparadas com o controle positivo(DXR) foram verificadas diminuições significativas ($\alpha = 0,05$) em ambos os cruzamentos na frequências de manchas simples pequenas, manchas simples grandes, manchas gêmeas e totais de manchas. A diminuição do número de manchas pequenas, manchas grandes e manchas gêmeas no

cruzamento ST e HB demonstraram ser dose-dependente. Sugerindo seu efeito modulador sobre os danos causados pela doxorrubicina ao DNA das células somáticas dos discos imaginais da *D. melanogaster*. O controle positivo apresentou para os descendentes MH, um aumento estatisticamente significativo na frequência de manchas mutantes, em todas as categorias, quando comparado ao controle negativo. Estes resultados reafirmam a validade do teste.

5. DISCUSSÃO

A comparação do genoma humano e o de *Drosophila* apontam para a alta conservação evolutiva, não apenas em nível de sequência de DNA, mas principalmente em relação às funções gênicas. Cerca de 60% dos 289 genes relacionados às doenças humanas catalogadas, apresentam homólogos em *Drosophila*, dos quais 75% portam sequências protéicas similares nesstes dois organismos (TICKOO e RUSSELL, 2002).

Além disso, um número significante de genes estudados na mosca da fruta provou ser homólogos de genes supressores de tumor e oncogenes humanos (MIKLOS e RUBIN, 1996). Em função dessa similaridade a *D. melanogaster* é considerada um excelente modelo para estudar a genotoxicidade e seus mecanismos moleculares, podendo fornecer respostas relevantes que podem ser extrapoladas para humanos com um índice de acerto de 92% (CUNHA, 2001).

A DXR apresenta efeitos citotóxicos quando ocorre a transformação da DXR para radical livre semiquinona, o que causa morte celular devido a danos no DNA (ROBERT & GIANNI, 1993). Assim sendo, terapias anticâncer são citotóxicas para as células cancerígenas, mas também para as células saudáveis.

O emprego concomitante de substâncias que possam modular os efeitos genotóxicos de agentes químicos e físicos, sem interferir na ação genotóxica nas células neoplásicas, é de grande importância para a prevenção de alterações gênicas em células saudáveis que possam resultar no aparecimento de novas doenças (TAKEUCHI & TAKAHASHI, 2001).

Estes resultados nos permitem considerar que o *S. maxima* tem ação antimutagênica, que quando associado à DXR deve desempenhar sua ação protetora por meio da captação de radicais livres induzidos pela DXR; e/ou por bloquear a interação da DXR e dos radicais

livres com o DNA. A presença de compostos fenólicos, o ß-caroteno e o tocoferol podem ser os responsáveis pela modulação dos efeitos da DXR ao DNA (Miranda *et al*., 1998).

A atividade antigenotóxica ocorreu de forma uniforme e mais protetora nos descendentes provenientes do cruzamento HB, que apresenta alto nível de enzimas de metabolização, portanto pode-se inferir que a *S. maxima* precisa ser metabolizada para exercer melhor sua atividade antioxidante.

Os resultados obtidos pela análise antigenotóxica da *S. maxima* apresentou-se de forma semelhante ao trabalho de MS MIRANDA (1998) que verificou a actividade antioxidante de um extracto metanólico de *S. maxima* determinada *in vitro* em um homogeneizado de cérebro e *in vivo* no plasma e no fígado de animais.

6. CONCLUSÃO

Com base nos dados da curva de sobrevivência dos indivíduos MH dos cruzamentos ST e HB, verifica-se que a *S. maxima* não apresentou efeito citotóxico significativo sobre as células de *D. melanogaster* 6 das 7 doses testadas entre os descendentes HB. Mas demonstrou-se genotóxica na concentração de (140 mg/ml) testada em comparação ao controle negativo, para os descendentes ST.

Apresentou atividade antigenotóxica modulando danos causados pelo quimioterápico DXR em todas as concentrações se *S. maxima* testadas.

7. Considerações finais

A estratégia experimental utilizada neste trabalho permitiu evidenciar sua ação antigenotóxica. Entretanto, outros estudos com diferentes modelos experimentais devem ser realizados para demonstrar os seus mecanismos de ação.

8. REFERÊNCIAS

BELAY A, OTA Y, MIYAKAWA K, SHIMAMATSU H. **Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*.** *J Appl Phycol* 1993; 5:235-41.

BERMEJO P, PIÑERO E, VILLAR AM. **Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis*.** Food Chem 2008; 110(2): 436-45.

BRUNTON LL, LAZO JS, PARKER KL, editors. *Goodman & Gilman:* **as bases farmacológicas da terapêutica**. 11.ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill; 2006. 1821p.

CUNHA, K. S. **Agentes antineoplásicos como indutores de toxicidade genética em células somáticas de *Drosophila melanogaster***. (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001. 115 p.

FREI H, WÜRGLER FE**. Optimal experimental design and simple size for the statistical evaluation of data from somatic mutation and recombination tests (SMART) in Drosophila.** Mutat Res - Envir mutagen. v. 334, n. 2, p.247-258, 1995.

GARCIA-BELIDO A, DAPENA J. Induction, **detection and characterization of cell diferentiation mutantes in Drosophila melanogaster.** Mol gen Genet. v. 128, n. 2,p.117-130, 1974.

GRAF, U., WÜRGLER, F. E., KATZ, A. J.; FREI, H., JUON, H., HALL, C. B. & KALE, P. G. (1984). **Somatic Mutation And Recombination Test in *D. melanogaster*. Environmental Mutagenesis.** v.6, p. 153-88.

MIRANDA MS, CINTRA RG, BARROS SBM, MANCINI-FILHO J**. Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*.** Braz J Med Biol Res
1998; 31 (8): 1075-9.

MIKLOS, G.L.G.; RUBIN, G.M. **The role of the genome project in determining gene function: insights from model organism**. Cell. v. 86, n.4, p.521-529, 1996.

MS MIRANDA, RG CINTRA, SBM BARROS, J. MANCINI-FILHO. **Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas**.1998.

TAKEUCHI P.L; TAKAHASHI C.S. A vitamina B6 e as aberrações cromossômicas induzidas pela doxorrubicina. V Congresso da Sociedade Brasileira de Mutagênese, Carcinogênese e Teratogênese Ambiental. **Programas e resumos**. Gramado – Rio Grande do Sul. 2001.

TICKOO, S. E S. RUSSELL. ***Drosophila melanogaster* as a model system for drug discovery and pathway screening**. Current Opinion Pharmacology, v.2, p.555-560. 2002.

TORRES-DURAN PV, FERREIRA-HERMOSILLO A, JUAREZ-OROPEZA MA. **Antihyperlipemic and antihypertensive effects of *Spirulina maxima* in an open sample of Mexican population: a preliminary report**. *Lipids Health Dis* 2007; 6:33.

RICHMOND A. ***Handbook of microalgal mass culture***. Boston: CRC Press; 1990.

ROBERT, J.; GIANNI, L. **Pharmacokinetics and metabolism of anthracyclines. Cancer Surveys.** v. 17, p. 219-252, 1993.

VONSHAK A**.** ***Spirulina platensis (Arthrospira):* physiology, cell-biology and biotechnology**. London: Taylor & Francis; 1997.

O CORPO DISCIPLINADO PELA MÍDIA: O CORPO QUE VESTE[1]

Ellen Kelúbia Gonçalves Silva
Universidade Federal de Goiás – Campus Jataí
ellengirl19@hotmail.com

Orientadora: Maria de Lourdes Faria dos Santos Paniago
Universidade Federal de Goiás – Campus Jataí
lurdinhapaniago@gmail.com

RESUMO: Vivemos numa sociedade de controle em que, a todo momento, tentam influenciar nossas escolhas e maneiras de pensar, agir e falar. Segundo Foucault, o corpo passou a ser o meio mais eficaz para efetivação deste controle, pois é nele que o poder realmente se efetiva. Porém não se trata de um poder que é sempre repressivo e negativo, mas de um poder que cria identidades, produz coisas, induz ao prazer e gera saber. Ele o faz através de táticas, leis e estratégias que adestram e disciplinam. Com discursos simuladores de saúde, liberdade e bem-estar, o poder faz parecer que algo seja natural e necessário, mesmo não sendo, para fazer com que o sujeito se torne útil e dócil, portanto mais produtivo. Um dos principais dispositivos de disciplinamento do corpo é a mídia. Diante disso, esta pesquisa tem o objetivo de investigar as práticas de subjetivação exercidas pela revista Men's Health, partindo do pressuposto de que a revista tenta fabricar um determinado tipo de corpo masculino. Analisou-se a construção do sujeito nas malhas da mídia no que se refere à relação do corpo masculino com a moda. Baseando-nos nos pressupostos de Michel Foucault, de que o corpo é dispositivo de poder e materialidade discursiva nas construções de subjetividade. Foram analisados *Guias de Estilo*, publicados em exemplares de maio de 2009 a julho de 2012.

PALAVRAS CHAVE**:** Foucault, mídia, corpo, subjetivação, poder, moda.

Introdução

A representação do corpo ao longo da história da humanidade sofreu transformações, modificações e reinvenções tornando-o símbolo da cultura vigente e espelho dos modos de convívio de sua época e espaço. A forma como o corpo é

[1] Artigo revisado pela orientadora.

enxergado é socialmente construída; sua percepção é perpassada pelas vivências pessoais, culturais e sociais (COURTINE, 2008). Em decorrência de um imenso processo de discursos, histórias e trajetórias, o corpo se tornou objeto de subjetivação, modulação e disciplinamento; segundo Filho e Trisotto(2008), ele se tornou objeto de múltiplas técnicas de construção.

Na visão médica, o corpo era tido como algo natural, preexistente a qualquer coisa. Porém, com a chegada da modernidade, houve uma desnaturalização, desmistificação e desconstrução deste corpo natural, pois se viu que a sua própria natureza era socialmente construída a partir de investimentos de poder e enunciações de saberes. Segundo Filho e Trisotto (2008), o jogo das enunciações, os dispositivos de normalização subjetivam e regulam a conduta, a vida dos corpos das populações e dos indivíduos. Para Foucault, o corpo é uma entidade em que são refletidas as relações de poder devido ao seu caráter de imprimir as transações sociais e culturais. Ele é, portanto, o único caminho para a subjetivação e constituição do ser.

Foi nos séculos XVII e XVIII que ocorreu o aparecimento de uma nova mecânica de poder. Antes o poder era transcrito na relação soberano-súdito, o poder era centralizado em um único ser, este era visto e temido por todos, mais do que isto, sua força dependia de sua visibilidade. O direito de morte e de vida se restringia ao soberano, se tratava em fazer morrer e deixar viver, a morte e a vida dos súditos eram assegurados pelo efeito da vontade soberana. Agora a nova tecnologia se apóia na vida, na população através de procedimentos específicos, instrumentos totalmente novos e aparelhos bastante diferentes, permite extrair do corpo tempo e trabalho, mais do que bens e riqueza, porém não com a intenção de suplicá-lo como era feito anteriormente, mas a fim de torná-lo mais eficiente, produtivo e dócil para a sociedade (FOUCAULT, 2002). Através de leis, táticas e estratégias, tais tecnologias conseguem disciplinar, adestrar e aprimorar o corpo. Nas palavras de Foucault (2011, p. 16)

> O poder não se interessa basicamente em expulsar os homens da vida social, mas sim em gerir a vida dos homens, controlá-los em suas ações para que seja possível e viável utilizá-los ao máximo aproveitando suas potencialidades e utilizando um sistema de aperfeiçoamento gradual e contínuo de suas capacidades.

O poder tem como pré-condição a liberdade para ser exercido. Ele só existe sobre sujeitos livres, por isso não é sempre repressivo e negativo, pois, se assim fosse, ele seria muito frágil. Se ele é forte, é porque produz efeitos positivos no âmbito do desejo e do saber (FOUCAULT, 2011). O que faz com que este poder se mantenha e

seja aceito é simplesmente por não ser uma força que diz somente não, mas que de fato produz coisas, induz ao prazer, gera saber e produz discurso.

Porém, distinto das teorias clássicas que elegem o Estado como centralizador de todo o poder, Foucault defende que ele é exercido por todos. Não há um só que o detenha, pois não se trata de um único poder soberano e sim de micro-práticas que não são exercidas necessariamente de cima para baixo, mas ocorrem sempre em uma determinada direção (FOUCAULT, 2011). Esse poder faz com que alguns conduzam a conduta do outro, agindo sobre a ação do outro, a isso se dá o nome de governamentalidade. Ocorre em sujeitos individuais ou coletivos, considerados livres, que possuem diante de si várias possibilidades de comportamentos e condutas, fazendo parecer aos sujeitos, que determinada coisa é natural e indispensável, mesmo não sendo (PANIAGO, 2005).

Essa governamentalidade, que ocorre por meio de discursos que simulam liberdade, bem-estar, saúde e qualidade de vida, direciona as escolhas dando a impressão de liberdade, pois se não houver mais de uma possibilidade de conduta, não há o que governar. Trata-se de dispor convenientemente as leis que estão imbricadas entre poder, saber e verdade. (PANIAGO, 2005).

Na sociedade de controle, verdade, poder e saber se entrelaçam fazendo com que o exercício do poder seja bastante eficaz, uma vez que ele se utiliza muito mais de táticas do que de leis (PANIAGO, 2005).

> A disciplina é uma técnica, dispositivo, método que permite um controle minucioso das operações do corpo, que asseguram a sujeição constante de suas forças e lhes impõem uma relação de docilidade-utilidade. Isso trabalha o corpo dos homens, manipula seus elementos produz comportamento, fabrica o tipo ideal de homem, o necessário ao funcionamento e manutenção da sociedade capitalista (FOUCAULT, 2011, p. 18).

Percebeu-se que, disciplinando o corpo, pode-se controlar o tempo produzindo o máximo de rapidez e eficácia não com intenção de destruir o indivíduo, mas sim de fabricá-lo. Foi no século XIX que, segundo Foucault, o poder se incumbiu tanto do corpo quanto da vida, conseguindo cobrir do orgânico ao biológico, do corpo à população, pois o poder é cada vez menos o direito de fazer morrer e cada vez mais o direito de fazer viver, atuando no "como" viver, já que o objetivo é aumentar a vida, criando identidades subjetivando corpos (FOUCAULT, 2002).

E hoje um dos dispositivos que mais cria e recria a subjetivação dos sujeitos tem sido a mídia. Vista como uma prática discursiva, produto de linguagem e processo

histórico, ela articula entre realidades e enunciações possibilitando a criação de identidades (GREGOLIN, 2007). A mídia é quem dita o que é e o que não é moderno, já que esta se tornou vitrine da sociedade. Ela, segundo Lachi e Navarro (2012), influencia os sujeitos fazendo com que eventos exteriores ao indivíduo como, por exemplo, modos de ser, que não fazem parte de seu cotidiano se infiltrem em sua realidade. E para se atingir o sentido de algo que é produzido por ela é imprescindível, segundo Gregolin (2007), a análise das posições do sujeito, das materialidades que dão corpo aos sentidos e as articulações que esses enunciados estabelecem com a história e a memória.

A mídia é o principal aparelho discursivo que modela a historicidade, que instala representações, forja diretrizes que norteia a criação simbólica da identidade, que transpõe e constitui o ser humano, unindo-o ao passado e ao presente. É preciso, ao investigar tal dispositivo, analisar o que é dito e não dito também, pois o discurso se dá por meio de práticas discursivas e não discursivas, pois é nele que poder e saber se articulam. E tentar compreender essa discursividade histórica, que cria julgamentos, conhecimentos e assuntos a cada momento, ajuda a entender a relação de determinadas produções e enunciações de verdades (GREGOLIN, 2007).

Porém os discursos se confrontam em torno de dispositivos identitários, pois os sujeitos são sociais e os sentidos são históricos, e sabe-se que seria muito ingênuo acreditar numa cega submissão a tais mecanismos de controle e poder, se de algum modo não fizessem sentido, não entrelaçassem a valores ou reafirmassem certas vantagens (GREGOLIN, 2007). A resistência existe, uma vez que "a capacidade de recalcitrar, de se insurgir, de se rebelar e resistir são elementos constitutivos da própria definição de poder" (MAIA 1995 p. 90). Só há poder onde há resistência, se sempre houvesse apenas a submissão não haveria a fabricação de novos sentidos.

Diante disto, esta pesquisa tem como principal objetivo analisar discursos midiáticos, verbais e imagéticos, que buscam criar identidades masculinas, a partir de uma determinada ação sobre o corpo. Ou seja, foram investigadas práticas de subjetivação exercidas pela mídia as quais tentam fabricar um determinado tipo de corpo masculino. Estudou-se então a relação na mídia, do corpo com a moda, com base nos princípios de Michel Foucault de que o corpo é dispositivo de poder e materialidade discursiva nas construções de subjetividade. Foram analisadas reportagens do Guia de Estilo de algumas edições da revista Men's Health com o intuito de saber de que forma as relações de poder tem produzido sujeitos. Que tipo de homem as matérias querem

criar? A primeira reportagem aqui analisada é o *Guia de Estilo: 207 idéias para um visual arrasador,* publicada na revista Men's Health maio de 2009, p. 110 a 115, v. 37.

Análise da Revista Men's Health



Fig. 01 Guia de Estilo: 207 idéias para um visual arrasador pg. 110

A imagem de abertura traz um homem desamarrando o vestido de uma mulher antes mesmo do enunciado com o nome da reportagem. Logo em seguida é que são apresentadas diversas dicas de acessórios, ternos, calçados, perfumes dentre outras. O que mais chamou a atenção foi o apelo sexual presente nesta reportagem, na primeira figura o desamarrar do vestido em si já diz muito. E porque esta imagem e não outra em seu lugar? Por exemplo, um homem bem vestido em uma reunião ou conferência, não poderia ser sinônimo de um visual arrasador? Porém o bem vestido aqui, não remete a esta idéia, mas sim a prevalência do homem sobre o corpo da mulher. Trata-se de um guia de trajes para inúmeras ocasiões desde um almoço em família à festa de gala, e então, porque ter na figura de abertura um homem desamarrando o vestido de uma mulher? Subtende-se que "qualquer homem" seguindo "qualquer uma" destas 207 dicas, poderá obter um visual arrasador, ou seja, o visual arrasador é conseguir seduzir, conquistar uma mulher.

Nas páginas que se seguem abaixo , há dicas de trajes para se usar em muitas ocasiões, como festas de aniversários, jantares de gala, formaturas etc. São dicas minuciosas desde tons de ternos claros para serem usados em almoço à gravata borboleta preta de seda para traje de gala. Isso dá a sensação ao leitor de que, realmente ele é quem vai decidir por si mesmo, por não serem tão incisivas e darem muitas opções de traje, as dicas dão muitas alternativas de escolha o que faz lembrar que só há relações de poder sobre sujeitos que tem diante de si um campo de possibilidades, em que

diversas condutas, reações e modos de comportamentos podem acontecer (PANIAGO, 2005).



fig. 02



fig.03



fig.04



Fig. 05

Na manchete da *figura. 01,* há a seguinte frase "*Pronto para a festa*? *As dicas são nossas, mas o estilo é seu*" a intenção da reportagem é de justamente guiar o modo de vestir por meio de dicas. Então será ainda possível pensar em estilo próprio? Isso nos remete ao que Foucault nos ensina: o poder age de modo a fazer com que o indivíduo sobre o qual é exercido acredite que se trata de algo natural e necessário, ocorrendo a governamentalidade, ação de uns sobre a ação de outros.

Existe uma linearidade entre as fotos. Há uma sequência lógica que pode ser compreendido como um momento de sedução, pois em todas as fotos existem objetos femininos vermelhos, a cor do desejo, dando a impressão ao leitor de que uma mulher participa da cena. Pode-se depreender que, na figura 02, é como se o modelo estivesse começando a desabotoar a camisa. Na figura 03, o homem, viril e sedutor, já tem a

sandália da mulher em suas mãos. Na 04, o vestido já está sobre o sofá, e ele está com uma bebida nas mãos à espera. A figura 05 mostra o homem já deitado no sofá e sem o terno, como se a mulher estivesse se despindo em sua frente, com feição que pode ser entendida como de desejo e de atração física. É importante observar que o rosto do homem pode ser também entendido como possuidor de um ar de poderio, charme e sedução que dá sensação de liberdade e domínio sobre o sexo feminino.

Fig. 06 *Fig. 07* *Fig 08*



Guia de Estilo: Estilo Casual pg. 112 a 119

A reportagem *Guia de Estilo: Estilo Casual* n°75 julho de 2012 p. 112 a 119 divulga um outro tipo de vestimenta, mas o estilo sedutor continua presente. Além disso, utiliza-se uma outra estratégia: as imagens sempre fazem alusão a informações históricas sobre o componente de moda exibido; remetem ao surgimento do traje, o que pode ser compreendido como uma forma de vincular o poder ao saber, segundo Foucault é o discurso que articula poder e saber, produzindo e fabricando sujeitos.

A reportagem faz uma construção histórica de como, quando surgiu por quem era usada dentre outros, fortalecendo então a divulgação da peça. A Jaqueta Varsity (fig. 06) segundo a legenda veio dos atletas escolares do baseball e basquete americano que eram presenteados, devido ao bom desempenho, com jaquetas contendo as iniciais do colégio. A reportagem usa um saber já construído através do traje para enfatizar, subsidiar o seu uso para os demais homens não se restringindo apenas aos atletas.

Isso também acontece com as outras imagens. Na sétima figura o tênis Vintage, atrelado ao técnico de corrida Bill Bowerman, criador de um modelo próprio para corredores, serviu como respaldo para a reportagem sugerir seu uso. Mas não para um homem atleta que compete e tem na corrida, ou outro esporte, seu alvo maior, mas sim

para um homem muito mais moderno segundo ela, que vai à balada , demonstrando perfeitamente a que homem se tenta subjetivar ou produzir . Veja trecho da reportagem:

> O tempo passou e o modelo Vintage, que já foi moda nas pistas de corrida, agora está nos pés dos mais descolados em outra pista, a balada. (Men's Health).

Na oitava figura, tem-se a camiseta Henley a peça que já foi uniforme de remadores em 1839, que esteve no auge dos anos 70 e está de volta. Faz novamente uma relação entre a história assegurando o uso do traje. Percebe-se que a reportagem não se volta para homens que praticam algum desses esportes citados acima. Jogadores de basquete, corredores ou remadores não são o alvo principal da revista, (apesar de sempre associar o belo, ideal ao corpo magro) mas servem de inspiração para propagar e mercantilizar a peça exposta na reportagem.



Guia de Estilo: Entre no linho pg. 133

Fig. 09

A figura 09 do *Guia de Estilo: Entre no linho* dezembro de 2011 n°68 pg. 133 também constrói todo um contexto histórico para, neste caso, o tecido em questão. Há sempre um saber vinculado ao traje, como se validasse mais a peça, por já ter sido usado em outras épocas. Segundo a reportagem o linho já serviu como referência a hippies e turistas ricos do Caribe. Por meio dessa estratégia, a propaganda ganha mais credibilidade. A reportagem institui "verdades". De forma sutil tenta dar a impressão ao leitor de que se trata de natural e necessário.

Essa opção por veicular os trajes a alguma outra coisa é encontrado também em outro Guia de Estilo. Dessa vez, a referência é em relação a artistas, astros do cinema. São peças inspiradas em atores. É interessante enfatizar as frases clichês dos Guias. Semelhantemente ao enunciado da primeira reportagem analisada, "*207 idéias para um visual arrasador",* a próxima reportagem a ser analisada tem como chamada principal "*124 idéias práticas para criar o look imbatível" maio de 2012 n° 73 p. 88 a 105* que é

mostrada nas figuras 10 e 11 a seguir. Os números grandes causam um efeito maior; dão ênfase e chamam mais a atenção do leitor. Aqui também podemos ver o que Foucault ensina: o poder só é exercido sobre sujeitos livres, que possuem diante de si diversas condutas e possibilidades de escolha, embora tenham a sensação de que estão sendo livres ao escolher.

A figura 12 faz referência ao grande astro dos cinemas Bruce Willis; especificamente a um de seus filmes mais conhecidos, "*Duro de matar*". A reportagem traz como sugestão de uso o suéter usado pelo ator no filme, porém com pequenas modificações na gola. A figura 13 cita o famoso chapéu chamado "*Fedora"* usado por Idiana Jones;

Fig 10 Fig. 11 Fig 12 Fig 13



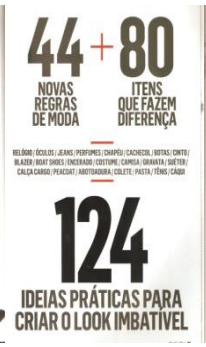








Fig. 14

124 idéias práticas para criar o look imbatível

O interessante e até cômico é que, bem diferente do contexto em que o ator usa o chapéu em seus filmes, a sugestão do acessório é para a balada. Mais uma vez pode-se perceber que a matéria pretende fabricar um tipo de homem bem específico. Na figura

14, o ator Marty Mcfly, de "*De volta para o futuro*" está presente também no guia de estilo com o colete "puff", indicado para o inverno.

Todos os enunciados dessa reportagem trazem modelos com trajes "antigos". Porém com novos detalhes, sinalizando sempre que não se trata da mesma peça de anos atrás; ela está com "cara nova", já foi tendência em outras épocas, mas agora é auge certo nas pistas da balada. Percebe-se a relação poder-saber-verdade, ou seja, existe um saber que é propagado pela revista e que estabelece relações de poder que divulgam o que é verdadeiro da época.

Esse homem, além de ser o que curte a balada, também vai à academia a fim de obter um corpo malhado, e magro é claro. Isso é percebido na reportagem *Guia de Estilo: Dossiê da Alfaiataria Junho de 2011 n° 62 pg. 116 a 121.*

Fig. 15 *Fig 16* *Fig 17*



Dossiê da Alfaiataria pg. 116

Nas figuras 15 e 16 está escrito: *"O terno ficou mais ajustado para acompanhar o homem que agora está emagrecendo"* e a segunda frase *"O corte do terno mais ajustado realça o corpo do cara que faz academia"*. Será que o objetivo destes enunciados é somente dar dicas de ternos para este tipo de homem? Ou há uma tentativa de subjetivar aquele que não se enquadra nesse tipo físico? Supostamente os dois casos fazem parte do público alvo da Men's Health. Segundo Foucault, é o discurso que articula poder e saber para produzir sujeitos.

Considerações Finais

Que tipo de homem esse tipo de reportagem está tentando construir? As dicas referem-se somente à moda ou comportamentos também são alvos de tentativas de subjetivação? O que é se vestir bem para Men's Health?

Segundo Foucault, o poder não se possui, ele só existe em relação. Ele não é privilégio adquirido ou conservado de algumas classes e se utiliza de táticas e estratégias. O tipo de homem supostamente pensado pelas reportagens seria aquele homem *fashion*, sedutor, galã, viril, totalmente moderno, urbano (pois até a sugestão para se usar um chapéu não é para o campo, e sim para a balada) e que vai a baladas. Segue tendências da moda, é malhado, detalhista e vaidoso. Homem executivo e administrador, que sabe guiar seus negócios e sua vida a dois.

Parece ser imprescindível não dizer que as dicas de moda vêm carregadas de dicas de comportamento, pois segundo Tasso e Navarro (2012, pg. 21) "existe uma associação entre a identidade da pessoa e as coisas que uma pessoa usa". Ao sugerir modos de vestimenta, sugere-se consequentemente comportamentos. Seria muito ingênuo acreditar que dicas de moda só se direcionam para o modo de vestir-se. As análises aqui desenvolvidas mostram que as matérias da Men's Health que têm supostamente a moda como principal alvo tentam guiar também modos de ser, agir e pensar. Há a subjetivação e a construção de sujeitos masculinos, pois a revista Men's Health age como dispositivo de poder na tentativa de subjetivar o corpo de seus leitores de modo a enquadrá-los em um modelo considerado ideal não só em relação à moda, mas também em relação a outros aspectos que contribuem com a constituição do gênero masculino. Se o poder se exercesse apenas por meio da repressão, fosse sempre negativo ele seria muito frágil, se é forte é porque produz efeitos positivos a nível do desejo e do saber e isto é decorrente nas reportagens da Men's Health.

Portanto, é possível perceber que, utilizando estratégias discursivas que criam determinadas verdades, a revista procura direcionar as escolhas de seus leitores. Por meio de *Guias de estilos,* a publicação não busca direcionar apenas as escolhas relacionadas a roupas e acessórios, mas também a estilos de vida, subjetivando e fabricando corpos masculinos. Porém, isso é feito de forma bastante sutil, para que o leitor acredite que é ele quem está criando o seu próprio estilo de vestir ou de se comportar.

REFERÊNCIAS

COURTINE, J, J (coord). *História do corpo: As mutações do olhar. O século XX.* 2. Ed. Direção, Alain Corbin; Jean-Jacques Courtine; Georges Vigarello. Tradução de Ephraim Ferreira Alves. Petrópolis, RJ: Vozes, 2008.

FILHO, P. K.; TRISOTTO, S. *O corpo problematizado de uma perspectiva histórico-política.* Psicologia em Estudo, Maringá, v. 13, n. 1, p. 115-121, 2008.

FOUCAULT. M. *Microfísica do Poder*. Tradução, Organização e Revisão de Roberto Machado. São Paulo: Graal, 2011.

_____. M. *Aula de 17 de março de 1976.* In: *Em defesa da sociedade:* curso no college de Frnce(1975-1976). Trad. Maria Ermantina Galvão. São Paulo: Matins Fontes, 2002.

GREGOLIN, M, R. *Análise do Discurso e mídia a (re)produção de identidades.* Comunicação, mídia, e consumo. São Paulo, vol.4. n. p. 11 - 25 nov. 2007

Guia de Estilo: "207 idéias para um visual arrasador". In: Revista Men's Health, n° 37, São Paulo: Abril. Maio de 2009.

Guia de Estilo: "Estilo Casual". In: Revista Men's Health, n°75, São Paulo: Abril. Julho de 2012.

Guia de Estilo: "Entre no linho". In Revista: Men's Health, n°68, São Paulo: Abril. Dezembro de 2011.

Guia de Estilo: "124 idéias práticas para criar o look imbatível". In Revista Men's Health, n°73, São Paulo: Abril. Maio de 2012.

Guia de Estilo: "Dossiê da Alfaiataria". In Revista Men's Health, n° 62, São Paulo: Abril. Junho de 2011.

LACHI, P.; NAVARRO, P. O corpo moldado: corporeidade mediada e subjetivação. In: TASSO, I.; NAVARRO, P (Orgs.) *Produção de identidades e processos de subjetivação em práticas discursivas*. Maringá: Eduem, 2012.

MAIA, A. C. *Sobre a analítica do poder de Foucault.* Tempo Social; Rev. Social. USP, São. Paulo, 7(1-2): 83-103,outubro de 1995.

PANIAGO, M. *Práticas discursivas de subjetivação em contexto escolar*. Tese (Doutorado em linguística) – Faculdade de Ciência e Letras, Universidade Estadual Paulista, Araraquara. 2005.

Digestibilidade *in vitro* de dietas 10:90 e 50:50 (volumoso:concentrado) em inóculo ruminal contendo extrato seco padronizado de *Lafoensia pacari.*

Pâmella Alves Correia[1], João Teodoro Padua[2], Barbara Juliana Martins Lemos[3], Flávia Martins de Souza[3], Marcelo da Silva Lima[4]

[1] Orientanda do projeto de iniciação científica (PIBIC), e-mail: pamcorreia@gmail.com.

[2] Orientador Professor Doutor da Universidade Federal de Goiás, Goiânia

[3]Programa de Pós Graduação em Zootecnia, EVZ/UFG

[4]Aluno de graduação da Escola de Veterinária e Zootecnia, UFG

Escola de Veterinária e Zootecnia/Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia. Caixa postal 131 – CEP: 74001-970 – Goiânia – GO, Brasil.

RESUMO

Os óleos essenciais de plantas do cerrado tem se mostrado uma alternativa ainda pouco explorada como moduladores da microbiota ruminal. Antes de qualquer ensaio *in vivo* é imprescindível o estudo de sua digestibilidade no ambiente artificial para que possamos ter um parâmetro e assim determinar a possibilidade de estudos mais aprofundados. Neste ensaio testou-se o uso de *Lafoensia pacari* avaliando-se quatro doses 0 (controle), 30, 300 e 3.000 ppm de extrato seco da casca de pacarí/L fluido ruminal tamponado. Estes valores extremos foram justamente para acentuar as alterações causadas pelo bioproduto no ambiente ruminal, se existentes, evitando assim suspeitas de dúvida do seu efeito sobre a microbiota ruminal. A dose 30 ppm foi considerada a melhor dose de utilização desse extrato, pela elevação da concentração de AGCC e redução da relação acetato:propionato quando comparado ao tratamento controle. Mas tanto a adição das doses 30 e 300 ppm do extrato indicaram uma fermentação ruminal energeticamente mais eficiente, diminuindo a atividade de bactérias celulolíticas e de protozoários. Além de não afetar a cinética de desaparecimento ruminal da MS, podendo-se afirmar que o efeito dos taninos é dose dependente. Enquanto a adição da dose 3.000 ppm reduziu a degradabilidade potencial da MS da dieta incubada e diminuiu a concentração de N-NH_3 e isovaletaro, por mais que, de forma geral, a inclusão do extrato seco da casca de Pacarí não tenha deprimido a concentração de AGCC.

PALAVRAS-CHAVE: Óleos essenciais, bioproduto, microbiota ruminal, *in vitro,* digestibilidade, *Lafoensia pacari*.

INTRODUÇÃO

Os microrganismos no rúmen são capazes de degradar os nutrientes e produzir ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e proteína microbiana, fontes de energia e proteína para o organismo. A fermentação é capaz de causar perdas de energia na forma de metano e ineficiência na síntese de proteína por perdas de nitrogênio amoniacal (N-NH_3) que é capaz de

- Revisado pelo orientador. -

limitar o desempenho e liberar poluentes no ambiente (BUSQUET et al. 2006; CALSAMIGLIA et al., 2007). Entre 8 e 12% da energia digestível ingerida pelos ruminantes é perdida no rúmen e de 75 a 85% do nitrogênio consumido por vacas leiteiras é excretado nas fezes e urina (BUSQUET et al., 2006).

O uso de ionóforos é, muito provavelmente, o mais bem sucedido exemplo de como a manipulação de fermentação ruminal auxilia para o aumento do desempenho animal. A monensina sódica, por exemplo, é utilizada comercialmente na produção de ruminantes desde a década de 70 do século passado. Segundo CASTILLEJOS et al. (2006) antibióticos ionóforos reduzem perdas de energia e proteína no rúmen, entretanto o uso desse tipo de antibiótico na alimentação animal tem pouca aceitação da sociedade, principalmente nossos mercados consumidores mais significativos, como a União Europeia, que baniu o uso desses produtos na produção animal desde janeiro de 2006, alegando o risco da presença de resíduos no leite e na carne.

Sendo assim, há a necessidade de criar alternativas capazes de controlar microrganismos específicos moduladores da fermentação ruminal para reduzir perdas de energia e proteína no rúmen.

Há séculos compostos extraídos dos vegetais são usados pelas mais diversas civilizações humanas com fins medicinais, industriais e, até, com aplicações na fabricação de alimentos. Muitos extratos vegetais tem atividade antimicrobiana comprovada, o que permite que eles sejam considerados uma alternativa natural e segura aos antibióticos.

Dentre as vantagens da utilização destes compostos está o baixo risco de aparecimento de resistência microbiana, já que compostos secundários apresentam muitas vezes diversos princípios ativos, lhes conferindo diferentes modos de ação (ACAMOVIC & BROOKER, 2005). Outra vantagem da produção ou extração sustentável dessa planta seria na luta contra o desmatamento, em seus locais de origem, sendo mais uma opção de renda para as comunidades onde esses produtos são encontrados, principalmente no Cerrado e na Amazônia. Assim ao descobrir os efeitos positivos, futuros produtos comerciais poderão ser desenvolvidos e patenteados.

A flora brasileira é indiscutivelmente referência quando se trata de variedade e riqueza (LORENZI & MATOS, 2002). A medicina popular brasileira, conhece desde os tempos indígenas o uso de inúmeras plantas nativas do Brasil com atividade antimicrobiana (COELHO DE SOUZA et al., 2004). Esta presente na literatura científica nacional muitos trabalhos que avaliaram os efeitos antimicrobianos de plantas nativas do Brasil nas mais diversas áreas do conhecimento e aplicação. Mas não há o conhecimento de pesquisas que

tenham avaliado o uso de plantas brasileiras com o objetivo de manipular a fermentação ruminal.

Os subprodutos do metabolismo das plantas não influenciam diretamente seu desenvolvimento (CALSAMIGLIA et al., 2007) como os óleos essenciais, que são componentes voláteis e taninos (YANG et al., 2007). Estes estão relacionados com funções como defesa contra microrganismos, sendo capazes de alterar o crescimento e metabolismo bacteriano, até mesmo das bactérias ruminais (BENCHAAR et al., 2008).

A flora brasileira, estimada entre 40 e 55 mil espécies, ainda tem muito a ser estudada. Compostos cujas estruturas químicas foram determinadas ainda não foram muito explorados quanto todas as suas possíveis atividades biológicas (SILVA et al., 2005). Portanto, é visível o interesse científico e importância desses estudos para identificar substâncias naturais com ação semelhante aos ionóforos. Para isso é necessário maiores estudos a respeito dessas plantas, pois muito ainda se desconhece a respeito das suas possibilidades de uso.

Objetivou-se enriquecer a literatura a respeito do bioma cerrado e seus possíveis fitoterápicos ao avaliar a digestibilidade *in vitro* de dietas 10:90 e 50:50 (volumoso:concentrado) em inóculo ruminal contendo extrato seco padronizado de *Lafoensia pacari* determinando a melhor dose de utilização desse extrato.

METODOLOGIA

O experimento ocorreu no Departamento de Produção Animal (DPA) da Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ) nos Laboratórios de Nutrição Animal da EVZ, Laboratório Multidisciplinar da Rede Produção Animal Sustentável (LAMUPAS) e Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN) da Universidade Federal de Goiás (UFG) situada no município de Goiânia-GO, e no Laboratório de Nutrição Animal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ, Piracicaba-SP, no período de agosto de 2012 a julho de 2013.

Este experimento foi programado para avaliar a fase fermentativa da técnica de digestibilidade *in vitro* validada por HOLDEN (1999) ao descrever a cinética de degradação ruminal da matéria seca (MS). O ensaio foi realizado em blocos completos ao acaso, sendo a incubação, repetida cinco vezes, Os tratamentos foram feitos avaliando-se quatro doses 0 (controle), 30, 300 e 3.000 mg de extrato seco da casca de pacarí/L fluido ruminal tamponado.

O extrato seco da casca de pacarí foi preparado no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais da Faculdade de Farmácia da UFG (LPPN). Para sua obtenção, ocorreu a maceração da matéria-prima vegetal (cascas do caule das plantas) previamente por 24 horas e, submetida logo em seguida à percolação em temperatura até esgotamento do pó.

No processo extrativo, foi utilizado percoladores de aço inox com capacidade de 10 litros, tipo 304, e solução de etanol e água destilada como líquido extrator na proporção 80:20 v/v (LASURE et al., 1994). O extrato líquido foi concentrado em rotaevaporador e feito a secagem em Spraydrier usando maltodextrina como o adjuvante de escolha.

A ração experimental incubada era composta por feno de Tifton 85, farelo de soja, caroço de algodão, milho moído, suplemento vitamínico e mineral. Os teores de MS, PB, EE, MM, FDN e FDA da dieta experimental foram realizados segundo metodologias descritas por DETMAN et al. (2012). Formando a composição bromatológica da dieta de 89% MS, 14,98% PB, 20% FDN, 7% FDA, 15% MM, 3,1% EE, tendo assim relação volumoso:concentrado de 10:90. A dieta foi moída em moinho tipo *Willey* com tela de 1 mm.

Os saquinhos foram confeccionados de tecido não tecido (TNT) medindo 5,0 cm x 5,0 cm capaz de acondicionar a dieta experimental e selados para serem incubados. Eles foram lavados em água fervente com detergente. Logo após, foram enxaguados, a água escoada e os saquinhos levados à estufa a 105 ºC por 24 horas para remover a umidade existente.

Em seguida, foram identificados com caneta e colocados novamente na estufa a 105 ºC por 3 horas, para estabilizar os pesos. Os saquinhos foram colocados no dessecador, permanecendo por 40 minutos e só depois foram pesados para serem incubados.

As coletas de líquido ruminal foram feitas antes da primeira refeição da manhã. Foi usado líquido do rúmen de dois bovinos, mestiços, fistulados, com média de 24 meses e 360 kg alimentados com dieta de relação volumoso:concentrado de 15:85, baseado na matéria seca, composta por bagaço de cana, farelo de soja, caroço de algodão, milho moído, suplemento vitamínico e minerais. A dieta foi formulada para atender as exigências de machos da raça holandesa, em fase de crescimento, com 360 kg de peso corporal, utilizando o software NRC (1996).

Foi feita a coleta manual do conteúdo ruminal, filtrado em pano de malha fina, colocado em garrafas térmicas já aquecidas com água a 40ºC, e conduzido imediatamente ao laboratório para preparação e montagem do sistema de incubação.

O ensaio com a fermentação ruminal *in vitro* foi conduzido no Laboratório Multidisciplinar da Rede Produção Animal Sustentável (LAMUPAS), do Departamento de Produção Animal (DPA) da Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ) da UFG.

Foi usada a incubadora TE-150 (Tecnal, Piracicaba/SP) para o desenvolvimento deste ensaio, de acordo com a metodologia descrita pela ANKON (2012). A Incubadora TE-150 (Tecnal) é composta por quatro frascos de digestão independente, onde a fermentação é mantida em agitação contínua a temperatura específica de 39,5 ºC.

Foi preparado para cada frasco de digestão 1,584 mL de solução tamponante, 400 mL de líquido ruminal e 16 mL de etanol e extrato seco de pacarí diluído nessa solução. Os 16 mL foram adicionados também no tratamento controle mesmo não contendo o bioproduto.

A solução tamponante foi formulada por duas soluções tampão (A e B) em uma proporção de 1:5 para obter um pH final de 6,8 a 39 ºC. A solução tampão A era composta por: KH_2PO4 (10 g/L), $MgSO_4.7H_2O$ (0,5 g/L), NaCl (0,5 g/L), $CaCl_2.2H_2O$ (0,1 g/L) e ureia (0,5 g/L). Já a solução tampão B continha Na_2CO_3 (15,0 g/L) e $Na_2S.9H_2O$ (1,0 g/L).

A solução tamponante formada foi adicionada nos frascos de digestão da incubadora e aquecida a 39,5 ºC, por 30 minutos. Após esse período foram acondicionados os saquinhos contendo substrato, o líquido ruminal e a solução de etanol com o extrato seco de pacarí sob infusão constante de CO_2.

Cada frasco armazenou 22 saquinhos com substrato (ração) e 1 branco (sem substrato). Foram retirados 3 saquinhos nos tempos 2 e 4 hs e 4 saquinhos para os tempos 8, 12, 24 e 48 hs (para permitir quantidade de substrato suficiente para análises bromatológicas), e lavados em água fria, para paralisar a atividade microbiana, o que acontecia quando a água escoada se apresentasse limpa. Retirada a água sobressalente, os saquinhos foram colocados na estufa de circulação forçada de ar a 55°C por 24 horas e secados completamente quando colocados a 105°C, por 12 horas. Em seguida foram colocados em dissecador por 40 minutos e tiveram seus pesos registrados.

A mensuração do pH e coleta de amostras do inóculo ruminal tamponado foram feitos após 48 hs de incubação para análises das concentrações de AGCC e $N\text{-}NH_3$. As mensurações de pH foram feitos em todos os tempos de incubação usando potenciômetro digital. A produção de AGCC foi analisada por cromatografia em fase gasosa com as amostras preparadas conforme descrito por ARAÚJO (2010). A determinação das concentrações de N-NH3 foi por calorimetria/espectrofotometria conforme descrito por CHANEY & MARBACH (1962).

Análises das concentrações de taninos do extrato seco da casca de pacarí foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais da Faculdade de Farmácia (LPNN) da UFG. As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos (LANA) da Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ) da UFG. As análises da concentração de N-NH_3 no inóculo ruminal tamponado foram feitas por espectrofotometria conforme CHANEY & MARBACH (1962), no Laboratório de Fisiologia da Digestão do Instituto de Ciências Biológicas II da UFG.

Para a mensuração da concentração de AGCC, 1,6 mL de fluido ruminal tamponado foi centrifugado a 15.000 x durante 15 minutos a 4 °C, com 0,4 mL de solução 3:1 de ácido metafosfórico 25% com ácido fórmico 98-100% + 0,2 mL de solução de ácido 2-etil-butírico 100 mM. As amostras foram centrifugadas, congeladas e enviadas para o Laboratório de Nutrição Animal (LANA/CENA/USP) da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ, Piracicaba-SP, para análise em cromatógrafo gasoso.

A degradabilidade *in vitro* da MS foi encontrado pela fórmula:

$$Deg\ (\%) = \{[Ai - Pf - (S*F)] / Ai\} * 100$$

Em que:

Ai: peso inicial do substrato multipicado pelo teor de MS (definido em estufa a 105 ºC);

Pf: peso final composto pelo peso do saquinho mais do substrato;

S: peso inicial do saquinho ao ser preparado e lavado e secado antes da adição do substrato;

F: fator de correção (peso final do saquinho branco após incubação/peso do saquinho branco antes da incubação);

Os dados de degradabilidade foram corrigidos pelo modelo de ØRSKOV & MCDONALD (1979), de acordo com a equação:

$$p = a + b\ (1\text{-}e^{-ct})$$

Em que:

p = taxa de degradação no tempo t;

a = fração de rápida degradação (representado pelo intercepto da curva de degradação no tempo zero);

b = fração potencialmente degradável;

c = taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável;

e = logaritmo natural de "-ct";

t = tempo de incubação.

*Sendo que $a + b \leq 100$.

As constantes a, b e c foram utilizadas para cálculos da degradabilidade potencial (a+b) e da degradabilidade efetiva segundo a equação de ØRSKOV et al. (1980):

$$p = [a + (bc)] / (c+Kp)$$

Onde:

p = representa a taxa de degradabilidade efetiva;

a = é a interseção da curva no tempo zero, a fração rapidamente solúvel;

b = é a fração potencialmente degradável, a fração degradada no tempo;

c = é a taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável;

Kp = taxa estimada de passagem das partículas no rúmen por hora (2, 5 e 8%).

Ao considerar o período de incubação como bloco, foi feito o delineamento em cinco repetições em blocos alternados ao acaso. Os dados foram analisados pelo software R (The R Development Core Team, 2012). Foi realizada a análise de regressão para os resultados das doses de extratos vegetais nos diferentes tempos.

As médias dos parâmetros avaliados foram submetidas à análise de variância e comparadas pelo teste *Tukey* nível de significância 5% por meio do software R (The R Development core Team, 2012), sendo que comparações e tendências foram discutidas em $p \leq 0,05$.

Modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \beta_j + e_{ij}$$

Em que:

Y_{ij}: valor observado;

μ: média geral;

t_i : efeito do tratamento i;

β_j: efeito do bloco j;

e_{ij} : erro experimental.

RESULTADOS

O extrato seco da casca do caule de pacari utilizado no presente estudo continha teor total de taninos de 27,5%. O extrato de *Lafoensia pacari* apresenta os taninos hidrolisáveis como composto de maior representação. Pode-se observar ainda a presença de saponinas, fenóis simples, esteroides e triterpenóides, todos com atividade antimicrobiana (TAMASHIRO FILHO et al., 2012).

De acordo com a inclusão do extrato seco da casca de pacarí a Tabela 1 apresenta a cinética de degradação ruminal da MS incubada. Pode-se observar que o tratamento controle e as doses 30 e 300 ppm não apresentaram diferença para as variáveis apresentadas, enquanto a fração *a* não obteve influência com a inclusão do bioproduto.

Já a dose 3.000 ppm reduziu ($p < 0,05$) muito a fração potencialmente degradável, a taxa de desaparecimento da fração *b*, e a degradabilidade ruminal efetiva a 2, 5 e 8 %/hora, resultou no aumento da parte indegradável.

TABELA 1 – Efeito do extrato seco da casca de Pacarí sobre a cinética de desaparecimento ruminal da MS[1]

Variáveis	Doses (ppm)				EPM*	*p valor*
	0	30	300	3.000		
a, %	26,04	27,13	28,29	26,95	0,83	0,337
b, %	54,84 [a]	54,90 [a]	53,68 [a]	37,55 [b]	1,89	<0,001
c, %/h	0,07 [a]	0,07 [a]	0,06 [ab]	0,05 [b]	0,03	<0,004
DRE, 2%	68,30 [a]	69,48 [a]	68,90 [a]	52,75 [b]	0,61	<0,001
DRE, 5%	57,52 [a]	58,78 [a]	58,12 [a]	44,70 [b]	0,59	<0,001
DRE, 8%	51,13 [a]	52,45 [a]	51,88 [a]	40,53 [b]	0,65	<0,001
Degradabilidade potencial (%)	80,89 [a]	82,02 [a]	81,97 [a]	64,50 [b]	1,44	<0,001

Médias na linha seguidas de letras diferentes são diferentes (p<0,05) pelo teste Tukey. [1]a= fração solúvel; b= fração potencialmente degradável; c= taxa de desaparecimento da fração b; DRE=degradabilidade ruminal efetiva a uma taxa estimada de passagem das partículas no rúmen de 2%, 5% e 8% por hora. *Erro padrão da média.

A cinética de desaparecimento ruminal da MS não foi afetada com a dose baixa e intermediária (30 e 300 ppm). Já a dose 3.000 ppm, teve a degradabilidade potencial comprometida ao ser comparada com os demais tratamentos como demonstra a porcentagem da degradação ruminal *in vitro* da MS com inclusão de extrato seco da casca de Pacarí na Tabela 1.

O efeito do extrato seco da casca de pacarí observado na Tabela 2 especifica a interferência das doses 0, 30, 300 e 3.000 ppm na fermentação ruminal determinando as variáveis $N\text{-}NH_3$, AGCC Totais, Acetato, Propionato, Butirato, Isovalerato, Valerato, pH final e relação acetato:propionato.

É evidenciado na Tabela 2, que o tratamento controle e as doses 300 e 3.000 ppm não apresentaram diferenças consideráveis para as concentrações molares de acetato, propionato e AGCC totais. Enquanto que, a dose 30 ppm aumentou ($p < 0,05$) de forma significativa a concentração total de AGCC, além de ainda reduzir a concentração de

isovalerato ($p < 0,05$) e a proporção molar entre acetato e propionato ($p < 0,05$) ao ser comparada com o tratamento controle.

TABELA 2 – Valores de digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS), concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH_3), ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e pH do inóculo ruminal contendo 0, 30, 300 e 3.000 ppm de extrato seco de Pacari (*Lafoensia pacari*)

Variáveis	Doses (ppm)				EPM*	*p valor*
	0	30	300	3.000		
DIVMS (%)	82,9[a]	83,4[a]	81,9[a]	53,2[b]	0,89	
N-NH_3 (mg/dL)	113,6[a]	104,5 [a]	96,3 [a]	64,7[b]	4,91	<0,001
AGCC Totais (mM)	63,38[b]	85,21 [a]	69,52 [ab]	66,09 [ab]	4,58	0,034
Acetato (C_2)	42,43[b]	58,74[a]	45,93[ab]	44,36[b]	3,10	0,018
Propionato (C_3)	9,92[b]	16,13[a]	12,87[ab]	11,07[b]	0,88	0,004
C_2:C_3	4,32[a]	3,64[b]	3,53[b]	4,02[ab]	0,12	0,005
Isobutirato	0,87	0,83	0,91	0,77	0,05	0,339
Butirato	7,22	6,98	6,87	7,48	0,46	0,784
Isovalerato	1,93[a]	1,53[b]	1,91[a]	1,51[b]	0,11	0,032
Valerato	1,01	1,15	1,03	0,89	0,10	0,393
pH final	6,10	6,23	6,13	6,25	0,08	0,468

Médias, na linha, seguidas de letras diferentes representam suas variações estatísticas (p<0,05) de acordo com o teste Tukey. *Erro padrão da média.

DISCUSSÃO

O ensaio realizado demonstra que ao ser comparado com o tratamento controle a inclusão de 3.000 ppm reduziu ($p < 0,05$) em 20,26% a fração potencialmente degradável da MS incubada. Contudo, os parâmetros fermentativos não tiveram comportamento semelhante à cinética de desaparecimento ruminal da MS.

Estudos relatam que taninos hidrolisáveis (TH) são capazes de reduzir a digestibilidade da parede celular dos alimentos por inibição direta de microrganismos e

enzimas microbianas e/ou a formação de complexos com as proteínas e carboidratos não digestíveis da parede celular dos alimentos (SILANIKOVE et al., 1996). Mas os TH podem ser rapidamente degradados em grupos fenólicos menores, se tornando incapazes de reagir com outras macromoléculas (HAGERMAN et al., 1992), pois algumas enzimas de microrganismos foram identificadas por serem capazes de metabolizar TH (O'DONOVAN & BROOKER, 2001).

Mesmo se houvesse a formação de complexos, McSWEENY et al. (2001) relataram que algumas bactérias ruminais podem dissociar os complexos proteína-TH, o que indica que a formação destes complexos é em parte reversível.

Assim, a atividade dos taninos de *Lafoensia pacari* tem a probabilidade de estar mais relacionada à ação sobre as membranas celulares dos microrganismos, se mostrando, um dos principais motivos pelo qual a degradabilidade da MS ter sido diminuída.

Como houve redução na fração potencialmente degradável com a dose 3.000 ppm, seria esperado observar queda na concentração de AGCC. Todavia, a concentração de AGCC não foi influenciada com a alta dose do bioproduto (Tabela 2).

A alteração na proporção molar de acetato e propionato com a inclusão de 30 e 300 ppm do extrato, é resultante principalmente da diminuição da atividade de bactérias celulolíticas e de protozoários, pois são estes os principais produtores de acetato. Bactérias celulolíticas são em sua maioria gram positivas e, assim, mais sensíveis ao bioproduto.

Portanto, é possível notar que a fermentação ruminal é capaz de ser alterada com a utilização de metabólitos secundários de *Lafoensia Pacarí*, promovendo, consequentemente, diminuição nas proporções molares de acetato e propionato como observado no presente estudo com a inclusão de 30 e 300 ppm.

Neste experimento, a elevação da concentração de AGCC em 34% e redução da relação acetato:propionato (4,32 VS 3,64) ao comparar com o tratamento controle demonstrou que a dose 30 ppm (0,54% extrato na MS da dieta) é superior aos outros tratamentos avaliados.

A elevação na concentração de AGCC com a inclusão de 30 ppm é questionável, já que o extrato da casca de pacari tem ação antimicrobiana. No estudo de GETACHEW et al. (2008) foi encontrada a mesma situação, ao avaliar a inclusão de 5 e 10% de ácido gálico (precursor de galotaninos) na MS da dieta. Eles encontraram um aumento de 25,4% e 39,6% da concentração total de AGCC, respectivamente. Mas com a inclusão de ácido tânico não houve alteração na concentração total de AGCC. Podendo-se concluir que o efeito dos taninos

na fermentação ruminal varia de acordo com o tipo e dose de taninos como comprovam ambos os resultados.

Já que a concentração de AGCC total não diminuiu ao ser comparada com o tratamento controle, pode-se afirmar que a inclusão do bioproduto não trouxe impacto pejorativo na produção de AGCC. Mas foi observado queda da concentração de isovalerato com as doses 30 e 3.000 ppm, apenas a maior dose influenciou a concentração de N-NH_3 do inóculo ruminal como mostra os dados da Tabela 2.

O isovalerato é obtido na degradação da proteína dietética, realizado por bactérias com alta capacidade desaminativa (KOZLOSKI, 2011). Estas, são a maioria gram positivas e a redução destas pela ação do extrato de pacari, implicaria na diminuição da concentração de isovaletaro e N-NH_3, o que ocorreu com a dose 3.000 ppm.

A dose 3.000 ppm causou redução ($p < 0,05$) de 43,04% da concentração de N-NH_3 se comparada com o tratamento controle. Como as bactérias celulolíticas e proteolíticas e protozoários foram sensíveis a taninos hidrolisáveis de folhas de carvalho no estudo de ABARGHUEI et al. (2011) devido à atividade de desaminase, pode-se extrapolar que o mesmo tenho ocorrido na dose de 3.000 ppm.

Principalmente, por que a ação negativa sobre os protozoários pode estar relacionada também a presença de saponinas existente no extrato seco da casca de Pacarí. Como estes compostos formam complexos irreversíveis com o colesterol presente na membrana celular dos microrganismos (WILLIAMS & COLEMAN, 1992), a queda da concentração de N-NH_3 neste estudo, pode estar relacionada também à presença de saponinas no bioproduto.

Neste estudo não houve alterações relevantes dos valores de pH final do inóculo ruminal nas diferentes doses do extrato seco da casca de Pacari, muito provavelmente devido à ação tamponante usada neste (Tabela 2). Por mais que se esperasse esta possível alteração, devido à fermentação ruminal ser capaz de causar mudanças nas proporções dos produtos obtidos neste processo (AGCC, ácido lático, N-NH_3), e consequentemente, alterar o pH do meio, isso não ocorreu.

CONCLUSÃO

Ao avaliar a digestibilidade *in vitro* de dietas 10:90 e 50:50 (volumoso:concentrado) em inóculo ruminal contendo extrato seco padronizado de *Lafoensia pacari* determinou-se a dose

30 ppm como a melhor dose de utilização desse extrato, haja visto a elevação da concentração de AGCC e redução da relação acetato:propionato quando comparado ao tratamento controle.

Mas tanto a adição das doses 30 e 300 ppm do extrato seco das casca de Pacarí indicaram uma fermentação ruminal energeticamente mais eficiente, diminuindo a relação acetato:propionato devido à diminuição da atividade de bactérias celulolíticas e de protozoários, pois são estes os principais produtores de acetato. A cinética de desaparecimento ruminal da MS não foi afetada com a dose baixa e intermediária (30 e 300 ppm), podendo-se afirmar que o efeito dos taninos é dose dependente.

Enquanto a adição da dose 3.000 ppm reduziu ($p < 0,05$) a degradabilidade potencial da MS da dieta incubada e a concentração de N-NH_3 e isovaletaro, por mais que a inclusão do extrato seco de Pacarí não tenha deprimido a concentração de AGCC de forma geral. Não apresentando em nenhuma das situações alterações significativas de pH.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em geral, o extrato seco da casca de pacarí avaliado neste estudo mostrou ser um potencial modificador da fermentação ruminal. Isso, se usado de forma controlada e assistida. Investigações futuras podem ser realizadas em avaliações *in vivo*, de modo a demonstrar a eficácia deste bioproduto como aditivo na alimentação de ruminantes confinados e até mesmo pequenos ruminantes.

Na própria literatura científica nacional disponível para consulta não foi encontrado referência sobre o emprego do *Lafoensia pacari* como substituto à aditivos ruminais, como a monenzina, constituindo-se uma possibilidade de pesquisa. Principalmente devido aos interesses econômicos, voltados a priori para a exportação de carne bovina que não contenha resíduos de aditivos ionóforos.

REFERÊNCIAS

1. ABARGHUEI, M. J.; ROUZBEHAN, Y.; ALIPOUR, D. Effect of Oak (Quercus libani Oliv.) Leave Tannin on Ruminal Fermentation of Sheep. **Journal Agriculture Science Technology**, Amsterdam, v. 13, p.1021-1032, 2011.

2. ACAMOVIC, T.; BROOKER, J.D. Biochimistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. **The Proceedings of the Nrutrition Society**, London, v.64, n.3, p.403-412, 2005.

3. ANKOM, **Technology. Method 3: In vitro true digestibility using the DAISYII Incubator**. Disponível em: http://www.ankom.com/media/documents/IVDMD_0805_D200.pdf. Acesso em 28 de março de 2013.

4. ARAUJO, R.C. **Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal *in vitro***. 178 f. Tese (Doutorado em Ciências). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2010.

5. BENCHAAR, C.; MCALLISTER, T. A.; CHOUINARD, P. Y. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or yucca schidigera saponin extracts. **Journal Dairy Science**, Champaign, v.91, n.12, p.4765–4777, 2008.

6. BUSQUET, M.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; KAMEL, C. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89 n. 2, p.761–771, 2006.

7. CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P. W.; CASTILLEJOS, L.; FERRET, A. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 6, p. 2580–2595, 2007.

8. CASTILLEJOS, L.;. CALSAMIGLIA, S, FERRET, A. Effect of Essential Oil Active Compounds on Rumen Microbial Fermentation and Nutrient Flow in In Vitro Systems. **Journal Dairy Science**, Champaign, v.89, n. 7, p.2649–2658, 2006.

9. CHANEY, A. L.; MARBACH, E. P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. Resultados da pesquisa. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v.8, n.2, p.130-132, 1962.

10. COELHO DE SOUZA, G.; HAAS, A.P.S.; VON POSER, G.L.; SCHAPOVAL, E.E.S.; ELISABETSKY, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. Journal of Ethnopharmacology, v.90, p.135-143, 2004.

11. DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M; AZEVEDO, J.A. **Métodos para análise de alimentos –Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal**. 1 ed., Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2012. 214p.

12. GETACHEW, G.; PITTROFF, W.; PUTNAM, D.H.; DANDEKAR, A.; GOYAL, S.; PETERS, E.J. The influence of addition of gallic acid, tannic acid, or quebracho tannins to alfalfa hay on in vitro rumen fermentation and microbial protein synthesis. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdan v.140, p. 444–461, 2008.

13. HAGERMAN A.; ROBBINS, C. H. T.; WEERASURIYA, Y.; WILSON, T. C.; MCARTHUR, C. Tannin chemis try in to digestion. **Journal of Range Management**, v.45, n.1, p. 57-62, 1992.

14. HOLDEN, L.A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.8, p.1791-1794, 1999.

15. KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica de ruminantes**. 3 ed. Santa Maria: UFSM, 2011. 216p.

16. LASURE, A; VAN POEL, B.; PIETERS, L.; CLAEYS, M.; GRUPTA, M.; VANDEN BERGHE, D.; VLIETINCK, A.J. Complement-inhibiting properties of Apeiba tibourbou. **Planta Medica**, v. 60, n. 3, p. 276-277, 1994.

17. LORENZI, H., MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 1ª. Ed. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, Nova Odessa, S. Paulo, p.220-221. 2001.

18. McSWEENEY, C.A.; PALMER, B.; MCNEILL, D.M.; KRAUSE, D.O. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Animal feed Science and Technology**, Amsterdam, v.91, p. 83-93, 2001.

19. NRC. 1996. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**, 7th ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

20. O'DONOVAN L., BROOKER J.D. Effect of hydrolysable and condensed tannins on growth, morphology and metabolism of Streptococcus gallolyticus (S. caprinus) and Streptococcus bovis. **Microbiology**, Washington, v.147, p.1025-1033, 2001.

21. ØRSKOV, E.R.; HOVELL, F.D.; MOULD, F. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. **Tropical Animal Production**, Santo Domingo, v. 5, n. 3, p.195-213, 1980.

22. ØRSKOV, E.R.; MCDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agriculture Science**, Cambridge, v. 92, p. 499-453, 1979.

23. SILANIKOVE, N., GILBOA, N., NIR, I., PEREVOLOTSKY, A., NITSAN, Z. Effect of a Daily Supplementation of Polyethylene Glycol on Intake and Digestion of Tannin Containing Leaves (Quercus calliprinos, Pistacia lentiscus, and Ceratonia siliqua) by goats. **Journal of Agriculture and Food Chemical**, Daves, v.44, p.199–205, 1996.

24. SILVA, I. D.; TAKATSUKA, F. S.; ROCHA, M. R.; CUNHA, M. G. Efeito do extrato de sucupira (pterodon emarginatus vog.) sobre o desenvolvimento de fungos e bactérias fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.35, n.2, p.109-115, 2005.

25. TAMASHIRO FILHO, P.; BALOGUN, S.O.; ALMEIDA, D.A.T.; LIMA, J.C.S.; MARSON-ASCÊNCIO, P.G.; ASCÊNCIO, S.D.; SANTOS, F.R.; MARTINS, D.T.O. Evaluation of antiulcer activity and mechanism of action of methanol stem bark extract of Lafoensia pacari A. St.-Hil. (Lytraceae) in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanner, v.144, n.3, p.497-505 2012.

26. The R Development Core Team. **R: A Language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 1706p, 2011.

27. WILLIAMS, A.G., COLEMAN, G.S. **The Rumen Protozoa**. Springer-Verlag, London. 1992.

28. YANG, W. Z.; BENCHAAR, C.; AMETAJ, B. N.; CHAVES, A. V.; HE, M. L.; MCALLISTER, T. A. Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 12, p. 5671–568, 2007.

LEVANTAMENTO DE INFORMAÇÕES SOBRE A COMERCIALIZAÇÃO DE MADEIRA EM GOIÂNIA/GO[1]

Aline Faleiro Dionizio[2]; Carlos R. Sette Jr[3]; Tatiane Santiago; Rafael A. Rodrigues

[2]Orientada; [3]Orientador

Universidade Federal de Goiás; Laboratório de Qualidade da Madeira; EA/UFG; Goiânia/GO.
srt.dionizio@hotmail.com

RESUMO: Em função do desconhecimento sobre as espécies de madeira comercializadas no estado de Goiás e da carência de informações a serem repassadas pelo comércio de produtos florestais do Estado, o presente projeto de pesquisa visa caracterizar o consumo de madeira em Goiânia/GO. Foram visitadas empresas distribuidoras de madeiras serradas da região e aplicado questionários para o levantamento de dados (i) gerais sobre a empresa e sua atividade na área madeireira e (ii) específicos para cada madeira que estava sendo comercializada. Em seguida foram selecionadas e coletadas amostras de madeira das espécies comercializadas para a correta identificação botânica pelo exame da anatomia do lenho através dos processos macroscópico e microscópico. Com base na correta identificação das espécies florestais madeireiras comercializadas em Goiânia/GO foi elaborado um atlas contendo a descrição anatômica da madeira, bem como informações sobre as suas características gerais, principais usos, sinônimos de nome popular, etc. Como principais resultados obtidos, mencionam-se: a madeira utilizada é, na sua maioria, proveniente de florestas nativas da região Amazônica, 88% das espécies, principalmente do estado do Pará, 40% das espécies; as principais espécies madeireiras comercializadas são o Angelim-vermelho e o Cumaru; as empresas possuem uma rotação média de 105 m³ de madeira por mês com um valor médio de R$ 615,00 por m³; existe uma divergência significativa na denominação das madeiras pelas empresas com o nome real das espécies; a identificação macroscópica se mostrou um método eficiente na identificação das espécies madeireiras.

Palavras-chave: madeira; comércio; identificação anatômica, atlas.

[1] Revisado pelo orientador

1 Introdução

As florestas naturais no mundo somam cerca de 4 bilhões de hectares, cobrindo aproximadamente 30% da superfície terrestre do globo (FAO, 2007). Cinco países concentram mais da metade da área florestal total: Rússia, Canadá, Estados Unidos, China e o Brasil que, de acordo com dados do IBGE, possui aproximadamente 851 milhões de hectares de áreas florestais (60% do seu território), em sua maioria, tropicais. As florestas tropicais desempenham múltiplas funções como serviços ambientais (regulação do clima, proteção das bacias hidrográficas etc.), recreação e conservação da biodiversidade e gera produtos de grande importância econômica como a madeira (LELE et al. 2000).

Segundo Hummel e Minette (1990), quase 50% das florestas tropicais úmidas naturais existentes estão na América tropical e, deste total, mais de 80% (50% no Brasil + 30% em outros países da América do Sul) se encontram na região amazônica. Da área pertencente ao território brasileiro, o estado do Amazonas é o que detém o maior percentual. Sobral, L. *et al*., (2002) destacam que nas últimas três décadas, a Amazônia, a maior de todas as florestas tropicais, perdeu quase 600 mil km², equivalente ao território da região Sul do Brasil. Dados do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE, 2012) mostram a evolução do desflorestamento na Amazônia, que, apesar de se encontrar em queda, ainda apresenta uma conversão anual de aproximadamente 4656 km². Ainda assim, a Amazônia brasileira é uma das principais regiões produtoras de madeira tropical no mundo, atrás apenas da Malásia e Indonésia (OIMT, 2006).

A grande maioria da madeira produzida na região amazônica é consumida no Brasil, destacando-se o Estado de São Paulo, com cerca de 20% de todo o consumo nacional (SMERALDI; VERÍSSIMO, 1999). Apesar da grande importância da madeira no mercado nacional, as informações sobre esse mercado são extremamente escassas, não havendo informações quantitativas sobre consumo de madeira amazônica.

Desde o princípio de sua história, o homem busca ordenar os diversos organismos vivos no sentido de formar grupos com finalidade prática e econômica, estabelecendo-se conhecimento sobre grupos de vegetais que poderiam servir como alimento, medicamentos, material para construção de habitações, obtenção de energia etc. (HEYWOOD, 1970). Neste sentido, o estudo da anatomia da madeira tem como uma das principais finalidades a sua identificação, resultando em vantagens de real alcance para o comércio e a indústria madeireira. O conhecimento da estrutura anatômica é, sem dúvida, o melhor método para a identificação da madeira, sendo também de fácil aplicação para a correta nomenclatura das

madeiras (ALVES, 2010). Vale destacar também que, em uma prática de identificação de madeira, deve-se buscar colocar o nome científico correspondente a um determinado nome popular, uma vez que comercialmente, uma madeira possui vários nomes populares (ZENID, 2007).

No Brasil, os primeiros estudos de anatomia de madeiras remontam a década de 20, no Jardim Botânico do Rio de Janeiro e no Laboratório de Ensaios de Materiais da Escola Politécnica de São Paulo, hoje Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo - IPT (CHIMELO, 1992). Atualmente o País dispõe de vários laboratórios de anatomia de madeiras, espalhados por diversos estados, que realizam diversos estudos relacionados ao assunto, inclusive com serviço de identificação de madeiras.

Nos estudos anatômicos de identificação de madeiras são utilizadas duas abordagens distintas, a macroscópica e a microscópica. Na identificação macroscópica são observadas características que requerem pouco ou nenhum aumento. Tais características são reunidas em dois grupos: as organolépticas e as anatômicas (ZENID, 2007). A descrição macroscópica do lenho é feita por meio de lupa entomológica ou do tipo conta-fios, de 10 vezes de aumento, para que os resultados obtidos sejam comparados às amostras-padrão, existentes nas xilotecas (SILVA, 2005). As superfícies das amostras de madeira são polidas para que possam ser visualizadas as características anatômicas, tais como: anéis de crescimento, raios, vasos e parênquima. Muitas madeiras são identificadas macroscopicamente, mas outras precisam de análise microscópica para complementar as informações (composição dos raios, tipo e disposição das pontoações, presença de células oleíferas; placas de perfuração; espessamentos; tilos; gomas; cristais; silica; fibras septadas, etc.) (CORE *et al.*, 1979).

A multiplicidade de espécies existentes faz da identificação anatômica de madeiras uma tarefa relativamente complicada. Na tentativa de diminuir as dificuldades, os anatomistas de madeira procuraram desenvolver métodos auxiliares como: a publicação de atlas ilustrados, as chaves dicotômicas, os cartões perfurados e os bancos de dados eletrônicos.

O problema central no processo de identificação é o uso inconsciente de nomes vulgares em que os mesmos não correspondem a uma única espécie. Há variedade de nomes populares entre áreas diferentes e entre pessoas, ou seja, a falta de padronização atrapalha a busca de identificações corretas. A identificação anatômica da madeira permite o acesso às propriedades, geralmente disponíveis em bancos de dados, como atlas de identificação, visto que estes servem de base para identificações e uso correto da madeira a ser utilizada (ALFONSO, 1987; ZENID; CECCANTINI, 2007). A utilização de um atlas de identificação de madeira é necessária pela carência de informações das madeiras comercializadas e, de

forma condensada, facilita o processo de identificação, sendo base fundamental para a identificação da madeira, ajudando no seu uso adequado, e principalmente, na fiscalização mais rápida e eficiente (ALVES, 2010). Em função do desconhecimento sobre as espécies de madeira comercializadas na cidade de Goiânia/GO, além da carência de informações a serem repassadas pelo comércio de produtos florestais do Estado, faz-se necessária a realização deste trabalho.

Diante do exposto, o presente projeto de pesquisa tem como objetivo principal o levantamento de informações sobre a comercialização de madeira em Goiânia/GO e a elaboração de um atlas de identificação.

2 Metodologia

2.1 Área de estudo

O estudo foi realizado na cidade de Goiânia/GO (Figura 1). É a maior cidade do Estado de Goiás e a segunda maior do Centro-Oeste. Situa-se no planalto central do Brasil, nas coordenadas geográficas 16°40' S, 49°15' O, está a 209 km da Rodoviária do Plano Piloto, zona mais centralizada da capital federal, Brasília. É uma região de topografia quase plana e praticamente equidistante de todos os outros estados tornando bem fácil chegar até a cidade.



Figura 1 - Localização da área de estudo

2.2 Levantamento de informações nas empresas de distribuição de madeiras

Foram identificadas, com base em informações obtidas dos órgãos ambientais como o IBAMA e a SEMARH mais de 300 empresas distribuidoras de madeiras serradas (lojas especializadas ou de materiais de construção) na cidade de Goiânia/GO. Do total, foram selecionadas, de forma aleatória, 30 empresas. Foi adotado como critério de suficiência amostral, a curva resultante da sequência de visitas realizadas (de acordo com a data de visita) em relação ao número acumulado de espécies identificadas. Assim, a amostragem foi interrompida quando houve sensível diminuição da inclinação da curva, pois o esforço de se realizar novas amostragens não refletiria em um acréscimo importante no número de novas espécies.

As empresas selecionadas foram visitadas e realizada entrevista e aplicado um questionário para a coleta de informações, estruturado em duas partes: (i) a primeira é destinada à obtenção de dados gerais sobre a empresa (razão social, relação de espécies comercializadas, forma de aquisição da madeira etc.) e sua atividade na área madeireira e (ii) a segunda é voltada para as informações específicas para cada madeira que estiver sendo comercializada (nome popular, fontes de suprimentos,volume de madeira recebido por mês, valor médio pago por metro cúbico de madeira, etc.).

Os questionários foram aplicados e as informações compiladas na forma de tabelas e gráficos.

2.3 Identificação anatômica

Para a correta identificação anatômica macroscópica foram coletadas amostras de todas as espécies comercializadas em cada madeireira, tomando-se o cuidado de selecionar mais de uma amostra por espécie, caso houvesse suspeita de alguma variabilidade no lote. A identificação foi realizada pelo exame da anatomia da madeira, após o polimento, através do processo macroscópico com o auxílio de um estereomicroscópio acoplado a um sistema de captura de imagens (Figura 2) e utilizadas como base às normas de procedimentos em estudos de anatomia da madeira (CORADIN et al., 1992). Como padrões para a identificação, foram utilizadas as amostras de madeiras pertencentes na Xiloteca “Vera Teresinha Rouber Coradin” do curso de Engenharia Florestal da UFG. No processo de identificação, buscou-se atingir a espécie; no entanto, pela similaridade das características anatômicas entre espécies de um mesmo gênero (ex: *Tabebuia* spp), isso nem sempre foi possível. As imagens macroscópicas da madeira foram, também, utilizadas para a composição do atlas de identificação de madeira.



Figura 2 - Estereomicroscópio acoplado a um sistema de captura de imagens.

2.3 Elaboração do atlas

Para a elaboração do atlas foram utilizados os procedimentos para a descrição anatômica das madeiras, descritos por Coradin e Muñiz (2000). As principais informações foram: (i) nome popular, (ii) nome científico, (iii) sinônimos de nome popular, (iv) características gerais, (v) descrição macroscópica tais como parênquima axial, raios, vasos, camadas de crescimento, juntamente com as propriedades organolépticas como cor, cheiro, textura, densidade, distinção entre cerne e alburno etc. (vi) indicações de usos.

3 Resultados e Discussões

3.1 Informações sobre empresas de distribuição de madeiras

Observou-se grande resistência das empresas em fornecer os dados solicitados, principalmente os dados referentes à forma de aquisição e exploração da madeira, origem, etc. Esta resistência se deve a exploração ilegal de madeira continua presente no mercado madeireiro, principalmente na região da Amazônia Legal. Diante dessa realidade, a pressão sobre a exploração madeireira culminou na intensificação das ações de controle e de fiscalização, sobretudo por intermédio do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), pois a madeira constitui-se como matéria prima essencial para diversas atividades.

Por outro lado, muitas empresas mostraram-se conscientes quanto a questão de exploração ilegal. Estas utilizam de alternativas viáveis para explorar o recurso com menos impacto ambiental, como é o caso das áreas de manejo sustentável. Outras vão além e, além

de obterem produtos madeireiros de áreas de manejo sustentável, possuem algum tipo de certificação.

Foram visitadas 30 empresas que realizam o comércio de madeira em Goiânia/GO e encontrado no total 71 espécies florestais madeireiras comercializadas, sendo a região amazônica a principal fornecedora, totalizando mais de 88% das espécies (Tabela 1). Este resultado confirma o papel daquela região na geração de produtos florestais de grande importância econômica, como a madeira. O Estado do Pará é o principal fornecedor de madeira com mais de 40% do total comercializado. Por outro lado, o Estado do Paraná contribui apenas com uma espécie madeireira ou 1,4% do total (Tabela 1).

Tabela 1 - Origem da madeira serrada e comercializada no município de Goiânia/GO

Unidades da Federação	**Quantidade de espécies**	**%**
Pará	30	42,2
Mato Grosso	4	5,6
Amazonas	2	2,8
Acre	11	15,5
Rondônia	16	22,5
Paraná	1	1,4
Santa Catarina	5	7,0
Minas Gerais	2	2,6
Total	**71**	**100,0**

O levantamento realizado demonstrou que as espécies mais comercializadas foram as provenientes de floresta nativa, sendo o Angelim Vermelho (*Dinizia Excelsa*) e o Cumaru (*Dipteryx odorata*) encontrados em 100% das empresas. Em contra partida, o Eucalipto e o Pinus, provenientes de floresta plantada, foram encontrados em 80% e o Angelim Pedra (*Hymenolobuim* spp.), proveniente da floresta Amazônica também é comercializado em 80% das empresas, seguidos pelo Ipê (*Tabebuia* spp.), Rouxinho (*Peltogyne* spp.), Sucupira (*Bowdichia nítida*) e Tauari (*Couratari guianensis*) presentes em 60% das madeireiras. (Figura 3).

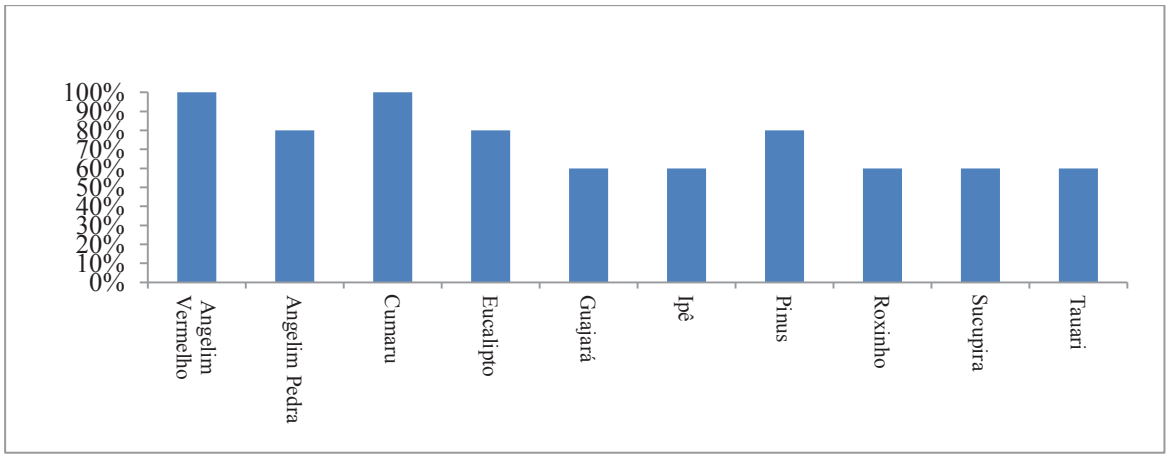


Figura 3 - Frequência da ocorrência das espécies nas madeireiras visitadas.

O volume médio de madeira que chega à cidade de Goiânia/GO por mês é de 120m³, considerando as empresas visitadas. Do total recebido, cerca de 105m³ (88% do total) são desdobrados e comercializados dentro do mesmo mês (Figura 4). O restante, cerca de 15m³, em média, fica no pátio da empresa e são comercializados no mês seguinte.

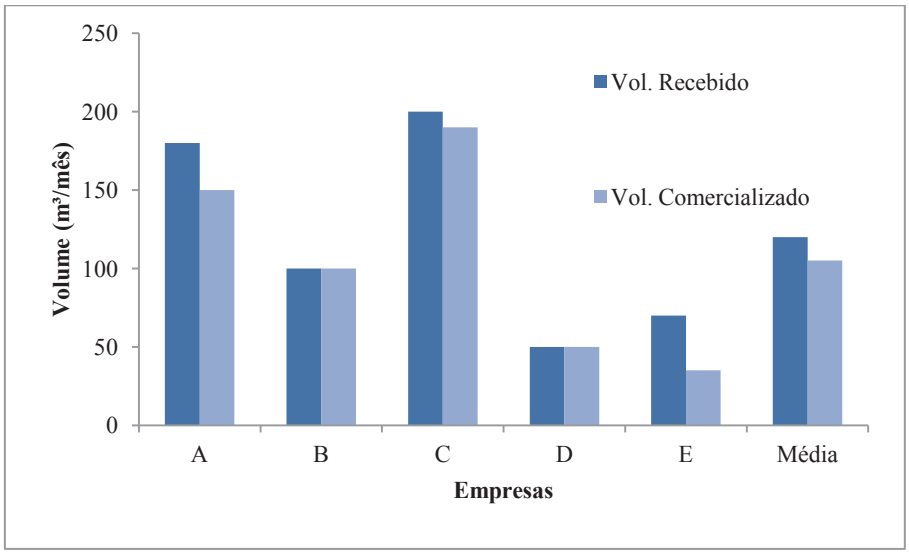


Figura 4 - Volume de madeira recebido e comercializado mensalmente no munícipio de Goiânia/GO.

O valor médio do m³ da madeira comercializada na cidade de Goiânia (Tabela 2) é de R$ 615,00. A espécie que apresentou os maiores valores médios de compra e venda foi o Ipê, com R$ 1.725,00 e R$ 3.675,00, respectivamente, apresentando um incremento de 113% no valor da venda relacionado ao da compra. De maneira geral, a variação de acréscimo no valor médio pago das espécies varia entre 18 e 88%. A definição dos valores de venda e consecutivamente da % de incremento dos valores em relação ao pago na compra está em

função, principalmente, da oferta da madeira no mercado, ou seja, quanto menor a oferta maior é a porcentagem inserida no valor de venda. As espécies com os menores valores de comercialização foram as provenientes de florestas plantadas, como o Pinus e Eucalipto, com valores médios de R$ 787,00 e 695,00, respectivamente.

Tabela 2 - Valores médios pago no recebimento e na venda, por m³, de madeira das espécies com maior frequência de comercialização.

Espécies	Valor médio pago no recebimento (R$)	Valor médio pago na venda (R$)	Variação (R$)
Ang.Vermelho	1186,00	1636,00	450,00
Ang. Pedra	1050,00	1975,00	925,00
Cumaru	1160,00	1810,00	650,00
Eucalipto	587,00	695,00	108,00
Ipê	1725,00	3675,00	1950,00
Guajará	975,00	1325,00	350,00
Pinus	542,00	787,00	245,00
Tauari	767,00	1300,00	533,00
Sucupira	1017,00	1267,00	250,00
Roxinho	1200,00	1900,00	700,00

3.2 Atlas das principais madeiras comercializadas em Goiânia/GO.

Para a elaboração do atlas foram utilizados os procedimentos para a descrição anatômica das madeiras, descritos por Coradin e Muñiz (2000). Foram selecionadas as 40 principais espécies comercializadas na cidade de Goiânia (do total de 71 identificadas) para a elaboração do atlas (Tabela 3; exemplo Figura 5). Destas espécies foram descritas informações fundamentais para sua identificação e uso correto como: (i) nome popular, (ii) nome científico, (iii) sinônimos de nome popular, (iv) características gerais, (v) descrição macroscópica tais como parênquima axial, raios, vasos, camadas de crescimento, juntamente com as propriedades organolépticas como cor, cheiro, textura, densidade, distinção entre cerne e alburno etc. (vi) indicações de usos.

A identificação é o primeiro passo para se trabalhar com uma espécie especifica, pois os dados produzidos terão que fazer referência ao nome da espécie. Através do nome científico pode se obter muitas informações sobre determinada espécie, sendo muito importante para a tomada de decisões no uso correto da madeira.

Tabela 3 – Nomes populares e científicos identificados e fornecidos pelas empresas das principais madeiras comercializadas em Goiânia.

Nome científico identificado no laboratório	**Nome comum identificado no laboratório**	**Nome comum fornecido pelas empresas**
Carapa guianensis Aubl.	Andiroba	Assacu
Hymenolobium spp.	Angelim pedra	Angelim pedra
Dinizia excelsa Ducke.	Angelim vermelho	Angelim vermelho
Myracrodruon urundeuva	Aroeira	Aroeira
Myroxylon peruiferum L.f.	Bálsamo	Bálsamo
Dipteryx alata Vogel.	Baru	Baru
Simarouba Versicolor Aubl.	Caixeta	Caixeta
Bertholletia excelsa Bonpl.	Castanheira	Castanheira
Erisma uncinatum Warm.	Cedrinho	Piquiarana
Cedrela odorata L.	Cedro	Cedro
Cedrelinga catenaeformis	Cedroarana	Maçaranduba
Amburana cearensis	Cerejeira	Cerejeira
Copaifera langsdorffii	Copaíba	Faveira
Dipteryx odorata.	Cumaru	Cumaru
Eucalyptus spp.	Eucalipto	Eucalipto
Apuleia leiocarpa	Garapa	Não identificada
Chrysophyllum spp.	Guajará	Guajará
Ocotea porosa	Imbuia	Imbuia
Tabebuia spp.	Ipê	Ipê
Hymenaea spp.	Jatobá	Jatobá
Cariniana legalis	Jequitibá rosa	Jequitibá rosa
Manilkara spp.	Maçaranduba	Cupiúba
Astronium Lecointei	Muiracatiara	Não identificada
Alexa grandiflora	Melancia	Piquiá
Swietenia macrophylla	Mogno	Mogno
Enterolobium schomburgkii	Orelha-de-macaco	Tauari
Caryocar villosum	Pequiá	Melancia

Pinus spp.	Pinus	Pinus
Vochysia maxima	Quaruba	Quaruba
Peltogyne spp.	Rouxinho	Itaúba
Lecythis pisonis	Sapucaia	Sapucaia
Bowdichia nítida	Sucupira- preta	Sucupira-preta
Pterodon emarginatus	sucupira branca	Sucupira branca
Bagassa guianensis	Tatajuba	Não identificada
Couratari guianensis	Tauari	Tauari
Tachigali spp.	Taxi	Madeira mista
Tectona grandis	Teca	Teca
Endopleura uchi	Uxi	Não identificada
Aspidosperma polyneuran	Peroba-rosa	Peroba rosa
Caesalpinia echinata Lam.	Pau-Brasil	Pau-Brasil

Comparando o nome comum dado à amostra de madeira pela madeireira e o nome comum que realmente faz referência à espécie, identificada em laboratório, constatou-se uma divergência significativa sendo que, em alguns casos, o nome fornecido pelas empresas não se encontra nem nos possíveis sinônimos de nome popular da espécie. Tal constatação ocorreu com maior freqüência dentro do total das 71 espécies identificadas, sendo observada em menor constância nas 40 espécies, principais comercializadas, selecionadas para o atlas (Tabela 3).

A denominação de madeira mista foi observada em grande parte das empresas, quase sempre, acompanhada de espécies que não foram identificadas pelo responsável. Ao serem analisadas observou-se grande semelhança entre as madeiras alocadas nestes grupos, principalmente a densidade e algumas características organolépticas como: coloração, grã e textura. Tais madeiras apresentam, geralmente, menor valor agregado e são utilizadas para finalidades similares. As madeiras comercializadas com maior freqüência possuem características já bem difundidas, tanto para os comerciantes quanto para os compradores, isso contribui para que não ocorra erro ou engano na hora da compra e venda do produto.

A elaboração de um atlas de identificação de madeira está entre as ações que podem melhorar o processo de identificação das madeiras, pois se constitui de um material didático que auxilia na identificação anatômica contendo além de texto, ilustrações em linguagem acessível. A elaboração do mesmo é necessário pela carência de informações das madeiras

comercializadas e, além de facilitar o processo de identificação, pode ajudar na utilização adequada.

JATOBÁ 18
Hymenaea spp.

SINÔNIMOS DE NOME POPULAR

Copal, courbaril, jataí, jatobá-curuba, jatobazinho, jutaí, jutaí-açu, jutaí-do-iguapó, jutaí-grande, jutaí-mirim, jutaí-vermelho, quebra machado.

OCORRÊNCIA

Ocorre desde a América Central, estendendo-se largamente pela Amazônia e chegando até S. Paulo. Também nas Guianas, Suriname, Venezuela, Colômbia, An-tilhas e Bolívia. Habita as matas de terra firme e mais raramente no campo e nas capoeiras

CARACTERÍSTICAS GERAIS

O jatobá pode atingir 40 metros de altura e 1 metro de diâmetro. O tronco é cilíndrico e liso de coloração castanha-acinzentada contendo goma. Folhas compostas de dois folíolos. Madeira muito pesada.

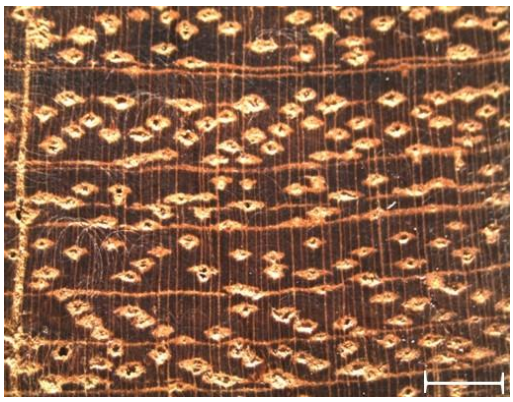




DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA

Parênquima Axial: visível a olho nu, em faixas marginais associadas ao paratraqueal vasicêntrico ou aliforme. Raios: visíveis a olho nu no topo e visíveis sob lente na face tangencial, pouco contrastados na superfície radial. Finos Pouco frequentes.
Vasos: visíveis a olho nu, médios; muito poucos; porosidade difusa; solitários e múltiplos; obstruídos por óleo-resina. Camadas de Crescimento: distintas, individualizadas por parênquima marginal.

Cerne/alburno distintos pela cor. Cerne amarronzado. Limites dos anéis de crescimento distintos. Individualizados por parênquima marginal. Madeira com brilho nas superfícies longitudinais. Com cheiro imperceptível. Dura ao corte transversal manual. Grã entrecruzada ou revessa. Textura média. Figura presente. Em faixas causadas pelas camadas de crescimento (podendo formar "V" ou "U").



USOS

Construção Civil, molduras, móveis de luxo, cabos para ferramenta, material esportivo, dormentes, arcos de instrumentos musicais, peças torneadas, carrocerias, implementos para caminhões, laminados decorativos e outros.

Figura 5- informações contidas no atlas; exemplo: Jatobá.

4 Conclusões

O levantamento das informações do comércio de madeira serrada no município de Goiânia/GO é caracterizado por:

(i) a madeira utilizada é, na sua maioria, proveniente de florestas nativas da região Amazônica, principalmente do estado do Pará.

(ii) as espécies mais utilizadas são o Angelim Vermelho e o Cumaru.

(iii) o Ipê tem o maior valor médio de compra e venda, sendo o critério de incremento no valor dado principalmente pela oferta da madeira no mercado. As espécies madeireiras provenientes de floresta plantada são as que apresentaram os menores valores de comercialização.

(iv) a identificação anatômica é absolutamente fundamental na indústria madeireira, não somente para a definição do produto que está sendo vendido, mas para garantir um produto homogêneo, para que haja comercialização usando-se o mesmo nome.

(v) a identificação anatômica macroscópica se mostrou um método simples e eficiente na identificação das espécies madeireiras.

(vi) as informações contidas no atlas elaborado ajudarão de forma rápida e eficiente a identificação da madeira, determinação do uso mais adequado, visualização de características gerais e ocorrência específica para cada madeira.

5 Referências

ALFONSO, V.A. Caracterização anatômica do lenho e da casca das principais espécies de Eucalyptus L'Hérit cultivados no Brasil, 1987. 188p. il. (Doutorado - Instituto de Biociências/USP).

ALVES, C.R. Elaboração de um atlas e de uma chave para a identificação das principais madeiras comercializadas no estado do Espírito Santo. TCC (Trabalho de Conclusão de Curso). 64p. 2010.

CORE, HA.; CÔTÉ, WA & DAY, AC Wood structure and identification. USA: Syracuse University Press, 1979. 182p.

CORADIN, V. T. R. BOLZON DE MUNIZ, G.I. Normas de procedimentos em estudos de anatomia de madeira: I.Angiospermae; II.Gimnospermae Brasilia: IBAMA. DIRPED, Laboratorio de Produtos Florestais, 1992. 19p. (IBAMA. DIRPED. LPF. Serie Tecnica, 15)

CHIMELO, J.P. Disciplina 782 - Identificação de madeiras. Curso de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Madeiras - ESLAQ/USP. 1992.

HEYWOOD, V.H. Taxonomia vegetal. Trad. K. G. Hell. São Paulo, Ed. Nacional e EDUSP, 1970. 107p.

HUMMEL, A. C.; MINETTE L. J. Aspectos do setor florestal do estado da Amazônia In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6. 1990, Campos do Jordão. Anais... São Paulo: SBS, 1990. p. 157-165.

INPE– INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. Divulgação da estimativa da Taxa de Desmatamento por Corte Raso do PRODES 2012. Disponível em: <http://www.obt.inpe.br/prodes/Prodes_Taxa2012.pdf>

LELE, U. et al. The forests and forest sector in Brazil. In Brazil. Forests in the Balance: challenges of conservation with development. Washington: the World Bank. pp.7-77. 2000.

OIMT. 2006. Reseña anual y evaluación de la situación mundial de las maderas. 2006. Organización Internacional de las Maderas Tropicales. Yokohama, Japón. OIMT. 210p.

SILVA, J. C. Anatomia da madeira e suas implicações tecnológicas. Viçosa DEF/UFV. 140 p. 2005.

SMERALDI, R. & VERÍSSIMO, A. 1999. Acertando o Alvo: consumo de madeira no mercado interno brasileiro e promoção da certificação florestal. São Paulo: Amigos da Terra, Imaflora e Imazon. 41 p.

ZENID, G. J.; CECCANTINI, G. C.T. Identificação botânica de madeiras. Apostila de curso oferecido pelo Laboratório de Anatomia e Identificação de Madeiras do Instituto de Pesquisa Tecnológica do Estado de São Paulo – IPT, 2007.

AVALIAÇÃO INICIAL DE UMA REDE DE TESTES CLONAIS DE *Eucalyptus* IMPLANTADOS EM GOIÁS

Rafael Machado Porto[a,1]; Evandro Novaes[b,1].

[a]Orientando, [b]Orientador
[1]Escola de Agronomia, UFG.
rafaelmporto87@hotmail.com

RESUMO: A expansão da eucalipto-cultura para as regiões interioranas do país apresenta uma série de dificuldades, exigindo inovações tecnológicas como o desenvolvimento de materiais genéticos adaptados a déficits hídrico e nutricional, e resistentes a doenças. Diante deste problema o presente estudo teve como objetivo avaliar a sobrevivência e o crescimento inicial de 113 clones-elite de *Eucalyptus* spp. em testes clonais instalados em três municípios de Goiás. Os experimentos foram implantados em delineamento de blocos casualizados, com 29 repetições em parcelas de árvores únicas, totalizando 2697 plantas por experimento. O preparo da área incluiu capina química, controle de formigas, aplicação de calcário, gesso, NPK e bóro. O espaçamento utilizado foi de 3x3m. Com um mês, foi realizado replantio com registro das árvores mortas. Em maio/2013, foram avaliadas sobrevivência e altura de todas as árvores. Os resultados de taxas de replantio e mortalidade, obtidos com um e cinco meses após implantação, indicam diferenças significativas entre as regiões. Em todos os experimentos a taxa de mortalidade foi inferior a 5%, evidenciando que os experimentos estão sendo bem conduzidos. A análise de variância dos dados de altura demonstram que todos os efeitos testados pelo modelo foram altamente significativos (*p-valor* < 2 x 10^{-16}), concluindo-se que a altura difere significativamente entre os locais e clones, havendo também interação entre esses fatores. No entanto, destaca-se que o efeito da interação genótipo x ambiente, nessa etapa inicial de avaliação, ainda é relativamente pequeno.

Palavras-chave: Teste Clonal, Eucalyptus, Déficit hídrico, Goiás.

1. INTRODUÇÃO

No atual cenário de grandes avanços da eucaliptocultura nacional, o estado de Goiás ainda deixa a desejar. O crescimento das áreas plantadas com eucalipto em Goiás tem ficado muito aquém dos avanços nos estados vizinhos. Enquanto nos estados de Mato Grosso do Sul e Tocantins as florestas plantadas com eucalipto mais que triplicaram de 2005 a 2011, em Goiás o crescimento foi de somente 25% (ABRAF 2013). Além da falta de políticas públicas de incentivo às atividades florestais, a falta de conhecimento técnico e de materiais genéticos adaptados e altamente produtivos nas condições edafoclimáticas da região, limitam o avanço da eucaliptocultura em Goiás. A maneira mais rápida e eficiente de identificar materiais genéticos de *Eucalyptus* com características superiores de adaptabilidade, produtividade e

Revisado e corrigido pelo orientador Evandro Novaes

qualidade para múltiplos usos, dá-se através da implantação de testes clonais em regiões representativas das condições edafoclimáticas alvo.

Como consta em relatório recente da Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas (ABRAF 2013), em 2012 as exportações de produtos de florestas plantadas adicionaram um saldo de US$ 5,5 bilhões à balança comercial do país. E isso, em grande parte, se deve às altas produtividades de nossas florestas de *Eucalyptus* spp. (eucalipto) e a crescente demanda por produtos madeireiros (Filho 2006, FAO 2009). Essa demanda crescente tem alavancado os plantios de *Eucalyptus* no Brasil que, de 2006 a 2012, cresceram 36% (ABRAF 2013). O crescimento projetado para os próximos anos é ainda maior (Folha de São Paulo 2011).

Goiás possui forte vocação florestal. Várias características determinam essa aptidão, como abundantes áreas agrícolas subutilizadas, preço de terra relativamente baixo (Silveira 2008), solos férteis e condições climáticas favoráveis. Apesar da vocação florestal, Goiás ainda é completamente carente de estudos na área de genético e melhoramento florestal. Estudos para desenvolvimento de materiais tolerantes ao severo estresse hídrico observado em Goiás são importantes para a adaptação da eucaliptocultura nacional frente às tendências de mudanças climáticas.

Outro ponto que merece destaque é o fato da pesquisa cooperativa e integrada entre universidades e empresas do setor florestal ter forte histórico de sucesso no país. Graças ao desenvolvimento da silvicultura intensiva clonal e aos trabalhos de melhoramento genético das universidades e empresas de celulose e papel, hoje o Brasil é líder em produtividade florestal (Xavier et al. 2009). Por isso é importante continuar investindo nessas parcerias, como apresentadas no âmbito desse trabalho.

Em conclusão, tendo em vista o enorme potencial florestal de Goiás, o incipiente desenvolvimento da eucaliptocultura no estado, a carência de conhecimento técnico e de materiais genéticos de *Eucalyptus* adaptados a déficit hídrico, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a sobrevivência e o crescimento inicial de 113 clones-elite de *Eucalyptus* spp. em testes clonais instalados em três municípios de Goiás.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Parcerias

O presente trabalho contou com parceria duas grandes instituições de ensino, Universidade Federais de Goiás (UFG), Universidade Federal de Viçosa (UFV), duas

empresas privadas do setor florestal, Suzano Papel e Celulose (Suzano) e Clonar Resistência a Doenças Florestais (Clonar), a mineradora AngloAmerican (Catalão-GO) além das empresas FL Florestal (Luziânia-GO) e JPFlorestal (Corumbá-GO).

A AngloAmerican, FL Florestal e JPFlorestal, disponibilizaram parte de sua área de plantio para a instalação do experimento, além de contribuir com a mão-de-obra, insumos e financeiramente para possibilitar a implantação e avaliação dos experimentos.

A Universidade Federal de Goiás (UFG) e a empresa Suzano Papel e Celulose (Suzano) firmaram um convênio de cooperação para avaliar a performance de diferentes clones de *Eucalyptus* em Goiás. Com isso a empresa disponibilizou parte do material genético do seu programa de melhoramento para realização do teste clonal em Goiás, além de arcar com a maior parte dos custos de implantação do experimento. Boa parte do material genético utilizado foram clones de domínio público (desenvolvidos por várias empresas). Além desses, também foram utilizados diversos clones produzidos pela empresa CLONAR, que foi contratada pela Suzano para viabilizar as operações técnicas de implantação, manutenção e avaliação do experimento. Os clones de propriedade privada da Suzano e CLONAR poderão ser utilizados pelos produtores através da assinatura de acordos específicos. No total, para os três experimentos, foram introduzidos 113 clones de espécies puras ou híbridos de diversas espécies de *Eucalyptus*. A seleção priorizou clones advindos de espécies/procedências com melhor tolerância ao déficit hídrico, tais como *E. grandis* procedentes de Atherton (Austrália), *E. tereticornis*, *E. brassiana*, *E. resinifera*, *E. camaldulensis*, *E. pellita*, *E. urophylla* e seus híbridos.

2.2 Instalação do Experimento

A Clonar obteve as mudas dos 113 clones e, em dezembro de 2012, instalou três testes clonais nas áreas da AngloAmerican (município de Catalão), FLFlorestal (Luziânia) e JPFlorestal (Corumbá-de-Goiás) (**Figura 1**). Em cada experimento foram testados 93 clones. No total, 113 clones foram avaliados e, desses, 81 foram plantados em todos os três experimentos.

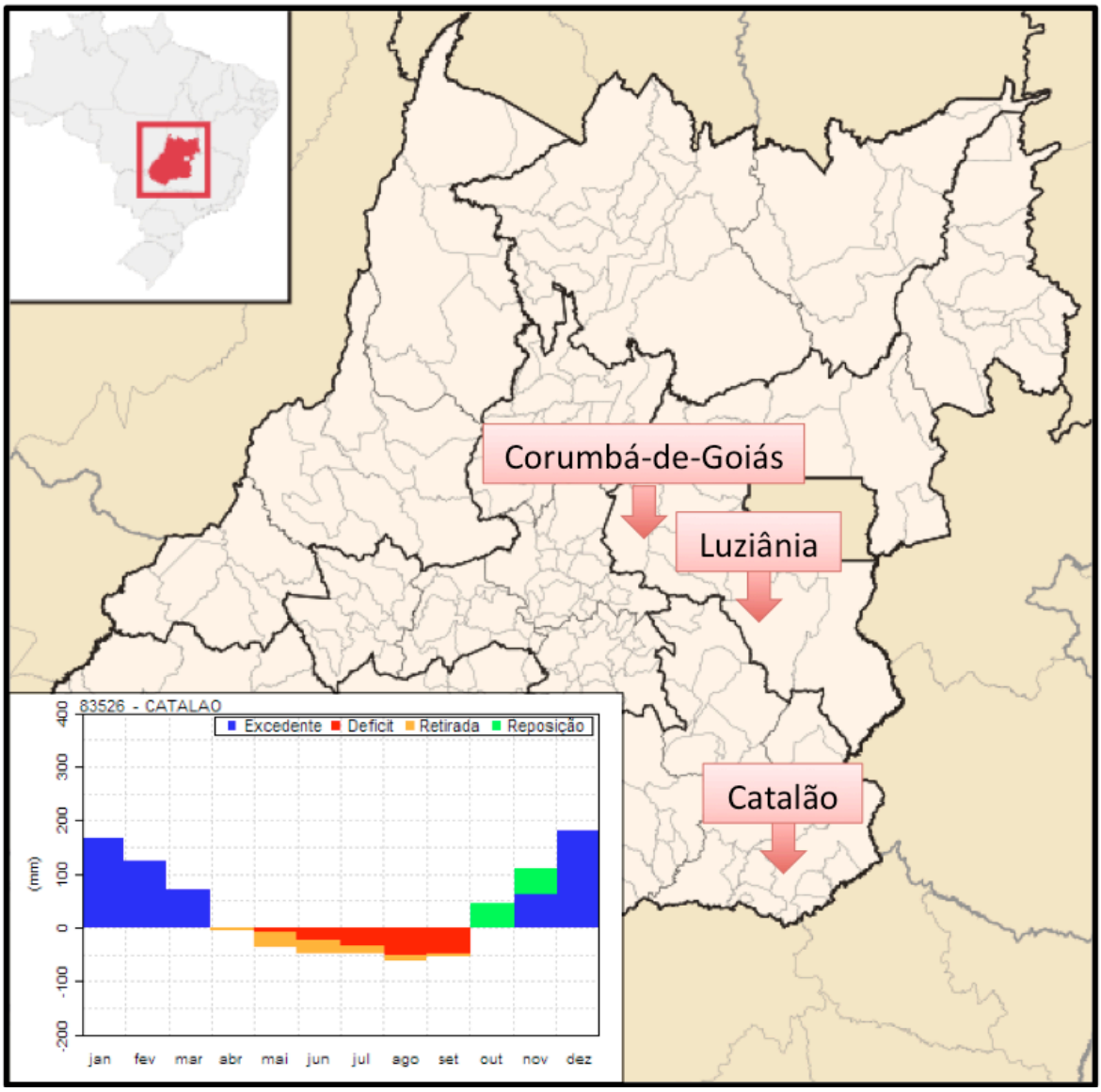


Figura 1. Mapa do estado de Goiás indicando os locais onde os testes clonais foram instalados e o balanço hídrico do município de Catalão. Dados: INMET (1961-1990).

2.3 Delineamento e Implantação dos Testes Clonais

O delineamento utilizado foi o de Blocos Casualizados, com 29 repetições em parcelas de árvores únicas (single tree plots), totalizando 2697 plantas por experimento. Antes da implantação dos experimentos, foram feitos os croquis com a ordem, aleatorizada, dos clones plantados no campo e com seus respectivos códigos de identificação.

Antes do plantio, na área experimental foi feito o preparo do solo com subsolagem a 90 cm, aplicação de gesso e calcário, NPK e boro, capina química e controle de formigas, seguindo prescrição técnica da Suzano. Os plantios foram realizados no início de dezembro,

durante o período chuvoso, para minimizar problemas de déficit hídrico durante o estabelecimento das mudas no campo. As mudas foram plantadas com um espaçamento de 3,0 x 3,0. Para evitar problemas de identificação das plantas, as mudas foram levadas a campo em bandejas contendo os clones, devidamente identificados com etiquetas, na mesma ordem de plantio definida no croqui do experimento.

2.4 Coleta e Análises dos Dados

Com um mês, foi realizado o replantio com registro das árvores mortas desde a implantação. Em maio de 2013, ocorreu uma visita a cada uma das três áreas de experimentais (Corumbá, Catalão e Luziânia) onde ocorreram as avaliações de sobrevivência e altura de todas as árvores dos clones sob teste.

Os responsáveis técnicos das fazendas também foram orientados a fazerem um acompanhamento mensal das áreas experimentais, com o objetivo de identificar eventuais déficits nutricionais e problemas fitossanitários.

Os dados fenotípicos (taxa de mortalidade e altura) foram avaliados através de gráficos de distribuição de frequências para identificar dados discrepantes que foram removidos das análises.

Como as variâncias dos dados de altura não diferiram significativamente entre experimentos, procedeu-se à análise conjunta dos testes. As análises foram conduzidas no programa estatístico R, utilizando um modelo linear fixo (função *lm*), com os efeitos de local, clone, e interação clone x local, além de blocos dentro de cada local. Através dessas análises foi possível identificar, de forma precisa, os clones com menores taxas de mortalidade e melhor crescimento inicial.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados de taxa de replantio e mortalidade, obtidos com um e cinco meses após implantação respectivamente, indicam diferenças significativas entre as regiões (Figura 2a). A significância resulta de diferenças nas condições edafoclimáticas de cada local, bem como nos tratos culturais entre as empresas (p.ex. número de irrigações realizadas e data da adubação de cobertura). Detectou-se também uma significância entre as taxas de replantios das mudas multiplicadas em viveiros diferentes (Figura 2b). Esse resultado pode ser decorrente de diferenças nos substratos e tratos culturais durante preparo das mudas nos diferentes viveiros.

Porém, essas diferenças também podem resultar das distâncias e condições de transporte das mudas a partir dos diferentes viveiros. A taxa de mortalidade, aos cinco meses, não diferiu significativamente entre as mudas dos diferentes viveiros. Apesar das diferenças detectadas, destaca-se que em todos os experimentos a taxa de mortalidade não supera a marca de 5%.

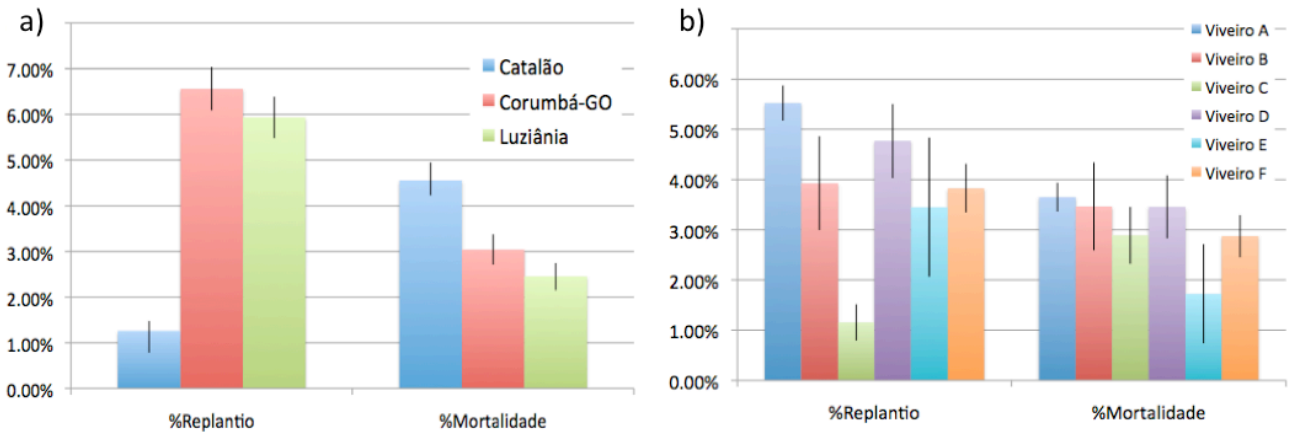


Figura 2. Taxas das taxas de replantio e mortalidade entre os locais dos experimentos e viveiros de multiplicação das mudas. a) Comparação entre as taxas de replantio e mortalidade dos três testes clonais; (b) Comparação entre as taxas de replantio e mortalidade das mudas propagadas nos seis diferentes viveiros. Em cada porcentagem encontra-se demonstrado o respectivo erro padrão.

A análise de variância dos dados de altura demonstram que todos os efeitos testados pelo modelo foram altamente significativos (*p-valor* < 2 x 10^{-16}). Sendo assim, conclui-se que a altura difere significativamente entre os locais e os clones, havendo também interação entre esses fatores (**Tabela 1**). O efeito significativo de clone, indica que os clones possuem variabilidade genética entre si.

Tabela 1. Análise de variância dos dados de altura dos clones nos três experimentos.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Local	2	24550538	12275269	9975.30***
Clone	114	3900837	34218	27.81***
Local x clone	163	798362	4898	3.98***
Bloco(Local)	83	1332389	16053	13.05***
Resíduo	7462	9182489	1231	

A significância da interação entre clones e local indica que o comportamento relativo dos clones se altera de acordo com local do experimento. Essa interação pode ser verificada pela troca de ranking de alguns clones entre os diferentes experimentos (**Figura 3**). No entanto, destaca-se que nessa etapa inicial de crescimento ainda há tendência de estabilidade

no desempenho relativo dos materiais testados, com altas correlações ($r > 0,70$) entre as médias de altura dos clones nos diferentes experimentos.

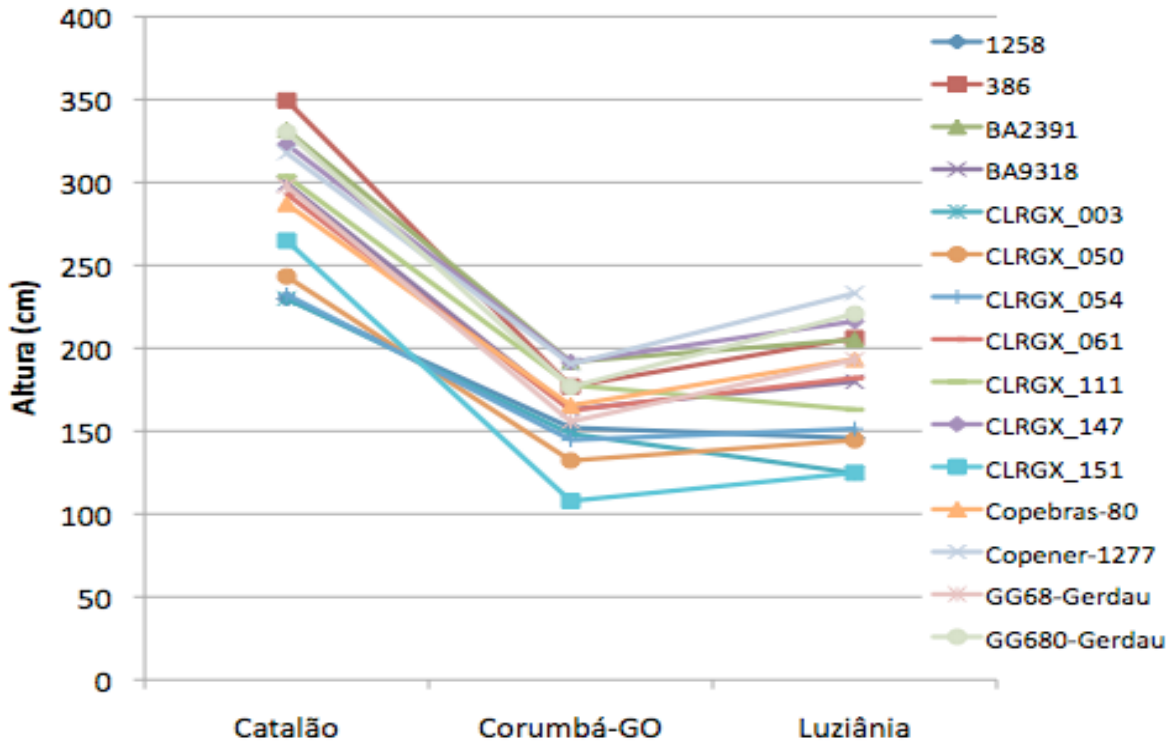


Figura 3. Média de altura de uma amostra de 15 clones nos três experimentos. A amostra inclui os cinco clones mais altos dos experimentos, cinco intermediários e os cinco menores.

4. CONCLUSÃO

A avaliação de mortalidade e crescimento inicial dos clones introduzidos em Goiás indicam que: a) os experimentos estão sendo bem conduzidos, com taxas de mortalidade inferiores a 5%; b) os clones possuem variabilidade genética entre eles; c) há interação clone x ambiente, mas esse efeito é relativamente pequeno, indicando ser possível pelo menos em idade precoce a recomendação de clones para extensas áreas do estado;

5. AGRADECIMENTO

À Suzano Papel e Celulose, Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), AngloAmerican, FL Florestal e JPFlorestal pelo apoio financeiro, ao CNPq (RHAE) e à Clonar Resistência.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAF. **Anuário estatístico da ABRAF – ano base 2012**. Associação Brasileira dos Produtores de Florestas Plantadas (ABRAF): Brasília, 2013. 146p.

FAO. **Global demand for wood products**. In: State of the World's Forests 2009. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, 2009. p.62-96.

Filho EPC. **Eucalipto: demanda crescente**. *Florestar Estatístico* 2006, 9(18): 9-13.

Folha de São Paulo. **Governo planeja duplicar área de florestas plantadas**. *Jornal Folha de S. Paulo*: São Paulo, 20 de março de 2011.

Painel Florestal (2011). **Projeto do Eucalipto avança em Alagoas e atrai a atenção de empresas**. Painel Florestal Comunicação e Mídia, 08 de março de 2011. Disponível no sítio: http://painelflorestal.com.br/noticias/florestas-plantadas/10941/projeto-do-eucalipto-avanca-em-alagoas-e-atrai-a-atencao-de-empresas

Silveira, Ricardo Bitencourt. **Análise da rentabilidade potencial de investimentos em reflorestamento de eucalipto no leste do Mato Grosso do Sul e norte do Paraná**. Campo Grande-MS, 2008. Dissertação de Mestrado, Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal – UNIDERP.

Xavier A, Wendling I, da Silva RL. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas.** Editora UFV: Viçosa, 2009. 272p.

DINÂMICA DA INTERAÇÃO DE SÓLITONS

Rafael Marques Paes Teixeira
Prof. Dr. Wesley Bueno Cardoso

08-08-2013

Universidade Federal de Goiás/ Instituto de Física

Matrícula: 111759 / **Email:** rafael.mpt@hotmail.com
Curso: Bacharelado em Física / **Turma:** 3º período
Orientador: Prof. Dr. Wesley Bueno Cardoso

1 Resumo

Este relatório tem como objetivo apresentar o trabalho desenvolvido durante o período da bolsa de iniciação científica [1]. Como continuação do trabalho anterior, elaborou-se um novo programa para simulações de espalhamento de sólitons vetoriais regidos pelas equações NLS (não linear de Schrödinger) acopladas. Os resultados gráficos obtidos dão indicativa da existência do espalhamento fractal, mas ainda não são suficientes para a confirmação. Assim, iniciou-se um estudo analítico com base em trabalhos já publicados que envolvem modelos teóricos para a descrição aproximada da dinâmica das interações. O modelo de EDO reduzido para os sólitons vetoriais da literatura foi refeito e as equações da dinâmica adquiridas são equivalentes às apresentadas pelos autores em seus trabalhos.

Palavras chaves: sóliton, equação não linear de Schrödinger (NLS), equações de Euler-Lagrange, espalhamento fractal.

[1] Revisado pelo orientador.

2 Introdução

A primeira motivação que levou a descoberta do fenômeno atualmente designado *sóliton* surgiu em 1834 devido à observação do engenheiro escocês John Scott Russel. Ele acompanhava uma barcaça que era puxada por cavalos ao longo de um canal estreito, quando a corda presa aos cavalos rompeu, a barcaça parou rapidamente e criou uma onda de elevação solitária com forma suave e bem definida que se propagava com grande velocidade pelo canal. Ele observou que a onda aparentemente preservava sua forma e intensidade enquanto se propagava pelo canal, e deu o nome de onda de translação ao fenômeno.

A teoria de ondas em água superficiais da época era governada por equações diferenciais parciais lineares, e descreviam bem o efeito de dispersão que causa o desaparecimento das ondas durante a propagação em águas rasas (com ou sem efeitos dissipativos), mas não explicava o que Russel observou e recriou posteriormente em seu laboratório, o que causou muita controvérsia entre os cientistas da época. Somente em 1895, que Diederik Korteweg e Gustav de Vries desenvolveram uma extensão da teoria capaz de explicar o fenômeno. A equação Korteweg-de Vries (KdV) é uma equação diferencial parcial, não linear e dispersiva que fornece um modelo matemático para movimentos de onda em águas rasas, sua forma geral é:

$$\frac{\partial u}{\partial t} + \frac{\partial u^3}{\partial x^3} + u\frac{\partial u}{\partial x} = 0.$$

Considerando a solução da forma de uma onda de solitária (ou onda de translação) que preserva sua forma $u(x,t) = f(x - vt, t)$, obtemos a solução localizada mostrada abaixo, cuja a forma pode ser apreciada na figura 1.

$$u(x,t) = \frac{c}{2} sech^2 \left[\frac{\sqrt{c}}{2}(x - vt - a) \right].$$

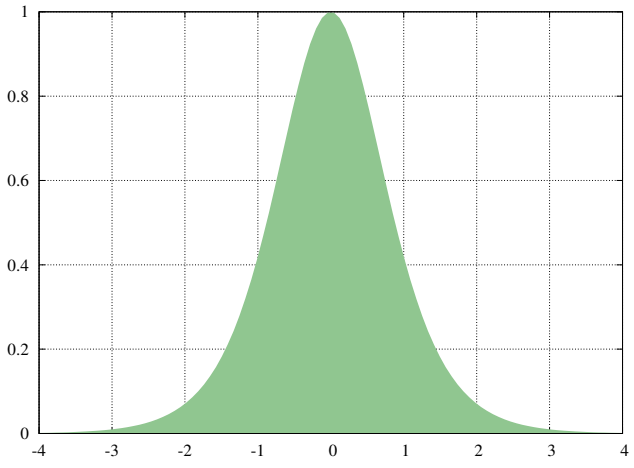


Figura 1: perfil da onda de translação para a KdV.

Até a década de 60 a equação KdV não tinha sido muito explorada, então, com os avanços da computação, foi possível que Zabusky e Kruskal (1965) analisassem numericamente a colisão entre duas Ondas solitárias governadas pela KdV, o resultado obtido foi uma colisão elástica. Dois anos mais tarde, Gardner criou o método de espalhamento inverso e resolveu a equação KdV analiticamente. A partir desses trabalhos várias pesquisas surgiram visando investigar as ondas não lineares. Várias equações diferenciais parciais não lineares que exibem soluções na forma de ondas solitárias foram solucionadas analiticamente pelo método desenvolvidos por Gardner, algumas delas são a equação não linear de Schrödinger (NLS), a equação sine-Gordon e a Kadomtsev–Petviashvili (KP), essas equações são ditas integráveis, as equações do tipo NLS foram o foco do projeto de iniciação científica.

As equações integráveis têm um papel fundamental na teoria de onda não linear, mas o fato é que na natureza a maioria dos fenômenos que abrangem a física e a engenharia são regidos por equações do tipo não integráveis, essas não podem ser resolvidas pelo método do espalhamento inverso e são mais complexas do que as outras. A partir de várias pesquisas desenvolvidas sobre essas equações não integráveis percebeu-se o quão elas são mais ricas também, as ondas solitárias descritas por elas podem ser instáveis e apresentar fenômenos bastante interessantes quando interagem entre si, como, por exemplo, o espalhamento fractal.

No estudo de equações não integráveis a computação numérica é muito importante, geralmente são feitas simulações com objetivo de avaliar a evolução de certas condições iniciais da equação diferencial parcial, simulação de evolução de soluções exatas ou aproximadas (no caso de múltiplas soluções localizadas), etc. Para o desenvolvimento de programas computacionais existem uma variedade de métodos que fornecem bons resultados e que são essenciais para pesquisas nessa área, como, por exemplo, o método Split-Step para simulações de evolução, o qual foi amplamente usado nos programas elaborados na iniciação científica.

Foi só em 1989 que foi introduzido o termo *sóliton* para designar a onda solitária que tem a forma constante, que é localizada em uma região do espaço, e que interage com outros sólitons, mas emerge após a colisão com a mesma energia e velocidade.

As equações integráveis citadas anteriormente possuem soluções ditas solitônicas, ou, em forma de sólitons. Vale ressaltar que é comum usar o termo sóliton para designar ondas que não apresentam todas as características mencionadas, como quando estuda-se o espalhamento fractal em equações não integráveis, pois durante a interação das ondas (no caso óptico: pulsos ou feixes) na região de colisão ocorrem outros fenômenos e as ondas saem alteradas, mas, permanecem como sólitons após distanciarem uma da outra assim como inicialmente eram antes da aproximação.

Em virtude de avanços tecnológicos que começaram a surgir a partir de 1980, se tornou-se possível a realização de experimentos ópticos envolvendo sólitons, que se intensificaram bastante após a descoberta de aplicações em comunicação por fibras ópticas, por exemplo.

Com isso o desenvolvimento da teoria foi beneficiado, pois os experimentos já permitiam a verificação tanto qualitativa como quantitativa. Sólitons em meios ditos periódicos ou quase periódicos (tal como fibras de cristal fotônico) e em condensados de Bose-Einstein (BEC) têm chamado muito atenção de pesquisadores devido aos experimentos que estão acessíveis. Embora sejam sólitons em meio diferentes, o comportamento durante as interações átomo-átomo no BEC está intimamente relacionado com o caso óptico, onde os sólitons são pulsos ou feixes de luz. Depois da primeira observação do BEC em 1995, que rendeu o prêmio Nobel aos cientistas envolvidos, houve muito interesse e motivação em pesquisas teóricas e experimentais na área.

A colisão entre duas ondas solitárias pode gerar fenômenos muito interessantes quando essas são regidas por equações do tipo não linear e não integráveis, e o que chamou mais atenção dos pesquisadores foi caráter fractal que algumas equações exibiram. Tais colisões surgem em diversas situações físicas, em comunicações por fibras ópticas isso ocorre entre sinais (pulsos) com diferentes frequências, fato que também foi uma motivação para o entendimento da dinâmica envolvida nessas colisões. No caso das equações integráveis as soluções são sólitons e a colisão é elástica, a única evidência de interação é uma mudança na fase e na posição. Em alguns casos como as equações de Manakov e as equações *focusing-defocusing* NLS, a colisão entre sólitons causa uma mudança na forma do pulso devido à transferência de energia através do meio, porém, as velocidades permanecem as mesmas e nenhuma energia é perdida através de emissão de radiação.

Em sistemas não integráveis as colisões entre ondas solitárias geralmente dependem das condições iniciais, tais como velocidade, fase relativa e amplitude da onda. Para a análise do espalhamento das ondas de modo numérico, deve-se desenvolver um programa que varie alguma condição inicial em um intervalo dado e retire da simulação como as ondas saíram da após a interação, o resultado gráfico dos parâmetros de entrada e saída fornece uma visão da dinâmica do sistema. O padrão fractal associado ao espalhamento foi primeiro observado para as equações do tipo sine-Gordon em 1983, e, posteriormente, foi mostrado o mesmo para colisões entre sólitons vetoriais cuja interação é governada pelas equações acopladas de Schrödinger (2000). As equações de onda deste tipo têm em comum um modo interno oscilante em suas ondas solitárias, cuja denominação em inglês é *shape-oscillation mode*. Esse modo oscilante pode drenar parte da energia de translação da onda quando excitado através da interação com uma outra, isso gera um efeito que causa um retardamento nas ondas, que podem interagir durante um certo tempo e, possivelmente, formar o que é denominado de estado-ligado. A interação dura até que a energia transferida para o modo interno ser parcialmente ou totalmente convertida em energia de translação dependendo das condições em questão, e então fazer com que as ondas ganhem velocidade e escapem da zona de interação, que aparenta exercer uma espécie de força atrativa entre as ondas solitárias. Durante o estado-ligado a energia oscila entre o modo interno e a cinética de maneira ressonante, e exatamente esse fato é responsável pelo caráter fractal apresentado pelo espalhamento. A análise do espalhamento ocorre de duas

formas, uma por meio de simulações computacionais e outra com uso de modelos teóricos aproximados que capturem as principais características da dinâmica das colisões e auxiliam também na parte computacional.

Para investigar a dinâmica de interação entre sólitons vetores (que na verdade são realmente sólitons somente quando isolados espacialmente) partimos das equações acopladas não lineares de Schrödinger:

$$iu_t + u_{xx} + (|u|^2 + \beta \cdot |v|^2) = 0,$$
$$iv_t + v_{xx} + (|v|^2 + \beta \cdot |u|^2) = 0.$$

As funções u e v são funções de x e t, cada uma descreve uma onda solitária e sua interação com a outra, que é dada pela parte com termo β, chamado de coeficiente de modulação de fase cruzada. Caso $\beta = 0$, não teríamos nenhum acoplamento, e as ondas seriam exatamente sólitons vetoriais. Caso $\beta = 1$, teríamos as equações de Manakov, e as ondas seriam sólitons também. Nestes dois caos anteriores o sistema torna-se integrável. Como condições iniciais é interessante considerar algo simétrico, tomando as ondas com mesma velocidade inicial em módulo e mesma amplitude:

$$u(x,0) = \eta \cdot sech(x + \chi_0) \cdot e^{iv_0 x/4},$$
$$v(x,0) = \eta \cdot sech(x - \chi_0) \cdot e^{-iv_0 x/4}.$$

O função $sech(...)$ (secante hiperbólica) juntamente com a exponencial complexa constituem a solução da equação quando não há acoplamento, sóliton. Vale salientar que essas funções são complexas, e, assim como na física quântica, o que é dotado de significado físico é o módulo ao quadrado da função, ou seja, $|u|^2$, que no caso óptico significa a intensidade da luz (esses detalhes constam na seção introdução do relatório referente ao ano anterior). Do ponto de vista computacional, a superposição de duas soluções independentes para compor a condição inicial é uma aproximação válida, pois as ondas estão inicialmente separadas por distância suficiente para que os campos não se sobreponham significativamente (o perfil cai a zero rapidamente; veja figura 1). Na verdade sabe-se que a não há influência de χ_0 na dinâmica da colisão, porém seu valor deve ser como mencionado anteriormente.

Os trabalhos de Yu Tan e Jianke Yang, ambos da Universidade de Vermont (EUA), mostraram por meio de simulações computacionais que existe espalhamento fractal de sólitons vetores com as condições e equações mostradas nos parágrafos precedentes. Alguns resultados obtidos por eles são mostrados a seguir [1, ver pag. 213]:

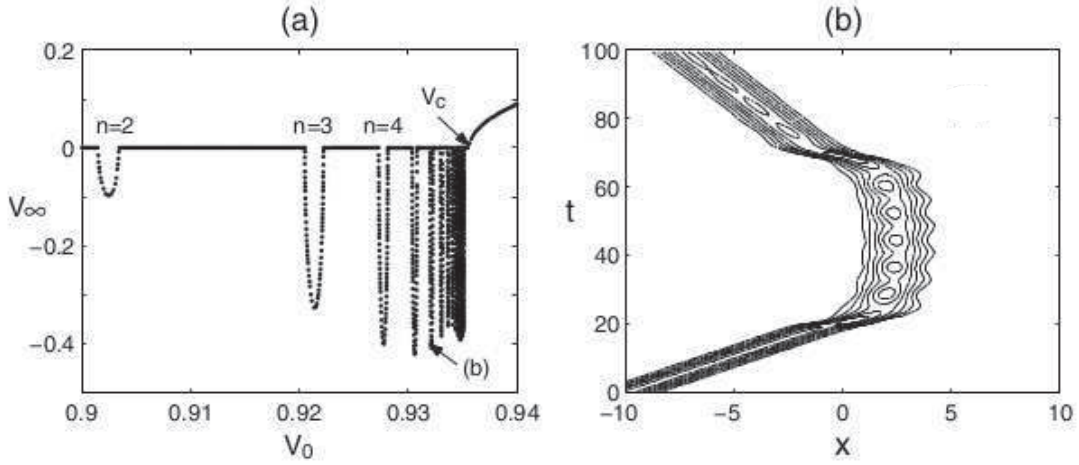


Figura 2: Resultado das simulações de colisão para as equações NLS acopladas com $\beta = 0.2$: (a) Velocidade de saída velocidade de colisão; (b) Contorno de $|u|$ com velocidade no início da janela de reflexão marcada em (a). Fig. retirada da referência [1].

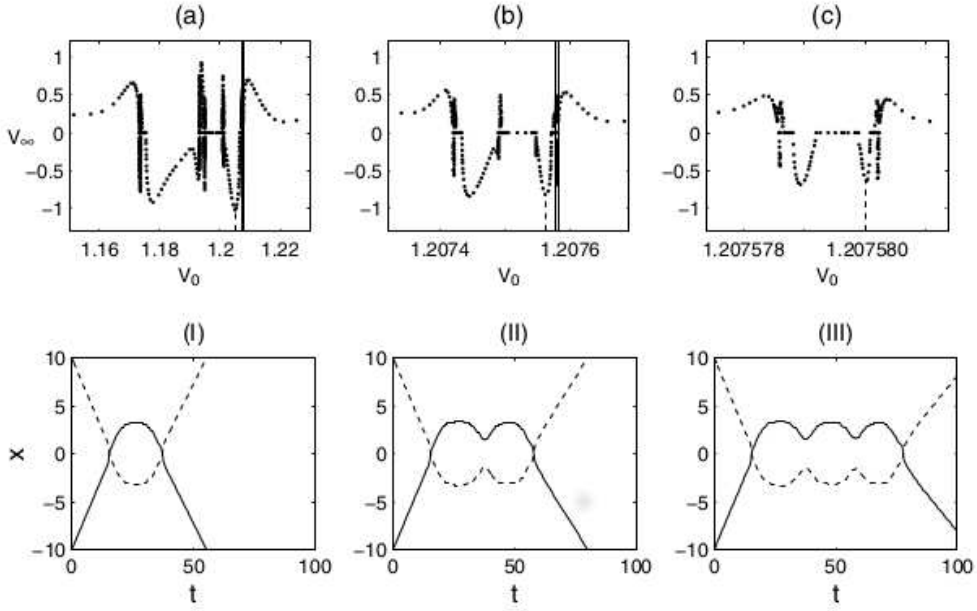


Figura 3: Estrutura fractal apresentada pela dinâmica de interação de sólitons vetores com $\beta = 2/3$. As figuras I, II e III mostram a amplitude máxima de cada onda solitária para a colisão com velocidade inicial marcada na figura logo acima. As figuras (a), (b) e (c) consistem sucessivas ampliações das janelas marcadas nas mesmas. Fig. retirada da referência [1].

Na figura 2b tem-se a visão superior da superfície dada por $|u|$, para $|v|$ a imagem é simétrica em relação à reta $x = 0$ em virtude da simetria das condições iniciais. A simetria da colisão pode ser vista na figura 3, onde a linha sólida representa o pico de intensidade do sóliton que vem da esquerda, enquanto que a linha tracejada do que vem da direita. Também na figura 3 observa-se o padrão fractal, que é caracterizado pela repetição de uma estrutura em janelas de localização imprevisível, algo comum em sistema ditos caóticos.

Um estudo analítico também foi feito por Yu e Yang em seus trabalhos, trata-se de um modelo reduzido de EDO (equação diferencial ordinária) obtido com o uso do cálculo variacional. O método variacional consiste de encontrar as soluções de parâmetros variáveis envolvidos na dinâmica do sistema usando a formulação Hamiltoniana:

$$L = \int_{-\infty}^{\infty} dx \ \mathscr{L}(u, u^*, u_t, u_t^*, u_x, u_x^*, v, v^*, v_t, v_t^*, v_x, v_x^*) \tag{1}$$

$$S = \int_a^b dt \ L(q, \dot{q}, t) \tag{2}$$

$$\delta S = 0 \tag{3}$$

Na eq. (1), $\mathscr{L}$ é a densidade lagrangiana e L é a lagrangiana, que depende das n coordenadas generalizadas q, das n velocidades generalizadas $\dot{q}$ e do tempo t. Na equação dois temos a definição da ação S, já na equação 3 temos o princípio de Hamilton da mínima ação que fornecerá as equações de Euler-Lagrange (EL):

$$\frac{d}{dt}\left(\frac{\partial L}{\partial \dot{q}_k}\right) - \frac{\partial L}{\partial q_k} = 0 \qquad k = 1, \cdots, n \tag{4}$$

A densidade lagrangiana adotada é mostrada na equação 5, se calcularmos as equações de EL associadas obtemos as equações NLS acopladas.

$$\mathscr{L} = i(uu_t^* - u^*u_t) + i(vv_t^* - v^*v_t) + (2|u_x|^2 - |u|^4) + (2|v_x|^2 - |v|^4) - 2\beta|u|^2|v|^2 \tag{5}$$

Para completar, é necessário conhecer a forma de u e v em termos dos parâmetros variacionais que regem o sistema, essa forma, muitas vezes chamada de *ansatz*, precisa ser apropriada e deve ser capaz de descrever cada característica da onda quando essa está ou não interagindo com outra onda solitária. Para o modelo em questão temos o seguinte ansatz:

$$\begin{aligned} u(x,t) &= \eta_1 \cdot sech\left(\frac{x+\xi_1}{w_1}\right) e^{i\left[\frac{1}{4}v_1(x+\xi_1)+\frac{b_1}{2w_1}(x+\xi_1)^2+\sigma_1\right]} \\ v(x,t) &= \eta_2 \cdot sech\left(\frac{x+\xi_2}{w_2}\right) e^{i\left[\frac{2}{4}v_2(x+\xi_2)+\frac{b_2}{2w_2}(x+\xi_2)^2+\sigma_2\right]} \end{aligned} \tag{6}$$

A equações em 6 são boas somente para interações fracas, o que significa β pequeno. Os grandezas η_k, w_k, v_k, b_k, ξ_k e σ_k ($k = 1$ ou 2) são os parâmetros variacionais, eles significam, respectivamente, amplitude, espessura, velocidade, *chirp*, posição e fase. O parâmetro denom-

inado chirp tem a função de induzir variação na espessura do perfil da onda solitária, isso fica mais compreensível quando as contas são feitas (isso será mostrado na seção resultados). Os cálculos são simplificados com o emprego das condições iniciais simétricas já discutidas, assim temos que $\eta_1 = \eta_2$, $\xi_1 = -\xi_2$, $v_1 = -v_2$, $b_1 = b_2$ e $w_1 = w_2$.

Os cálculos que levam as equações resultantes que descrevem a dinâmica do sistema não constam nos livros e nem no paper referente. Parte dos cálculos feitos pelo estudante de iniciação científica e as equações finais encontradas constam na seção resultados. O resultado gráfico que obtêm-se após resolução das equações finais evidencia a semelhança ao que foi encontrado via simulação por Yu e Yang.

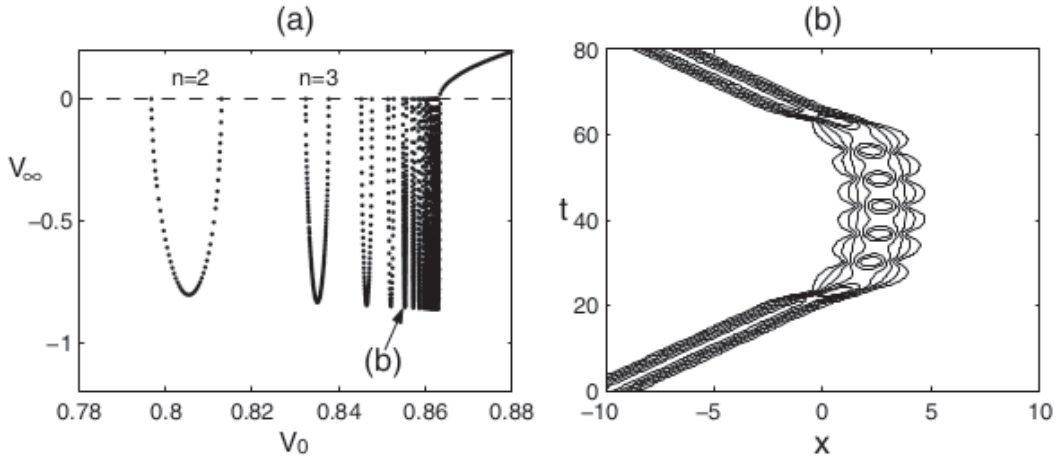


Figura 4: Resultado da colisão para o modelo reduzido de EDO com $\beta = 0.2$: (a) Velocidade de saída velocidade de colisão; (b) Contorno de $|u|$ com velocidade no início da janela de reflexão marcada em (a). Fig. retirada da referência [1].

Comparando as figuras 2 e 4, nota-se que são bem semelhantes, no caso da fig. 2 os picos (invertidos) são mais estreitos do que os da fig. 4, mas ambas mostram o surgimento de muitos picos que se tornam indistinguíveis quando se aproxima de um certo valor crítico v_c, que, no caso das simulações, é maior do que o fornecido pelo modelo analítico.

3 Objetivos e metodologia

O objetivo do trabalho até agora realizado é obter resultados que comprovem também o espalhamento fractal de sólitons vetoriais acoplados de acordo com o que foi descrito da seção anterior, então, posteriormente, estender o método e o conhecimento obtido para outros casos que ainda não foram investigados com intuito de descobrir algo novo.

Conforme explicado anteriormente, existem duas formas de estudo para o problema em questão, a computacional e a analítica (aproximada). As simulações computacionais foram executadas primeiramente, mas para isso foi necessário o desenvolvimento de um programa que fizesse a evolução temporal das equações NLS acopladas conforme as condições iniciais dadas. Para esse programa teve-se como molde o programa já desenvolvido pelo estudante para o caso da equação NLS integrável, cuja solução são sólitons. O esquema de funcionamento do programa consta no relatório anterior referente ao ano de 2012. Basicamente, o que se emprega é o método Split-Step, pois esse permite quebrar a equação não linear em duas equações diferenciais resolvíveis através de simples métodos computacionais. No caso das equações do tipo NLS, a parte linear é semelhante à uma equação de difusão, e pode ser simulada por vários métodos como o da transformada rápida de Fourier, o compacto de quarta ordem e o Crank-Nicholson (que foi usado). A parte não linear para o caso da NLS é simples, o procedimento matemático pode ser visto no relatório de 2012.

As tentativas de obter os mesmos resultados de Yang via simulações se mostraram difíceis sem ter em mãos algumas pistas de onde encontrar a janelas de reflexão, onde são possíveis enxergar o padrão fractal e a formação do estado-ligado. A aquisição dessas "pistas" se dá pelo estudo do modele reduzido de ODE, por isso decidiu-se focar no estudo analítico guiado pelas referências acessíveis, o que levou a necessidade de resolver o problema variacional descrito na seção anterior e tentar obter as equações apresentadas pelo autor do livro (o próprio Jianke Yang). Após a obtenção das equações (processo mostrado na próxima seção), o objetivo será obter os mesmas reproduções gráficas (o que simples de se fazer) e então aplicar o mesmo processo para outras equações de onda não lineares e não integráveis, surgindo a partir disso outras tarefas preliminares, como, por exemplo, a construção de um ansatz que seja apropriado ao sistema.

4 Resultados e discussões

Está seção será dividida em duas partes, uma referente às simulações computacionais e seus resultados, e a outra com os cálculos que levaram as mesmas equações citadas por Yang em seu trabalho (publicado em 2000).

4.1 Simulações computacionais

Os programas desenvolvidos exigiram muito de tempo de processamento para que fosse gerado uma quantidade razoável de dados, o motivo disso não é somente o número de vezes que simulavam-se as colisões para variações na diferença de fase (geralmente 400 pontos), mas deve-se em maior parte à malha espaço-temporal que necessária para a minimização de erros. A malha espaço-temporal é dada pela malha espacial (número de pontos em x) e pela malha temporal (número de pontos em t). Em $t = 0$ a constante de fase de um sóliton é sempre considerada nula, para o outro admiti-se como variável, isso produz uma fase relativa (Df) que é o único parâmetro que difere as colisões. Os resultados gráficos a seguir correspondem a várias simulações de espalhamento com $\beta = 0.2$ em janelas centradas na origem, os parâmetros do programa são mostrados primeiramente abaixo:

Parâmetro	Valor
Largura total (L)	Var.
Tempo limite (T)	500
Variação da fase relativa	Var.
Malha espacial (n)	600
Malha temporal (m)	8000
Malha fásica	400
Velocidade Inicial (v_0)	0.012

Tabela 1: Tabela com os parâmetros das simulações de espalhamento. O valor de L e Df variam de acordo com janela de cada gráfico. O valor de T é só um limitador, o programa encerra a colisão quando os sólitons se afastam. A malha fásica consiste de quantas simulações são executadas para valores discretos de fase relativa.

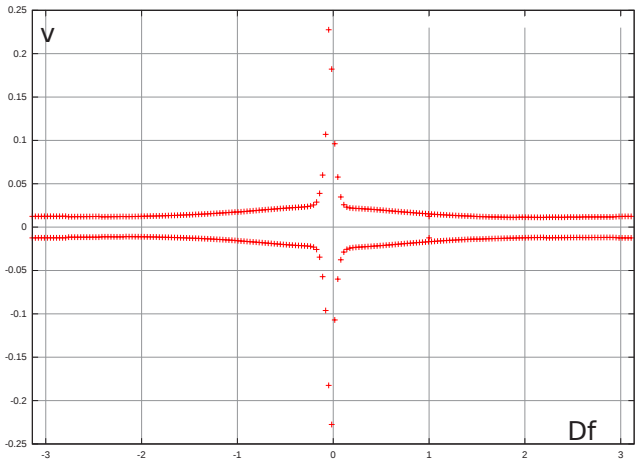


Figura 5: Espalhamento de sólitons vetores, velocidade de saída v versus Df; Variação da fase relativa: $Df = -\pi..\pi$

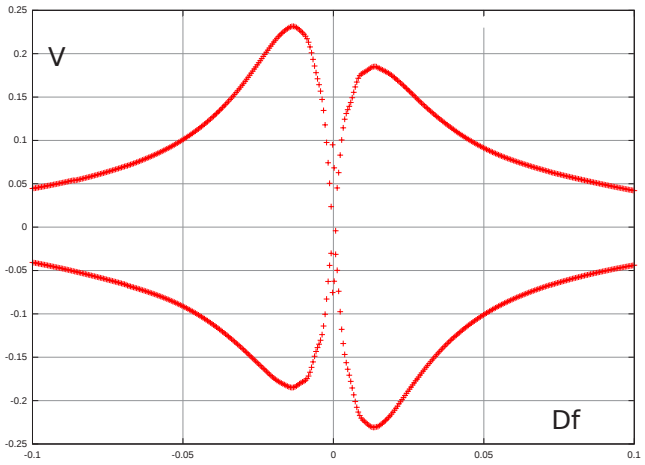


Figura 6: Espalhamento de sólitons vetores, velocidade de saída v versus Df; Variação da fase relativa: $Df = -0.1..0.1$

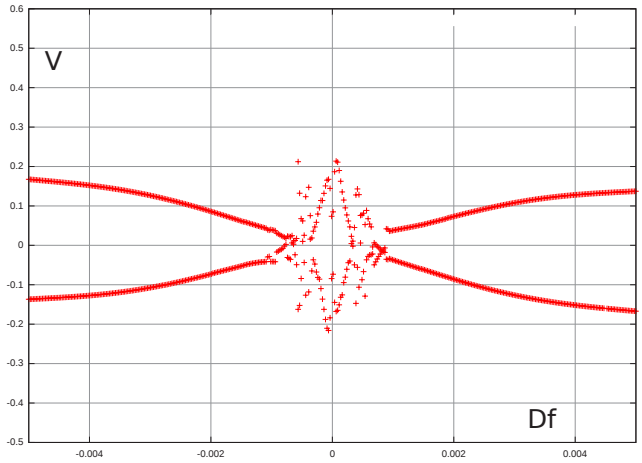


Figura 7: Espalhamento de sólitons vetores, velocidade de saída v versus Df; Variação da fase relativa: $Df = -0.005..0.005$

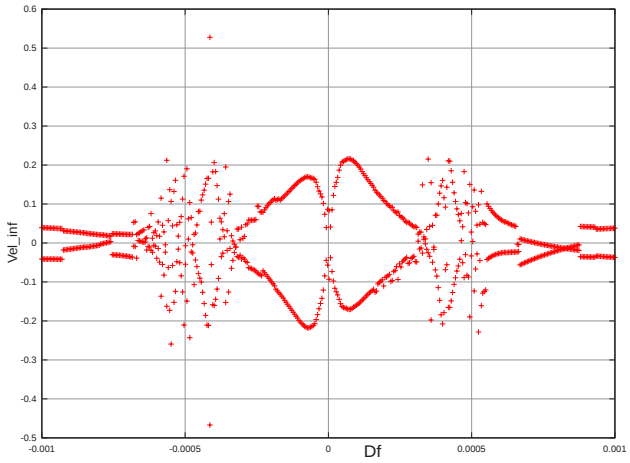


Figura 8: Espalhamento de sólitons vetores, velocidade de saída v versus Df; Variação da fase relativa: $Df = -0.001..0.001$

Observando os gráficos anteriores percebe-se que embora a quantidade de pontos (malha fásica) não seja suficiente para definir toda a curva de espalhamento, é possível inferir que existe um certo padrão se repetindo conforme a janela se reduz em torno de $x = 0$, mas isso não razoável para concluir a respeito do padrão fractal. Devido à esses resultados computacionais passou-se o foco para o estudo analítico para melhor entendimento do que está acontecendo. Futuramente, pode-se empregar os resultados do modelo teórico para auxiliar nas simulações, como por exemplo na questão da otimização dos *loops* internos do programa, o que economizaria mais tempo de processamento.

4.2 Modelo reduzido de EDO

Os cálculos que serão apresentados consistem de um resumo do que foi feito. Considerando o ansatz mostrado na seção introdução, pode-se definir algumas outras funções para simplificação:

$$p_k = \frac{x - \xi_k}{w_k}\ ,\ \ \phi_k = \frac{v_k}{2}(x - \xi_k) + \frac{b_k}{2w_k}(x - \xi_k)^2 + \sigma_k \tag{7}$$

Assim, usando as funções em 7, o ansatz para o sóliton da esquerda é dado por:

$$u(x,t) = \eta_k sech(p_k) \cdot e^{i\phi_k} \tag{8}$$

As condições iniciais são aquelas descritas anteriormente, são elas:

$$\begin{aligned} &\xi_1 = -\xi_2 = \Delta/2\ ,\ \ \eta_1 = \eta_2 \\ &v_1 = -v_2 = v/2\ ,\ \ w_1 = w_2\ ,\ \ b_1 = b_2 \end{aligned} \tag{9}$$

As derivadas espaciais e temporais são especificas com os subíndices x e t, respectivamente. Para as funções p e ϕ de subíndice 1 (referente à função u) temos as derivadas abaixo, que são análogas para o caso do subíndice 2.

$$Espaciais: \begin{cases} p_{1x} = 1/w_1 \\ \phi_{1x} = \dfrac{v_1}{2} + \dfrac{b_1}{w_1}(x - \xi_1) \end{cases}$$

$$Temporais: \begin{cases} p_{1t} = -\dfrac{x}{w_1^2}w_{1t} + \dfrac{\xi_{1t}}{w_1} - \dfrac{\xi_1 w_{1t}}{w_1^2} \\ \phi_{1t} = (x - \xi_1)\left(\dfrac{v_{1t}}{2} - \dfrac{b_1\xi_{1t}}{w_1}\right) + (x - \xi_1)^2\left(\dfrac{b_{1t}}{2w_1} - \dfrac{b_1 w_{1t}}{2w_1^2}\right) - \dfrac{v_1\xi_{1t}}{2} + \sigma_{1t} \end{cases}$$

A densidade lagrangiana pode ser calculada em partes para evitar confusão, note que $\mathscr{L}$ é composta de parcelas que envolvem somente uma função de onda com exceção da última que contém β. Os resultados de cada parte seguem:

$$T_{11} = i(uu_t^* - u^*u_t) = -2 \cdot Im(uu_t^*)$$
$$\therefore T_{11} = 2\eta_1^2\phi_{1t}sech^2(p_1)$$

$$T_{21} = 2|u_x|^2 - |u|^4$$
$$\rightarrow |u_x|^2 = \eta_1^2 sech_2(p_1)(p_{1x}^2 tgh^2(p_1) + \phi_{1x}^2) - \eta_1^4 sech^4(p_1)$$
$$\rightarrow tgh^2(a) = 1 - sech^2(a)$$
$$\therefore T_{21} = 2\eta_1^2(p_{1x}^2 + \phi_{1x}^2) - (2\eta_1^2 + \eta_1^4)sech^4 p_1$$

$$T_3 = 2\beta|u|^2|v|^2$$
$$\therefore T_3 = 2\beta\eta_1^2\eta_2^2 sech^2 p_1 sech^2 p_2$$

T_{12} e T_{22} são as expressões envolvendo a função v, elas não mostradas porque são equivalentes as outras para u. O próximo passo é a integração definida de $\mathscr{L}$ para obter-se a lagrangiana L, o que requer um pouco de cautela para que as contas não fiquem complicadas e muito extensas. As seguintes integrais são adequadas para a realização simplificada dos cálculos:

$$\begin{aligned}
&1)\ \int_{-\infty}^{\infty} sech^2(ax+b)\ dx = \frac{2}{a} \\
&2)\ \int_{-\infty}^{\infty} (x-\zeta)sech^2(ax+b)\ dx = -\frac{2(a\zeta+b)}{a^2} \\
&3)\ \int_{-\infty}^{\infty} (x-\zeta)^2 sech^2(ax+b)\ dx = \frac{\pi^2 + 24\zeta ba + 12b^2 + 12\zeta^2 a^2}{6a^3} \\
&4)\ \int_{-\infty}^{\infty} sech^2(ax+b)\cdot sech^2(ax-b)\ dx = \frac{16e^{4b}}{a}\cdot\frac{1+2b+2be^{4b}-e^{4b}}{3e^{4b}-3e^{8b}+e^{12b}-1}
\end{aligned} \tag{10}$$

As integrais de T_{nm} no espaço serão denotadas por I_{nm}, então, usando as quatro integrais listadas em 10, obtém-se:

$$I_{11} = \int_{-\infty}^{\infty} T_{11}\ dx$$
$$\Rightarrow I_{11} = \eta_1^2 \left[\frac{\pi^2}{6}(b_{1t}w_1^2 - b_1 w_1 w_{1t}) + (4w_1\sigma_{1t} - 2v_1\xi_{1t}w_1)\right]$$

$$I_{21} = \int_{-\infty}^{\infty} T_{21}\ dx$$
$$\Rightarrow I_{21} = \frac{4\eta_1^2}{3w_1} + \eta_1^2 v_1^2 w_1 + \frac{\pi^2\eta_1^2 b_1^2 w_1}{3} - \frac{4\eta_1^4 w_1}{3}$$

As integrais I_{n2} são análogas as I_{n1} mostradas acima. A última integral da densidade lagrangiana é simples se utilizarmos a integral 4 da lista 10, porém, essa assume uma forma mais interessante ao empregarmos a partir daqui as condições de simetria contidas no bloco 9. Temos então o seguinte:

$$I_3 = \int_{-\infty}^{\infty} T_3\ dx = 2\beta\eta_1^2\eta_2^2 \cdot \gamma$$
$$\hookrightarrow \gamma = \int_{-\infty}^{\infty} sech^2 p_1 \cdot sech^2 p_2\ dx$$

$$\gamma = 16e^{2r} \cdot \frac{w - we^{2r} + \Delta + \Delta e^{2r}}{(e^{2r}-1)^3},\ \ r = \frac{\Delta}{w}$$
$$\rightarrow e^{2r} = senh(2r) + cosh(2r) \Rightarrow \gamma = \frac{16e^{-r}}{8senh^3 r} \cdot [w(1-e^{2r}) + \Delta(1+e^{2r})]$$
$$\therefore \gamma = 4w \cdot \frac{r \cdot cosh(r) - senh(r)}{senh^3(r)}$$

Aqui é razoável definir uma nova função $F(r)$ tal que $\gamma = 4w \cdot F(r)$, ou seja:

$$F(r) = \frac{r \cdot cosh(r) - senh(r)}{senh^3(r)} \tag{11}$$

Enfim, a lagrangiana $L = I_{11} + I_{12} + I_{21} + I_{22} + I_3$ com as condições de simetria é dada por:

$$L = \eta^2 \left[\frac{\pi^2}{3}(2b^2 w + b_t w^2 - bww_t) + \left(\frac{8}{3w} + \frac{v^2 w}{2} - vw\Delta_t + 4w(\sigma_{1t} + \sigma_{2t})\right)\right] - \\ -8\eta^4 w\left(\frac{1}{3} + \beta \cdot F(r)\right) \tag{12}$$

Para cada parâmetro variacional há uma equação de Euler-Lagrange associada:

$$\frac{d}{dt}\left(\frac{\partial L}{\partial \dot{q}_k}\right) - \frac{\partial L}{\partial q_k} = 0 \qquad k = 1, \cdots, n \tag{13}$$

Usando 12 e 13 para o caso de $q = v$, temos:

$$\eta^2 \cdot (w\Delta_t - vw) = 0$$
$$\Rightarrow v = \Delta_t = \frac{d\Delta}{dt}$$

Esse resultado já era esperado, pois Δ é a separação e v é a velocidade de separação dos sólitons. Para σ_1 ou σ_2 a equação resultante é a mesma:

$$\frac{d}{dt}\left(4w\eta^2\right) = 0$$
$$\Rightarrow \eta^2 \cdot w = K = cte.$$

Obteve-se que $\eta^2 w$ é uma constante de movimento, isso se deve a conservação da energia aplicada em cada onda solitária, pois não há perdas por emissão de radiação. A intensidade total da onda é dada pela integral em toda a reta real de $|u|^2$ (para o caso da onda da esquerda), o que leva ao resultado $2\eta^2 w = cte.$, assim como foi encontrado pelo método variacional. Usando a constante de movimento denotado por K e tomando $q = \Delta$:

$$\frac{d}{dt}\left(-vw\eta^2\right) + 8\eta^4\beta w \cdot \frac{\partial}{\partial \Delta}F(r) = 0$$
$$\frac{d}{dt}\left(Kv\right) = 8\eta^4\beta F'(r) = \frac{8K^2}{w^2}\beta F'(r)$$
$$\Rightarrow \frac{dv}{dt} = \frac{8K\beta}{w^2} \cdot F'(r)$$

Para $q = w$ temos:

$$\frac{\pi^2}{3} \cdot \frac{d}{dt}\left(-bK\right) - \frac{\partial}{\partial w}\left[\frac{\pi^2}{3}(2Kb^2 + Kwb_t - Kw_t b) - Kv\Delta_t + 4K(\sigma_1 + \sigma_2)_t + \frac{8K}{3w^2} + \frac{Kv^2}{2}\right] +$$
$$+8\eta^4\left[\frac{1}{3} + \beta\frac{\partial}{\partial w}\left(wF(r)\right)\right] = 0$$
$$\hookrightarrow \frac{2K\pi^2}{3} \cdot \frac{db}{dt} - \frac{16K}{3w^3} + 8\eta^4\left[\frac{1}{3} + \beta\frac{\partial}{\partial w}\left(wF(r)\right)\right] = 0$$

A função $F(r)$ é uma função par contínua e suave, sabendo disso, pode-se trabalhar na expressão abaixo que surgiu nas equações anteriores e deduzir que:

$$\frac{\partial}{\partial w}\left(wF(r)\right) = \frac{d}{dr}\left(rF(r)\right) \tag{14}$$

Voltando para equação que envolve b_t e fazendo algumas simplificações obtém-se:

$$\Rightarrow \frac{db}{dt} = \frac{4}{\pi^2 w^2} \cdot \left[\frac{2}{w} - K - 3\beta K[r \cdot F(r)]'\right] \tag{15}$$

A última equação surge no caso em que $q = b$, que nos dá:

$$\begin{aligned}
&\frac{d}{dt}\left(Kw\right) - \frac{\partial}{\partial b}\left(2Kb^2 - Kbw_t\right) = 0 \\
&\hookrightarrow 2Kw_t = 4Kb \\
&\Rightarrow \frac{dw}{dt} = 2b
\end{aligned}$$

Note que o significado do parâmetro chirp b torna-se evidente com esta última equação, que consiste de induzir variação na espessura do perfil da onda.

Finalmente, as equações de Euler-Lagrange para o sistema podem ser reunidas como abaixo:

$$\begin{aligned}
&\rightarrow \frac{d\Delta}{dt} = v \\
&\rightarrow \frac{dw}{dt} = 2b \\
&\rightarrow \frac{dv}{dt} = \frac{8K\beta}{w^2} \cdot F'(r) \\
&\rightarrow \frac{db}{dt} = \frac{4}{\pi^2 w^2} \cdot \left[\frac{2}{w} - K - 3\beta K[r \cdot F(r)]'\right]
\end{aligned}$$

$$r = \frac{\Delta}{w}\ ,\ K = \eta^2 w = cte.$$

$$F(r) = \frac{r \cdot cosh(r) - senh(r)}{senh^3(r)}$$

Estas equações, juntamente com as condições iniciais associadas a cada parâmetro, compõem o modelo de EDO reduzido para a dinâmica de interação de sólitons vetores com acoplamento fraco, e são equivalentes as equações apresentadas por Yang em seu paper, a única diferença está na amplitude $\eta = \sqrt{2} \cdot a$, onde a é amplitude no modelo do paper.

5 Conclusão

Com os resultados das simulações computacionais notou-se que havia a necessidade de um estudo distinto sobre o mesmo problema do espalhamento, então, houve a motivação de estudar algum modelo analítico publicado na comunidade científica que se mostre interessante. O modelo de EDO reduzido apresentado durante esse relatório foi uma boa oportunidade para o estudante de iniciação científica de entender a teoria e o método por traz do desenvolvimento de modelos teóricos como esse, pois houve a necessidade de se fazer todo o processo de obtenção das equações da dinâmica. Conforme mostrado na seção de resultados, as equações batem com o que se é esperado, a partir daí poderemos melhorar o programa computacional e estender o método empregado para outras equações não lineares e não integráveis, com o objetivo de desenvolver modelos analíticos que auxiliem na investigação de existência do espalhamento fractal em sistemas onde essa característica ainda não foi confirmada.

Referências

[1] Jianke Yang. *Nonlinear Waves in integrable and non integrable systems*. SIAM, 2010.

[2] Govind P. Agrawal Yuri S. Kivshar. *Optical Solitons: from fibers to photonic crystals*. Academic Press, 2003.

[3] N.A. Lemos. *Mecânica Analítica*. LIVRARIA DA FISICA, 2007.

[4] Franz J. Vesely. *Computational Physics: An Introduction*. Kluwer / Plenum, 2001.

ASSOCIAÇÃO ENTRE QUALIDADE DO SONO, PERFIL DE HUMOR E NÍVEL DE ATIVIDADE FÍSICA EM ESTUDANTES UNIVERSITÁRIOS

Rafaela Alves Mendonça[1], Marcos Gonçalves de Santana[2], Giselle Soares Passos[3].

[1] Orientanda – Discente do Curso de Educação Física, Universidade Federal de Goiás – UFG/*Campus Jataí*. (e-mail: rafaela_sts@hotmail.com)

[2] Docente do Curso de Educação Física, Universidade Federal de Goiás -UFG/*Campus Jataí*. (e-mail: santanamg@gmail.com)

[3] Orientadora - Docente do Curso de Educação Física, Universidade Federal de Goiás - UFG/*Campus Jataí*. (e-mail: passos.gs@gmail.com)

RESUMO

Introdução: Na população geral, a irregularidade do ciclo sono-vigília pode causar problemas cognitivos e alterações no humor. A prática regular de exercícios físicos tem sido utilizada no tratamento de alguns transtornos do humor e também de distúrbios do sono. **Objetivos:** Identificar se há associação entre qualidade de sono, perfil de humor e nível de atividade física em estudantes universitários. **Metodologia:** Para avaliar a qualidade do sono, foi utilizado o questionário Índice de Qualidade de Sono de *Pittsburgh* (IQSP) e para avaliar o perfil de humor, o questionário *Profile of Mood States* (POMS). O nível de atividade física foi avaliado pelo questionário Nível de Atividade Física Habitual (NAFH). **Resultados**: Participaram do estudo 107 estudantes (idade: 22,2 ± 4 anos). A análise dos dados mostrou uma correlação positiva entre o escore do questionário IQSP e os domínios tensão-ansiedade, raiva-hostilidade, fadiga, confusão mental e distúrbio total de humor do questionário POMS. Além disso, observou-se correlação negativa entre o escore do questionário NAFH e os domínios tensão-ansiedade, confusão mental e distúrbio total de humor do questionário POMS, e correlação positiva entre o escore do questionário NAFH e o domínio vigor do POMS. **Conclusão:** Os resultados deste estudo indicam que quanto pior a qualidade do sono dos estudantes universitários, pior foi o seu perfil de humor e, quanto mais sedentário estava o estudante, pior também era seu perfil de humor. Sendo assim, podemos concluir que prática regular de exercício físico pode contribuir na prevenção dos transtornos do humor, e consequentemente, melhorar a qualidade do sono.

* Revisado pela Orientadora.

Apoio Financeiro: Edital Universal CNPq 14/2011 (processo nº 478146/2011-6); Bolsa PIBIC.

Palavras-chave: Humor, Sono, Universitários, Atividade Física.

1. INTRODUÇÃO

Na população geral, a irregularidade do ciclo sono-vigília, causada pela privação voluntária de sono, tem sido associada aos problemas cognitivos, bem como, aos prejuízos no perfil de humor. Além disso, a relação entre os distúrbios do sono e os transtornos do humor tem sido amplamente descrita na literatura conforme salientam Lucchesi e Lucchesi (2008). A insônia crônica parece ser o distúrbio do sono que está mais diretamente relacionado aos transtornos psiquiátricos. Em uma pesquisa realizada na Europa, 28% dos pacientes com insônia apresentavam diagnóstico de transtorno mental, e 25% tinham história psiquiátrica pregressa (OHAYON, 2002).

A prática regular de exercício físico tem sido recomendada para a prevenção e tratamento dos distúrbios do sono, bem como dos transtornos psiquiátricos. Diversos estudos epidemiológicos têm indicado uma associação positiva entre a prática regular de exercícios físicos e a qualidade do sono (MORGAN, 2003; YOUNGSTEDT; KLINE, 2006). Além disso alguns distúrbios do sono podem ser tratados com exercício físico, entre eles, a insônia crônica (PASSOS et al., 2011) a apnéia do sono (ACKEL-D'ELIA et al., 2011) e os movimentos periódicos de pernas (ESTEVES et al., 2009).

O efeito positivo do exercício físico no perfil de humor também tem sido descrito na literatura científica (MORGAN, 1985). Diversos estudos demonstram o efeito que o exercício físico exerce sobre os distúrbios de ansiedade e depressão, atuando na redução desses sintomas (STELLA et al., 2004).

O padrão do ciclo vigília-sono dos jovens pode ser alterado quando eles ingressam na universidade. Mudanças como deixar de residir com os pais, bem como a maior demanda de atividades extra-classe em grupos, incluindo os eventos sociais, podem resultar em alterações significativas no padrão regular de sono-vigília, resultando, em uma privação parcial de sono e, consequentemente, em uma maior sonolência diurna (MILLMAN, 2005). Além disso, jovens estudantes, privados de sono, ou que apresentam algum tipo de distúrbio do sono, podem

apresentar problemas cognitivos e desenvolver transtornos de humor, os quais podem resultar em baixo rendimento escolar, e prejuízos no convívio social.

Diante desse contexto, o objetivo do presente estudo foi investigar a associação entre a qualidade de sono, o perfil de humor e o nível de atividade física em estudantes universitários.

2. METODOLOGIA

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFG (CEP: 242/11). Todos os participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, antes da coleta de dados.

2.1 Amostra do estudo

Participaram do presente estudo 107 estudantes (58 mulheres e 49 homens), com idade média de 22,2 ± 4 anos, regularmente matriculados nos Cursos de Graduação da Universidade Federal de Goiás - UFG/*Campus* Jataí.

2.2 Instrumentos

2.2.1 Nível Habitual de Atividade Física (NAFH)

O questionário NAFH tem sido utilizado para caracterizar indivíduos sedentários e fisicamente ativos (BAECKE; BUREMA; FRIJTERS, 1982). Este instrumento (auto-aplicativo) é constituído por 21 itens, congregados em três esferas: (1) nível de atividade física no trabalho; (2) nível de prática esportiva; (3) índice de atividade de lazer. O escore total é obtido por meio da somatória das três esferas, sendo que quanto mais elevados os escores, maior o nível de atividade física. O ponto de corte considerado para estratificar indivíduos sedentários e fisicamente ativos é o escore 8 (ROSA et al. 2004).

2.2.2 Índice de Qualidade de Sono de Pittsburgh (IQSP)

O IQSP avalia a qualidade do sono nos últimos 30 dias. Este instrumento (auto-aplicativo) é constituído por 10 itens, com questões que investigam o padrão de sono e a presença de

sintomas comumente observados nos principais distúrbios do sono. Escores menores ou igual a 5 indicam boa qualidade de sono, enquanto, escores maiores que 5 indicam uma má qualidade de sono (BUYSSE et al., 1989).

2.2.3 Profile of Mood States (POMS)

O POMS é um questionário utilizado para avaliar (por meio de uma escala) o perfil de humor. Este instrumento possui 65 itens e 6 domínios: tensão-ansiedade; depressão; raiva-hostilidade; vigor; fadiga e confusão mental. O escore total (distúrbio total de humor) é derivado da diferença entre os escores da escala vigor e a soma dos escores dados pelas outras sub-escalas. Considera-se normal quando, em um gráfico, a curva se apresenta em forma de "iceberg", na qual a sub-escala vigor fica acima do percentil 50, enquanto os demais fatores ficam abaixo deste percentil (MCNAIR; LORR; DROPPELMAN, 1971).

2.3 Análise dos dados

Para a análise estatística dos dados foi utilizado o programa *STATISTICA* (versão 7.0). Para verificar a normalidade dos dados foi utilizado o teste *Kolmogorov-Smirnov*. Como a maioria das variáveis não se apresentaram normais ($p<0,05$), optou-se pelo uso do teste de correlação de *Spearman*. Esse teste de foi utilizado para verificar a associação entre as médias dos diversos domínios dos questionários IQSP, POMS e NAFH. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$.

3. RESULTADOS

3.1 Sono e Humor

O teste de correlação demonstrou correlação positiva ($p<0,05$) entre o escore final do questionário IQSP e os domínios tensão-ansiedade ($r = 0,26$), raiva-hostilidade ($r = 0,21$), fadiga ($r = 0,39$), confusão mental ($r = 0,22$) e distúrbio total de humor ($r = 0,31$) do questionário POMS (FIGURA 1.).

3.2 Humor e Nível de Atividade Física

O teste de correlação demonstrou correlação negativa ($p<0,05$) entre o escore final do questionário NAFH e os domínios tensão-ansiedade ($r = - 0,21$), confusão mental ($r = - 0,21$) e distúrbio total de humor ($r = - 0,21$) do questionário POMS. Além disso, foi observada correlação positiva ($p<0,05$) entre o escore final do questionário NAFH e o domínio vigor ($r = 0,30$) do questionário POMS (Gráfico 2).

4. DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo indicam que quanto pior a qualidade do sono dos estudantes universitários, pior foi o seu perfil de humor, no que se refere aos domínios: tensão, ansiedade, raiva, hostilidade, fadiga e confusão mental. Esses resultados sugerem que a privação voluntária de sono, bem como, a presença de distúrbios de sono, pode causar efeitos negativos no perfil de humor de estudantes universitários.

Um estudo semelhante, realizado em São Paulo, investigou jovens universitários, com aproximadamente 25 anos, durante duas semanas. Os autores observaram a recorrência de privação do sono, com tendência à sonolência excessiva diurna, tendo como consequência queda no desempenho escolar, lapsos de memória, irritabilidade, tensão, ansiedade e problemas comportamentais. Além disso, os autores concluíram que o sono destes estudantes se encontrava prejudicado. Eles ressaltaram que quanto pior foi a qualidade de sono, maior era os níveis de depressão e ansiedade dos estudantes (COELHO et al., 2010).

Outro estudo, realizado no Rio Grande do Norte, investigou estudantes universitários (do curso de medicina), com a intenção de relacionar o ciclo sono-vigília e a ansiedade. Os estudantes responderam o IQSP, os inventários de ansiedade (IDATE-ESTADO e IDATE-TRAÇO) e um questionário de matutinidade-vespertinidade (cronotipo). Os resultados mostraram que os estudantes possuíam altos índices de ansiedade. Aqueles que possuíam os maiores escores de ansiedade-TRAÇO acordavam mais cedo nos dias de semana e nos finais de semana, enquanto os que apresentavam irregularidades do ciclo sono-vigília apresentaram maiores índices no ESTADO de ansiedade (ALMONDES; ARAUJO, 2003).

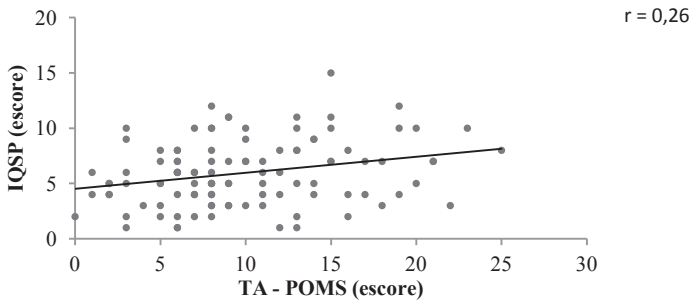
Os resultados do presente estudo também indicaram que quanto mais sedentário estava o estudante, pior era seu perfil de humor, no que se refere aos sintomas: tensão, ansiedade e confusão mental. Por outro lado, observamos que quanto maior foi o nível de atividade física, maior era o vigor dos estudantes.

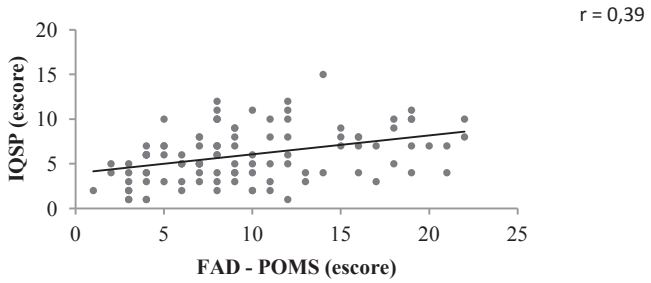
Um estudo semelhante, investigou os efeitos do nível de atividade física no humor de adolescentes. Os autores observaram que meninos possuíam um maior nível de atividade física que as meninas ($p < 0,05$), porém não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no perfil de humor entre os sexos. Além disso, nesse estudo, foi observada uma relação positiva entre o vigor e o nível de atividade física ($r = 0,48$ $p < 0,01$) dos adolescentes e uma relação negativa entre o distúrbio total de humor e o nível de atividade física, porem ambas não significativas ($p = 0,08$). Essas correlações se confirmam quando foram comparados o grupo com maior nível de atividade física ($n = 15$) e com menor nível de atividade física ($n = 15$). Além disso, observou-se um maior vigor e um menor distúrbio total de humor naqueles mais ativos comparados aos menos ativos (WERNECK; NAVARO, 2011).

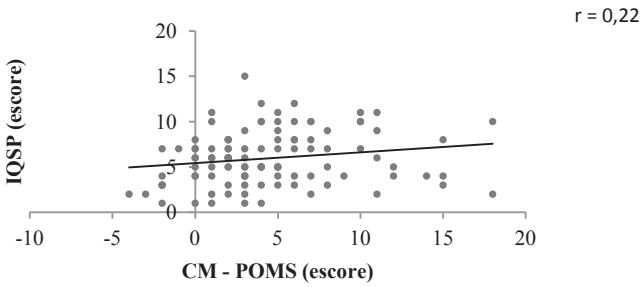
Em 2001, Toskovic (2001) investigou o efeito agudo da prática de Taekwondo no estado psicológico de estudantes universitários. Os resultados demonstraram uma diferença significativa entre o grupo que praticou Taekwondo comparado ao grupo controle, nos domínios tensão-ansiedade, depressão, raiva-hostilidade, fadiga, confusão mental, vigor e distúrbio total de humor, independente do sexo.

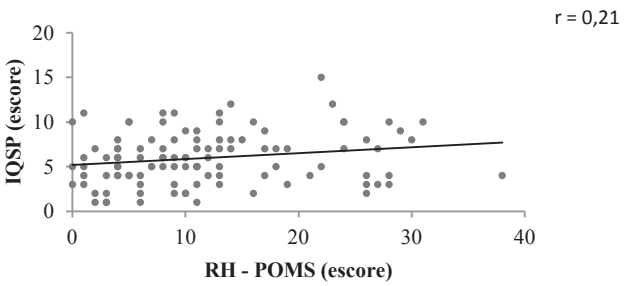
De acordo com os resultados acima descritos, um mais alto nível de atividade física está associado à um melhor perfil de humor, assim como, a prática do exercício físico, pode resultar em efeitos positivos (melhora) no humor, no dia em que o exercício físico é praticado.

Um estudo de revisão bibliográfica, publicado em 2006, ressalta que o exercício aeróbio é o tipo de exercício físico que tem sido mais diretamente associado às melhoras no humor. Quanto à intensidade, os autores relatam que somente os treinos de alta intensidade parecem não gerar efeitos positivos no humor. Os autores concluem que ainda não foi possível estabelecer o volume adequado de exercício físico para melhorar o humor, no entanto, deve ser respeitada a individualidade e o ambiente de prática deve ser agradável (WERNECK; BARA FILHO; RIBEIRO, 2006).









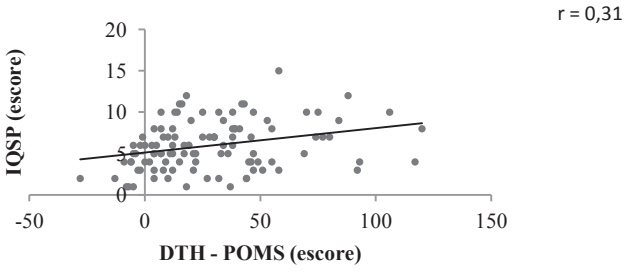


Figura 1. Associação entre a média do escore do questionário IQSP (Índice de Qualidade de Sono de Pittsburgh) e as médias dos domínios tensão-ansiedade (TA), confusão mental (CM), fadiga (FAD), raiva-hostilidade (RH) e distúrbio total de humor (DTH) do POMS. Teste de correlação de *Spearman*, $p<0,05$.

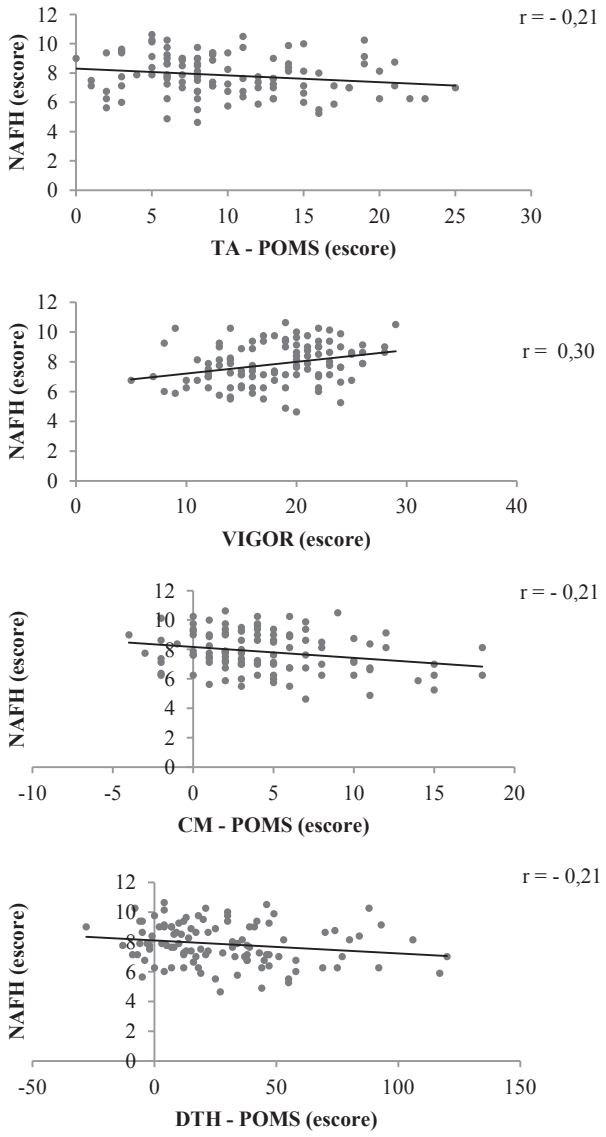


Figura 2. Associação entre a média do escore do questionário NAFH (Nível de Atividade Física Habitual) e as médias dos domínios tensão-ansiedade (TA), confusão mental (CM), vigor (VIGOR) e distúrbio total de humor (DTH) do questionário POMS. Teste de correlação de *Spearman*, p<0,05.

5. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A associação entre má qualidade do sono e prejuízos no humor está clara, embora não existam informações objetivos quanto a relação causa-efeito, ou seja, não se sabe se um sono de má qualidade é que causa problemas no humor ou se são os transtornos no humor que resultam

em prejuízos no sono. A partir dos resultados do presente estudo, podemos concluir que a prática regular de exercício físico pode contribuir na prevenção dos transtornos do humor em estudantes universitários, e este efeito, poderia contribuir para uma melhora na qualidade do sono dos mesmos.

6. REFERÊNCIAS

ACKEL-D'ELIA, C. et al. Effects of exercise training associated with continuous positive airway pressure treatment in patients with obstructive sleep apnea syndrome. **Sleep Breath**, v. 16, n.3, p. 723-35, 2011.

ALMONDES, K. M.; ARAÚJO, J.F. Padrão do ciclo sono-vigília e sua relação com a ansiedade em estudantes universitários**. Estudos de Psicologia**, Rio Grande do Norte: UFRN, v.8, p.37-43, 2003.

BAECKE, J. A. H.; BUREMA, J.; FRIJTERS J. E. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.36, n. 5, p. 936-942, 1982.

BUYSSE, D. J. et al. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. **Psychiatry Research**, v.28**,** n.2, p. 193-213, mayo. 1989.

COELHO, A. T. et. al. Qualidade de sono, depressão e ansiedade em universitários dos últimos semestres de cursos da área da saúde. **Neurobiologia**, v.73, n.1, p. 35-39, 2010.

ESTEVES, A. M. et al. Effect of acute and chronic physical exercise on patients with periodic leg movements. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.41, n.1, p. 237-42, 2009.

LUCCHESI, L. M.; LUCCHESI, M. Sono em Transtornos Psiquiátricos. In: **Medicina e Biologia do Sono**. Barueri: Manole, 2008. p.389-397. cap 33.

MCNAIR D. M.; LORR. M.; DROPPELMAN L. F. **Manual for the Profile of Mood States**, CA: Education and Industrial Testing Service. San Diego, 1971.

MILLMAN, R. P. Excessive sleepiness in adolescents and young adults: causes, consequences, and treatment strategies. **American Academy of Pediatrics**, v. 115, n. 6, p. 1774-86, 2005.

MORGAN, K. Daytime activity and risk factors for late-life insomnia. **Journal of Sleep Research**, v.12, n.3, p. 231-238, 2003.

MORGAN, W. P. Affective beneficence of vigorous physical activity. **Medicine and Science in Sports and Exercise,** v.17, n.1, p. 94-100, 1985.

OHAYON, M. M. Epidemiology of insomnia: what we know and what we still need to learn. **Sleep Medicine Review**, v. 6, n. 2, p. 97-111, 2002.

PASSOS, G.S. et al. The effects of moderate aerobic exercise training on chronic primary insomnia. **Sleep Medicine**, v .12, n.10, p.1018-27, 2011.

ROSA, D. A. et al. Mood changes after maximal exercise testing in subjects with symptoms of exercise dependence. **Percept Motor Skills**. v. 99, n. 1, p. 341-53.

STELLA, S. et al. Transtornos do Humor e Exercício Físico. In: MELLO, M. T.; TUFIK, S. **Atividade física, exercício físico e aspectos psicológicos.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p. 52, cap. 5.

TOSKOVIC N. N. Alterations in selected measures of mood with a single bout of dynamic Taekwondo exercise in college-age students. **Percept Motor Skills**, v. n. 92, p. 31-8, 2001.

TUFIK, S. (editor). **Medicina e Biologia do Sono**. Barueri, São Paulo: Manole, 2008.

WERNECK, F. Z.; NAVARRO, C. A. Nível de atividade física e estado de humor em adolescentes. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**, v.27, n. 2, p.189-193, 2011.

WERNECK, F. Z.; BARA FILHO, M.G.; RIBEIRO, L. C.S. Efeito do exercício físico sobre os estados de humor: uma revisão. **Revista Brasileira de Psicologia do Esporte e do Exercício,** p.22-54, 2006.

YOUNGSTED, S. D.; KLINE, C. E. Epidemiology of exercise and sleep. **Sleep and Biological Rhythms**, v.4, p. 215-221, 2006.

RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM CAMUNDONGOS BALB/C INFECTADOS INTRACRANIALMENTE COM CISTICERCOS DE *Taenia crassiceps*

Rubia Cardoso de Oliveira [1, 2], Hidelberto Matos Silva[2], Vânia Beatriz Lopes Moura[2], Ruy de Souza Lino Junior[2,3].

1. Orientanda. E-mail: rubiak_oliveira@hotmail.com

2. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, UFG

3. Orientador. E-mail: ruylino@yahoo.com.br

REVISADO PELO ORIENTADOR

RESUMO

A Neurocisticercose (NCC) é uma doença amplamente distribuída no mundo causada pelo estádio larval da *Taenia solium*, sendo considerada uma das mais importantes infecções do sistema nervoso central. Poucos são os estudos com modelos experimentais de NCC, o mais estudado utiliza camundongos BALB/c fêmeas inoculadas com *Mesocestoides corti*. Objetivou-se no presente trabalho analisar a resposta inflamatória desencadeada pelo modelo experimental de NCC utilizando cisticercos de *Taenia crassiceps*. Utilizou-se camundongos BALB/c inoculados intracranialmente com cisticercos e eutanasiados aos 7, 30, 60 e 90 dias após a infecção (DAI). Todos os animais, apresentaram os cisticercos nos ventriculos laterais do encéfalo, ocorrendo alterações macro e microscópicas mesmo que discretas desde os 7 dias de infeção. Observou-se que nos estágios iniciais os cisticercos apresentaram discreto processo inflamatório ao seu redor, acentuando aos 90 dias, quando estavam em estagio final; o que demonstra uma perda de sua capacidade imunomoduladora, com a dissolução do granuloma Foi possível desenvolver a neurocisticerco experimental em camundongos e que os processos patológicos observados são semelhantes aos encontrados em seres humanos.

Palavras-chave: Neurocisticercose. Experimental. Cisticercose. Patologia

1. Introdução

A neurocisticercose é uma doença causada pelo estágio larval da *Taenia solium*, chamado *Cysticercus cellulosae,* sendo considerada uma das mais importantes infecções do sistema nervoso central. Estima-se que mais de 50 milhões de pessoas estejam infectadas, sendo a maioria dos casos na África, sendo 50 mil mortes; sua prevalência é maior em países em desenvolvimento como África, Ásia e as Américas, mas a incidência tem aumentado nos países desenvolvidos devido a alta imigração de indivíduos infectados (GARCIA et al. 2003; PRASAD et al. 2008; FLISSER 1991).

Bovinos e suínos são hospedeiros intermediários enquanto o homem e o hospedeiro definitivo, eles contaminam-se através da ingestão de ovos do parasita, enzimas gástricas entao digerem o embrióforo liberando o embrião haxacanto, esses sofrem disseminação linfohematogênica se alojando em vaarios locais, sendo o músculo cardíaco e o sistema nervoso central os locais mais comuns (LINO-JR et al., 2002).

O diagnóstico dessa doença e difícil uma vez que pode ser assintomática, sendo que quando ocorrem sintomas, eles sao muito diversificados e inespecíficos, como: cefaléia, hipertensão intracranial, eplepsia, demência e depressão. Isso, pois depende muito da interação parasito-hospedeiro, resposta inflamatória ao seu redor e distância, ocasionando um grande polimorfismo clínico e laboratorial (AGAPEJEVet al. 2003 e 2007).

É predominante em pessoas entre 21 e 40 anos, pouco frequênte em criancas, ocorre mais no sexo masculino porém, as formas mais graves geralmente acometem as mulheres. Há uma alta prevalência em estados brasileiros como Paraná, São Paulo, Minas Gerais e Goiás (AGAPEJEV 2003).

Inicialmente ocorre uma resposta inflamatória do tipo 1, ou seja, uma resposta celular que e importante para a eliminação de parasitas intracelulares. Nessa fase ocorre alta produção de TNN gama, annticorpos IGg2a anticorpo-específico, e anticorpos com atividade pró-inflamatória devido a alta produção de IL12 e óxido nítrico (NO), isso abaixa a carga parasitária (MAIZELS et al. 2003).

Porém, o parasita tem a capacidade de modular a resposta imune, entao ele induz o mais rápido possível a mudança para uma resposta inflamatória do tipo 2. Essa, e do tipo humoral, combate parasitas extra-celulares, ou seja, favorece a sobrevivência do parasita, piorando a situacao do hospedeiro. Nessa fase, ha uma diminuição de IFN gama, Igg2a e macrófagos pró-inflamatórios, e aumento de Igg1, IGE, IL4, IL13 e IL5 (TERRAZASet al. 2008).

2. Objetivos

Descrever os processos patológicos gerais no encéfalo de camundongos da linhagem BALB/c inoculados com cisticercos de *Taenia crassiceps.*

3. Metodologia

*Manutenção do ciclo.*O ciclo biológico da*T. crassiceps* (cepa ORF) vem sendo mantido no biotério doInstituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP/UFG), a partir de camundongosBALB/c fêmeas infectadas com cisticercos desde 2002. Após 90 dias de infecção, os camundongos são eutanasiados e necropsiados para retirada de cisticercos em estádio inicial (Vinaudet al. 2008) e posteriormente inoculados na cavidade peritoneal de camundongos BALB/c fêmeas não infectadas (VAZ et al. 1997).

*Animais.*Utilizou-se camundongos fêmeas BALB/c convencionais. Para o delineamento do experimento, utilizaram-se camundongos fêmeas de 8 a 12 semanas de idade, com o peso de 20 a 30 gramas. Os camundongos foram inoculados intracranialmente e distribuídos em dois grupos contendo cinco camundongos cada, sendo eles: Grupo 1 – 20 camundongos BALBc convencionais infectados com cisticercos de *T. crassiceps;* Grupo 2 – 20 camundongos BALBc convencionais inoculados com solução salina. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética na Experimentação em Animais (CEEA/CEP-UFG), protocolo número 034/09.

Infecção experimental. Para a realização da inoculação, os animais foram pesados e anestesiados intraperitonealmente com uma solução anestésica de Cetamina 100mg/ml e Xilazina 20mg/ml na proporção de 0,1ml/10g (CETEA-UFMG 2008, ALVAREZ et al., 2008). Após tricotomia da porção superior da cabeça seguida por antissepsia com iodo tópico, uma incisão longitudinal e mediana na pele do crânio foi feita com lâmina de bisturi. O orifício de trepanação foi realizado com uma broca (44,5mmX2mm) movida por micromotor (LB100 – Beltec) (MICHAILOWSKY et al., 2003) na topografia do osso parietal direito a 3mm da linha média (sutura sagital) e 3mm posterior à sutura coronal a 4mm de profundidade. Os animais infectados foram inoculados intracranialmente com 3 a 5 cisticercos em estádio inicial (VINAUD et al., 2008) em seguida, o orifício de trepanação foi fechado com massa plástica estéril e a incisão suturada.

Retirada dos encéfalos para análise. Aos 7, 30, 60 e 90 dias após a inoculação (DAI) os animais foram anestesiados intraperitonealmente com 0,1ml/10g da solução de Xilazina a 2% e Cetamina a 10%. Posteriormente os animais foram submetidos à eutanásia por deslocamento cervical, para a coleta do encéfalo para posterior análise.

Análise Histopatológica. A análise histopatológica foi realizada com fragmentos de encéfalos fixados em formoldeído a 10% tamponado, desidratados em álcoois, diafanizados em xilol, incluídos em parafina e confeccionados blocos. Em seguida foram confeccionados em microtomia, cortes de 5 µm de espessura. Os fragmentos foram capturados em lâminas de vidro e posteriormente, corados pela técnica de hematoxilina-eosina (HE) ou outras técnicas histoquímicas quando necessário, tais como; picro-sírius, para a identificação de fibrose; ácido periódico de schiff (PAS), para depósito de radicais glicídicos; von Kossa, para depósito de sais de cálcio e Vermelho Congo para beta-fibrilose (MATOS SILVA et al., 2012).

Quantificação de cisticercos e classificação em etapas de desenvolvimento. Por meio da microscopia descreveu-se a localização anatômica dos cisticercos e classificou-se de acordo com a fase de desenvolvimento em inicial, larval e final de acordo com Vinaud et al (2008).

*Análise dos Processos Patológicos Gerais.*Os processos patológicos gerais foram analisados no parasito, na interface hospedeiro-parasito e no tecido do hospedeiro observando: 1) alterações da célula; 2) alterações do interstício; 3) alterações locais da circulação sangüínea; 4) pigmentações patológicas; 5) calcificação patológica; 6) edema; 7) inflamação; e 8) distúrbios no crescimento e diferenciação celular. Os processos patológicos descritos foram classificados de forma semi-quantitativa, seguindo os seguintes critérios: ausente, discreta com comprometimento de até 25% da área, moderada de 26 a 50% e acentuada acima de 50% de comprometimento (LINO-JR et al., 2002).

*Análise Estatística.*A análise estatística foi realizada por meio do programa Sigma Stat 2.3. Todas as variáveis foram testadas quanto à distribuição normal e variância homogênea. Por apresentarem distribuição não normal, as variáveis foram analisadas pelo teste não paramétrico de Manh-Witney. As diferenças observadas foram consideradas significantes quando $p<0,05$.

4. Resultados

Macroscopia, estágio de desenvolvimento e localização dos cisticercos

Todos os parasitos apresentaram-se em estágio larval, nos ventrículos laterais do encéfalo (figura 1A), os níveis de deposito de glicogênio apresentaram-se discretos (Tabela 1), não houve calcificação, e a presença de fibrose foi discreta encontrada apenas aos 90 DAÍ. A partir dos 7 DAÍ (figura 1B), constatou-se discreta hiperemia que evoluiu para moderada aos 60DAI (figura 1D), diminuição da consistência do encéfalo na presença dos cisticercos, na maioria dos casos, associados a ventriculomegalia hipotrofia do parênquima cerebral adjacente e/ou desvio das estruturas da linha media. Dos animais infectados, 60% apresentaram cisticercos no encéfalo e o acometimento dos camundongos foi de 20% (tabela 1).

Observaram-se cisticercos em estagio final, o que significa que eles foram destruídos somente aos 90 DAÍ (tabela 3, figura 1E) . Nesse período foram observadas acentuada perivasculite, acompanhadas de discretas áreas de fibrose na região subependimária, em todos os cisticercos em estágio final de desenvolvimento, e à

medida que esses foram sendo destruídos observou-se uma diminuição gradativa dos depósitos de glicogênio no interior dos cisticercos.

Reações na interface hospedeiro-parasito e no tecido do hospedeiro

Aos 7 DAI, observou-se alterações discretas como: microgliose, edema, hiperemia, ependimite e ventriculomegalia (Tabela 2 e 3); já aos 30 DAÍ, observou-se um maior infiltrado inflamatório na interface parasito-hospedeiro e gliose (Figura 1C e tabela 2). Aos 60 DAI apresentaram ventriculomegalia e meningite discretas, e infiltrado inflamatório que evoluiu para moderado; tanto na interface parasito-hospedeiro, quanto no tecido do hospedeiro (tabelas 2 e 3 e figura 2 e 3).

Aos 90 DAÍ foi mantida a intensidade do infiltrado inflamatório mononuclear e acentuou o polimorfonuclear, na interface parasito-hospedeiro e na ependimite. Em todos os animais controle, foram observadas uma discreta hiperemia e edema na fase inicial da infecção (tabela 3 e figura 1E).

5. Discussão

Nesse trabalho foi avaliado os processos patológicos gerais presentes na neurocisticercose experimental com *Taenia crassiceps*, através da analise anatomopatológica das lesões em camundongos BALBc. Todos os animais, apresentaram os cisticercos nos ventriculos laterais do encéfalo, ocorrendo alterações macro e microscópicas mesmo que discretas desde os 7 dias de infeção. Observou-se que nos estágios iniciais os cisticercos apresentaram discreto processo inflamatório ao seu redor, acentuando aos 90 dias, quando estavam em estagio final; o que demonstra uma perda de sua capacidade imunomoduladora, com a dissolução do granuloma (LINO-JR et al., 2002).

Na NCC, primeiramente ocorre uma resposta imunológica do tipo 1 (ROBINSON et el., 1997), caracterizada pela presença de IL2, IL12,IL15, e IFNγ que estimula macrófagos pró-inflamatórios uma vez que o sistema imune inato reconhece os PAMPs (padrões moleculares associados a patógenos), desencadeia alta produção de espécies reativas de oxigênio como NO (oxido nítrico). Nessa fase ocorre aumento dos níveis de anti-corpos IGg2 especificos, camundongos knockout de STAT6 tem prevalência de resposta Th1 uma vez que precisa desse transdutor de sinal para produzir as citocinas da resposta Th2 (TERRAZAS, 2008). Ao contrário, o knockout de STAT4

diminui resposta Th1, causando alta carga parasitária, indicando que essa e essêncial para a destruição do parasita (ALVAREZ et al., 2010).

De acordo com o desenvolvimento das lesões, o parasito pode realizar uma imunomodulação através de glicoproteínas na superfície do tegumento (ALVAREZ et AL, 2010), ocorre através de mecanismos como a *Taenia crassiceps* que produzem moléculas que inibem prostaglandinas (ROBINSON et al., 1997), outras espécies inibem a ativação do sistema complemento, da proliferação de linfócitos, bloqueiam produção de citocinas, dentre outros. A *Mesocestoides corti* inibe proteína TLR2 – exclusiva para tecido nervoso-, que ativa a via das quinases induzindo resposta Th1 regulando células T reguladoras e Th2 , e a *Taenia solium* que produz proteases que degradam células imunitárias (ALVAREZ et al 2010).

Com isso ocorre um efluxo dos mediadores tipo 1, predominando resposta tipo 2 (humoral) que não ataca o parasita. Segundo Chavarria et al (2003) pacientes assintomáticos apresentavam no sobrenadante de células coletadas e estimuladas *in vitro*, IL4. IL5, IL3, IL10, IGg1e IgE; caracterizando resposta tipo 2 que aumenta a resistência do parasita, pois comabte parasitas extra-celulares, aumentando sua carga no hospedeiro (ROBINSON et al., 1997).Não ocorreu calcificacao que foi vista em necrópsias no caso da NCC humana, neim necrose vista nas fases de maior resposta do hospedeiro ao parasita (LINO-JR et al., 2002).

6. Conclusão

Conclui-se que foi possível desenvolver a Neurocisticerco experimental em camundongos e que os processos patológicos observados são semelhantes aos encontrados em seres humanos.

7. Referências

1. AGAPEJEV, S. Aspectos clínico-epidemiológicos da neurocisticercose no Brasil: análise crítica. *Arq Neuropsiquiatr,* v.61, p. 822-828, 2003.
2. ALVAREZ, J.I.; TEALE, J.M.; Breakdown of the blood brain barrier and blood cerebrospinal fluid barrier is associated with differential leukocyte migration in distinct compartments of the CNS during the course of murine NCC. *J Neuroimmunol,* v.173, p.45–55, 2006.

3. ALVAREZ, J.I., MISHRA, B.B.; GUNDRA, U.M.; MISHRA, P.K.; TEALE, J.M. *Mesocestoides corti* intracranial infection as a murine model for neurocisticercosis. *Parasitology*, v.137, p.359-372, 2010.
4. CARDONA, A.E.; RESTREPO, B.I.; JARAMILLO, J.M.; TEALE, J.M. Development of an animal model for neurocysticercosis: immune response in the central nervous system is characterized by a predominance of gamma delta T cells. *J. Immunol*, v.162, p.995-1002, 1999.
5. CARDONA, A.E.; TEALE, J.M. Gamma/delta T cell-deficient mice exhibit reduced disease severity and decreased inflammatory response in the brain in murine neurocysticercosis. *J. Immunol,* v.169, p.3163-3171, 2002.
6. CARDONA, A.E.; GONZALEZ, P.A.; TEALE, J.M. Chemokines mediate leukocyte trafficking into the central nervous system during murine neurocysticercosis: role of gamma delta T cells in amplification of the host immune response. *Infect. Immun,* v.71, p.2634-2642, 2003.
7. CETEA-UFMG *Protocolos Anestésicos*. Disponível em <http://www.ufmg.br/bioetica/cetea> Acesso em: 07/06/2013.
8. CHAVARRIA, A.; ROGER, B.; FRAGOSO G. TH2 profile in asymptomatic *Taenia solium* human neurocysticercosis. *Microbes and Infection,* v.5, p.1109–1115, 2003.
9. FLISSER, A. *Taeniasis-cysticercosis*: an introduction. *South Asian J Trop Med and Public Health,* v.22, p.233-235, 1991.
10. GARCIA, H.H; GONZALEZ, A.E.; GILMAN, R.H. Cysticercosis Working Group in Peru.Circulating parasite antigen in patients with hydrocephalus secondary to neurocysticercosis. *Am J Trop Med Hyg,* v.66, p.427-430, 2002.
11. GARCIA, H.H.; GONZALEZ, A.E.; EVANS, C.A. *Taenia solium* cysticercosis. *Lancet,* v.362, p.547–556, 2003.
12. LINO JUNIOR, R. S., RIBEIRO, P. M., ANTONELLI, E. J., FALEIROS A. C., TERRA, S. A., REIS, M. A. E TEIXEIRA, V. P. A. Características evolutivas do Cysticercus cellulosae no encéfalo e no coração. *Rev Soc Bras Med Trop,* v.35, p.617-622, 2002.
13. MAIZELS, R.M.; YAZDANBAKHSH, M. Immune regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms. *Nat. Rev. Immunol,* v.3, p.733-744, 2003.

14. MICHAILOWSKY, C. Experimental tumors of the central nervous system: standardisation of a model in rats using the 9L glioma cells. *Arq.Neuro-Psiquiatr,* v.61, n.2A, 2003.
15. MMWR. *Morbidity And Mortality Weekly Report*, v.41, n.37, p.691-699, 1992.
16. PRASAD, K. N.; PRASAD, A.; GUPTA, R. K.; NATH, K.; PRADHAN, S.; TRIPATHI, M.; PANDEY, C. M. Neurocysticercosis in Patients with Active Epilepsy From a Pig Farming Community; *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg*, v.103, n.2, p.144-150, 2008.
17. ROBINSON, P.; ATMAR, R.L.; LEVIS, D.C.; WHITE JR.; A.C. Granuloma Cytokines in Murine Cysticersosis. *Infection and Immunity*, v.65, n.7, p.2925-2931, 1997.
18. TERRAZAS, L.I.; BOJALIL, R.; GOVEZENSKY, T.; LARRALDE, C. Shift from an early protective Th1-type immune response to a late permissive Th2-type response in murine cysticercosis (*Taenia crassiceps*). *J. Parasitol,* v.8, p.74-81, 1998.
19. TERRAZAS, I.L. The Complex role of pro- and Anti-inflammatory cytokines in cysticercosis: Immunological Lessons from Experimental and Natural Hosts *Curr Top Med Chem,* v. 8, p.383-392, 2008.
20. VAZ, A. J.; NUNES, R. M.; PIAZZA, J. A.; LIVRAMENTO, M. V.; DA SILVA, P. M.; NAKAMURA, E A. W.. Immunoblot with cerebrospinal fluid from patients with neurocysticercosis using antigen from cysticerci of *Taenia solium* and *Taenia crassiceps*. *Am J Trop Med Hyg,* v.57, n.3, p.354-7, 1997.
21. VINAUD, M.C.; FERREIRA, C.S.; LINO JR., R.S.; BEZERRA, J.C.B. *Taenia cracisseps*: Energetic and respiratory metabolism from cysticerci exposed to praziquantel and albendazole in vitro. *Exp Parasitol,* v.120, p.221-226, 2008.
22. WHO. http://www.who.int/zoonoses/neglected_zoonotic_diseases/en/ acessado em 20/05/2010.

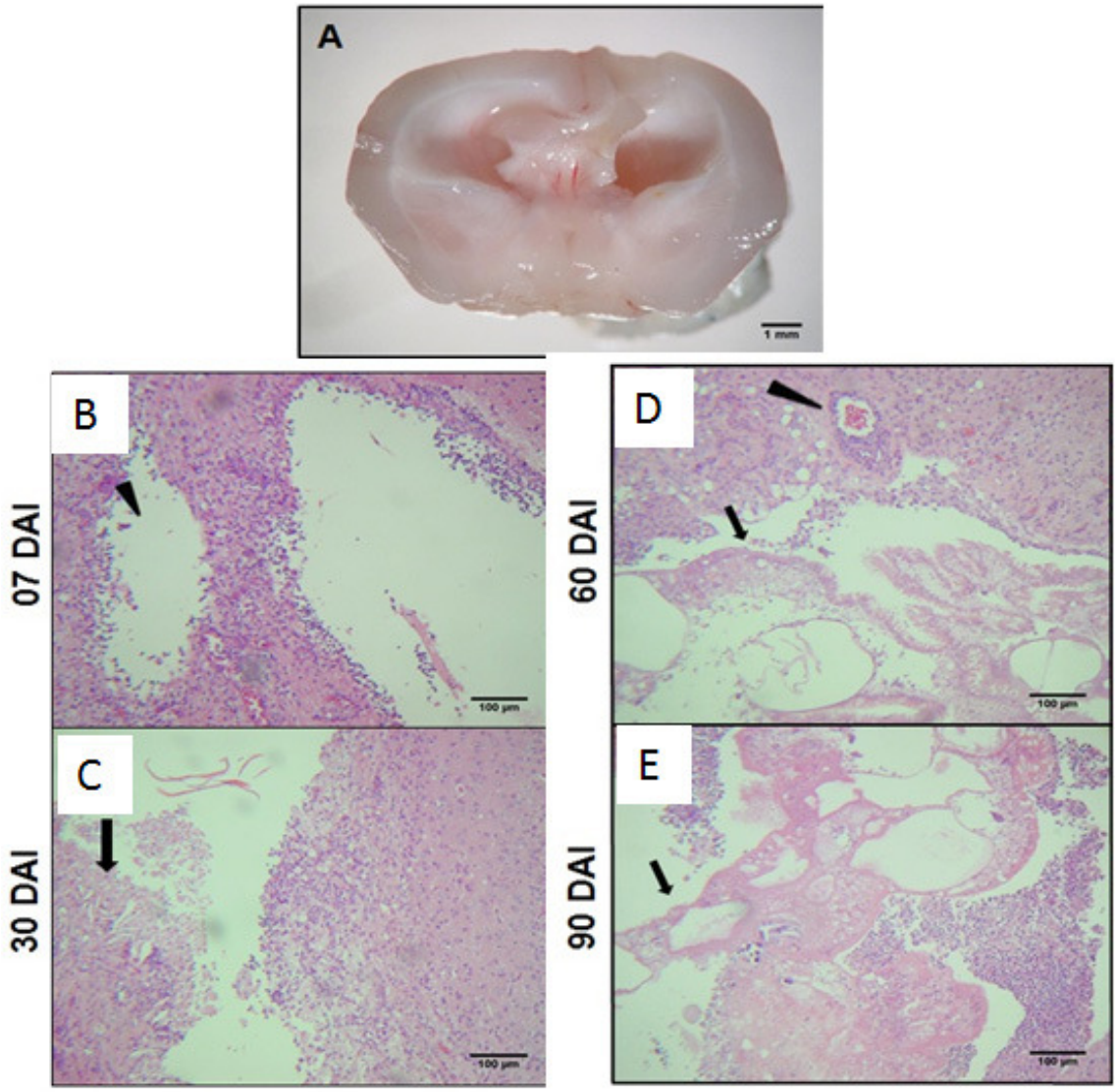


Figura 1: (A) Mesoscopia de encéfalos de BALB/c convencional mostrando ventriculomegalia e desvio da linha media. Em (B) Fotomicrografia do encéfalo de camundongos BALB/c convencionais. Aos 7 DAI, observou-se lesões nas paredes do ventrículo (seta). (C) Aos 30 DAI, os animais apresentavam lesões mais acentuadas com presença de cristais de colesterol na região ependimária (seta); Em (D)aos 60 DAI, observou-se cisticerco em estádio larval de desenvolvimento (seta) com infiltrado inflamatório perivascular (cabeça de seta) próximo ao parasito e em (E) aos 90 DAI, apresentavam cisticerco em estádio final (seta) , sendo constatada a presença de cisticerco em estádio final (cabeça de seta) (HE, barra = 100mm).

Tabela 1: Processos patológicos encontrados nos parasitos em camundongos BALB/c convencionais submetidos à infecção experimental por cisticercos de *Taenia crassiceps*.

	07 DAI	30 DAI	60 DAI	90DAI
Classificação do cisticerco	-	-	LAR	FIN
Localização no encéfalo	VL	VL	VL	VL
Infiltrado Inflamatório (MN, PMN)	-	-	++	++
Calcificação	-	-	-	-
Fibrose	-	-	-	+
Depósito de glicogênio	-	-	++	+

Legenda: DAI (Dias de infecção), MN (Mononuclear), PMN (Polimorfonuclear), - ausente, + discreto, ++moderado, +++ acentuado, VL (Ventrículo lateral), 3ºV (terceiro ventrículo), LAR(Larval), FIN (Final), n=5 por dia experimental.

Tabela 2: Processos patológicos encontrados na interface parasito/hospedeiro em camundongos BALB/c submetidos à infecção experimental por cisticercos de *Taenia crassiceps*.

	07 DAI	30 DAI	60 DAI	90DAI
Ventriculomegalia	+	+	++	+++
Hiperemia	+	+	++	+
Infiltrado Inflamatório - MN	+	+	++	++
Infiltrado Inflamatório - PMN	+	++	++	+++
Perivasculite	+	++	++	+++

Legenda: DAI (Dias de infecção), MN (Mononuclear), PMN (Polimorfonuclear, - ausente, + discreto, ++moderado, +++ acentuado, n=5 por dia experimental.

Tabela 3: Processos patológicos encontrados no tecido do hospedeiro em camundongos BALB/c submetidos à infecção experimental por cisticercos de *Taenia crassiceps*.

	07 DAI	30 DAI	60 DAI	90DAI
Calcificação	-	-	-	-
Fibrose	-	-	-	+
Depósito de glicogênio	-	-	-	-
Microgliose	+	+	+	+
Meningite	+	+	++	++
Gliose	+	++	+	+
Edema	+	++	+	+
Hiperemia	+	+	+	+
Ependimite	+	+	+	++
Perivasculite	+	++	++	+++
Infiltrado inflamatório – MN	+	+	++	++
Infiltrado inflamatório – PMN	+	++	++	+++

Legenda: DAI (Dias de infecção), MN (Mononuclear), PMN (Polimorfonuclear, - ausente, + discreto, ++moderado, +++ acentuado, n=5 por dia experimental.

Efeito da cisteína sobre espermatozóides ovinos mantidos em temperatura ambiente ou refrigerados a 15 ºC

Raissa de Almeida e Silva[1]; Tayrone Freitas Prado[2], Eduardo Mazon Corandin[2], Maria Lúcia Gambarini[3], Benedito Dias de Oliveira Filho[3*]

[1]PIBIC; [2] veterinários autônomos, [3] Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, *Orientador; oliveirafilho@pq.cnpq.br

Resumo: Esse trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito da adição de cisteína sobre a qualidade espermática de ovinos, quando armazenados em temperatura ambiente (fresco) ou refrigerado (15 ºC). Foram utilizados seis carneiros adultos, sendo quatro da raça Dorper e dois da raça White Dorper, com idades entre dois e cinco anos. As colheitas eram realizadas duas vezes por semana, em dias fixos, em um total de cinco semanas, perfazendo dez colheitas de cada animal. Foram avaliados os seguintes grupos: Controle: sem adição de antioxidante; CYS2,5: adição de 2,5 mM de cisteína; CYS5,0: adição de 5,0 mM de cisteína e CYS7,5: adição de 7,5 mM de cisteína. Todos os grupos foram analisados a fresco por duas horas, e sobre refrigeração a 15°C por quatro ou oito horas. A adição de cisteína ao sêmen ovino resultou em melhoria da qualidade espermática, seja fresco ou armazenado a temperatura de 15 °C. A adição de 7,5mM promoveu melhores resultados de motilidade quando adicionada ao sêmen fresco diluído com PBS e armazenado por duas horas em temperatura ambiente. Quando o sêmen foi resfriado e armazenado seja por quatro ou oito horas a adição de 5,0 e 7,5mM promoveu os melhores resultados.

Palavras-chave: antioxidantes, qualidade espermática, sêmen ovino

INTRODUÇÃO

A ovinocultura tem ganhado cada vez mais destaque no cenário nacional e, sobretudo na região centro-oeste brasileira. O Brasil apresenta segundo dados do IBGE um rebanho de aproximadamente 17 milhões de ovinos ocupando o 13° lugar no ranking mundial. O rebanho nacional se concentra principalmente na região nordeste do país que detém 55,4% do rebanho nacional enquanto que a região centro-oeste, apesar de todo o potencial produtivo contempla 7,3% dos ovinos no país, porem tem apresentado crescimento médio de 4% ao ano (IBGE, 2011).

A produção nacional sempre foi caracterizada pelo regime de criação extensivo com baixos índices de produtividade e como conseqüente houve desestimulo a produção de ovinos graças a baixa rentabilidade, porém com a implantação de novas tecnologias que visam aumento da rentabilidade, como o melhoramento genético dos animais e biotécnicas reprodutivas tem produzido animais de melhores características e também com melhores índices produtivos.

Uma das principais formas de se melhorar a produtividade desta exploração e incrementar a eficiência reprodutiva. Dentre as técnicas reprodutivas mais utilizadas destaca-se a inseminação artificial utilizando o sêmen fresco ou mesmo resfriado uma vez que o uso do sêmen congelado tem apresentado resultados insatisfatórios devido a características inerentes a espécie como, por exemplo, dificuldade em transpor a cérvix da ovelha em função da própria anatomia do animal, o que acaba resultando em maiores custos devido a necessidade do uso de laparoscopia para a deposição do sêmen dentro do útero tornando assim a técnica muitas vezes impraticável. Já quando se faz o uso de sêmen fresco ou resfriado a deposição do sêmen pode ser feita na entrada da cérvix o que simplifica a técnica e viabiliza sua utilização.

Parte importante do sucesso da técnica de inseminação artificial utilizando sêmen resfriado é a preservação deste. O resfriamento do sêmen reduz à atividade metabólica do espermatozóide diminuindo o crescimento microbiano e conseqüentemente mantém a viabilidade do sêmen diluído por maior tempo. Porém os espermatozóides são altamente susceptíveis ao estresse oxidativo e naturalmente há a produção de espécies reativas ao oxigênio (ROS) que levam a peroxidação dos lipídeos das membranas celulares o que resulta em redução na motilidade ou então morte celular espermática. O uso de antioxidantes é preconizado visando neutralizar esses radicais

livres e a cisteína tem sido utilizada visando equilibrar o balanço entre a produção de ROS e a quantidade de antioxidantes no sêmen.

Diante o exposto, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de cisteína sobre a viabilidade de espermatozóides ovinos mantidos em temperatura ambiente por duas horas ou refrigerados a 15 ºC por 8 horas.

Sêmen ovino

O sêmen é constituído pelo plasma seminal e pelos espermatozóides. O plasma seminal é um fluido isotônico e neutro, rico em numerosas substâncias entre elas destacam-se carboidratos, proteínas e minerais que dentre outras funções servem para proteger e nutrir o espermatozóide. Os espermatozóides são provenientes dos túbulos seminíferos localizados no interior dos testículos, os quais contêm uma série de células germinativas em desenvolvimento que dão origem a essas células gaméticas, através de uma seqüência de eventos denominada espermatogênese (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

Uma característica importante do espermatozóide é que a membrana plasmática destas células. Esta estrutura exerce papel fundamental na sobrevivência do espermatozóide no trato reprodutivo feminino e na manutenção da sua capacidade fertilizante (CELEGHINI, 2007).

O sêmen de ovinos possui um volume de ejaculado relativamente pequeno, variando de 0,5 a 2,0 mL e alta concentração espermática entre dois e cinco bilhões de espermatozóides por mL, sendo comum encontrar motilidade de 90% (MAIA et al., 2011).

Espécies reativas ao oxigênio (ROS)

Espécies reativas ao oxigênio (ROS) são termos usados para identificar os intermediários químicos reativos do metabolismo do oxigênio. Estes são encontrados em todos os sistemas biológicos e os principais formados na manipulação do sêmen são o radical superóxido (O^{2}-), o radical hidroxila (OH-) e o peróxido de hidrogênio ($H^{2}O^{2}$).

Em pequenas quantidades as ROS são necessárias para o funcionamento normal da célula e por isso são naturalmente produzidas, o radical superóxido e o peróxido de hidrogênio quando em baixas concentrações atuam nos eventos que culminam com a fertilização em varias espécies (MAIA & BICUDO, 2009). O excesso de ROS pode subjugar o sistema intracelular de defesa antioxidante do espermatozóide tornando-o

susceptível ao estresse oxidativo, uma vez que o pequeno citoplasma não é capaz de produzir antioxidantes que consigam eliminar esses radicais em grandes concentrações.

O ânion superóxido (O2-) é gerado de forma espontânea, especialmente na membrana mitocondrial, através da cadeia respiratória e também por flavoenzimas, lipoxigenases e cicloxigenases. É um radical pouco reativo e não tem a habilidade de penetrar nas membranas lipídicas, agindo apenas no compartimento onde é produzido (NORDBERG & ARNÉR, 2001).

O radical hidroxila (OH-) é considerado o radical mais reativo e capaz de causar mais danos do que qualquer outra ROS, sua formação se da a partir do peróxido de hidrogênio em uma reação denominada de reação de Fenton. Tal radical reage rapidamente com biomoléculas e pode desencadear a peroxidação dos lipídeos nas membranas celulares (NORDBERG & ARNER, 2001).

O peróxido de hidrogênio é extremamente deletério porque participa como intermediário na reação que produz o radical hidroxila, tem vida longa e é capaz de atravessar as membranas biológicas (NORDBERG & ARNER, 2001). Não e considerado um radical livre mas, por ser precursor da hidroxila, é extremamente prejudicial.

Cisteína

A cisteína é um antioxidante não enzimático, sintetizada na região proximal do epidídimo. Tal proteína esta envolvida em processos de espermatogênese, maturação espermática, fusão oócito-espermatozoide e também na penetração do espermatozóide na zona pelúcida (UDBY et al., 2005). Tal proteína inibe a fosforilação da tirosina no processo de capacitação espermática, pelo bloqueio dos cainais de íons na membrana plasmática (VARNER, 2007) e apresenta capacidade de penetrar através das membranas celulares e atuar como antioxidante, de forma direta ou participando da biossíntese da glutationa reduzida (GSH), que também atua como protetor de membranas (REGHINI et al., 2010).

Diversos estudos com sêmen de varias espécies animais demonstraram que a cisteína oferece proteção efetiva da integridade funcional do acrossoma e da mitocôndria, melhorando a motilidade (SARIÖZKAN et al., 2009) e a integridade da membrana espermática pós-descongelação (PAGL et al., 2006), sem eliminar a presença de ROS (MICHAEL et al., 2008).

MATERIAIS E MÉTODOS

Local e Período do Experimento

O experimento foi realizado no setor de Reprodução Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ) da Universidade Federal de Goiás (UFG) (latitude 16°36`S, longitude 49°16`O), na Agropecuária CAVA Cordeiro, localizada no município de Jussara, Estado de Goiás (latitude 15°52`S, longitude 50°50`O), no Centro de Transferência de Tecnologias de Raças Zebuínas com Aptidão Leiteira (CTZL), localizado no Núcleo Rural Ponte Alta, Gama, Distrito Federal (latitude 15°57`S, longitude 48°08`O) e também no Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), localizado em Brasília, Distrito Federal (latitude 15°43`S, longitude 47°54`O).

Animais Experimentais

Foram obitdas amostras seminais de seis carneiros adultos, sendo quatro da raça Dorper e dois da raça White Dorper, com idades entre dois e cinco anos. Todos os animais permaneciam sob o mesmo regime alimentar, estavam clinicamente sadios e com boa condição corporal (escore ≥ 3,5). Antes do início do experimento, os animais foram submetidos ao exame andrológico, apresentando características espermáticas acima dos padrões mínimos preconizados pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA (1998).

Colheita e Avaliação do Sêmen

As colheitas eram realizadas duas vezes por semana, em dias fixos, em um total de cinco semanas, perfazendo dez colheitas de cada animal. Utilizou-se vagina artificial comercial própria para ovinos, com água aquecida a 42°C, e uma fêmea contida como manequim, para a colheita do sêmen. Todos os animais já eram adaptados a esse sistema de colheita. Os ejaculados foram analisados considerando os seguintes itens: volume, aspecto, turbilhonamento, motilidade, vigor, concentração e morfologia espermática, seguindo os padrões mínimos estabelecidos para a espécie segundo o CBRA (1998).

Grupos

Antes da colheita do sêmen era realizado o preparo de uma solução estoque a 10 milimolar (mM) de cisteína. Para o preparo dessa solução, era adicionado 12,1 gramas (g) de cisteína em 10 mililitros (ml) de cada um dos diluentes (PBS (solução fosfatada tamponizada), Equimix®(Nutricell – Nutrientes Celulares Ltda., Campinas, Brasil). Os diluentes PBS e Equimix® foram utilizados, respectivamente, para a diluição do sêmen na forma fresca e refrigerado por quatro e oito horas.

Após a colheita e avaliações iniciais da viabilidade espermática, os ejaculados eram misturados formando um *pool* dos seis animais, objetivando minimizar a variação individual.

A seguir, o *pool* era dividido para formar a solução estoque de sêmen, onde 1 ml do *pool* era acrescido de 3 ml de PBS (sêmen fresco), 2 ml do *pool* diluído em 12 ml de Equimix® (Nutricell – Nutrientes Celulares Ltda., Campinas, Brasil) (sêmen refrigerado).

Em todas as etapas, o sêmen e diluentes eram mantidos no mesmo banho-maria a 37 °C. O sêmen com diluente era então acrescido de antioxidante para formar os seguintes grupos experimentais:

- Controle: sem adição de antioxidante.
- CYS2,5: adição de 2,5 mM de cisteína.
- CYS5,0: adição de 5,0 mM de cisteína.
- CYS7,5: adição de 7,5 mM de cisteína.

Armazenamento

O sêmen do tratamento fresco (TF) era mantido em tubos plásticos tipo *eppendorff* com 1,5 mL de capacidade, em temperatura ambiente e protegidos da luz por um período de duas horas, quando eram submetidos a análise.

O sêmen do grupo refrigerado (TR) era mantido em tubos plásticos tipo *eppendorff* com 0,5 mL de capacidade, acondicionados em um sistema comercial de refrigeração constituído por duas caixas de isopor, com fonte de gelo reciclável, a uma temperatura média de 15°C (Max-Sêmen®, Campinas, SP). As alíquotas eram examinadas após quatro e oito horas de refrigeração.

Análises do sêmen

Avaliação Subjetiva da Cinética Espermática

Alíquotas de aproximadamente 10 µL eram colocadas entre lâmina e lamínula, previamente aquecidas a 37 °C, e avaliadas sob microscopia óptica de contraste de fase (BX41TF, Olympus, Japão) com aumento de 400x. A cinética espermática foi mensurada subjetivamente quanto à motilidade (Mot) e vigor espermático (Vigor).

A motilidade foi estimada baseando-se na porcentagem de espermatozóides móveis, atribuindo uma escala de 0% (ausência de espermatozóides com movimento) a 100% (todos os espermatozóides com movimento retilíneo progressivo). O vigor espermático, referente à velocidade progressiva uniforme das células em movimento, foi classificado em escores de 1 a 5, sendo o escore 1 o mais lento e aumentando gradativamente até o escore 5, correspondendo ao mais rápido movimento progressivo uniforme.

Viabilidade espermática

Utilizou-se a coloração supravital com o corante eosina-nigrosina para avaliar a viabilidade espermática através da integridade estrutural da membrana plasmática. Volumes iguais de sêmen e corante foram colocados sobre lâmina de vidro previamente identificada e aquecida a 37 °C, realizando o esfregaço após a homogeneização. Após serem secas ao ar, a leitura era realizada com aumento de 400x, contando-se pelo menos 300 espermatozóides. As células espermáticas eram classificadas em espermatozóides vivos (membrana íntegra) quando os mesmos não eram corados, e espermatozóides mortos (membrana lesada) quando eram corados de rosa (DOTT & FOSTER, 1972).

Atividade mitocondrial

A atividade citoquímica das mitocôndrias foi avaliada pelo método descrito por HRUDKA (1987). As amostras foram incubadas em meio contendo diaminobenzidina (DAB) em fosfato de sódio 0,15 M, pH 7,2, a uma concentração de 1 mg/mL e manuseado na ausência de luz. Uma alíquota de 20 µL de sêmen foi adicionada a 100 µL do meio de incubação, homogeneizado e mantido em um microtubo aberto em banho-maria a 37 °C, durante 60 minutos na ausência de luminosidade. O controle negativo era obtido a cada ensaio realizado, pela incubação de uma amostra de sêmen aquecida a 100 °C por cinco minutos e adicionada ao meio de incubação, da mesma

maneira que amostra teste. Após a incubação, preparava-se esfregaço das amostras, fixados em formaldeído 10%, durante 10 minutos na ausência de luz. Após secas, as lâminas foram avaliadas em microscópio de contraste de fase, num aumento de 400x. Foram contadas 200 células e classificadas em duas categorias:

- Alto potencial mitocondrial: quase todas as mitocôndrias ativas, ou seja, contém um produto de reação enegrecida dando à bainha mitocondrial a aparência de um cilindro compacto e proeminente.
- Baixo potencial mitocondrial: espermatozoides com poucas mitocôndrias ativas e dispersas ou completamente inativas.

Análise estatística

O delineamento foi em blocos ao acaso, onde a semana representa o bloco (totalizando cinco semanas de colheita) e o *pool* do sêmen a unidade experimental. Para a variável vigor espermático foi utilizado o teste não paramétrico de Friedman (Teste de Friedman). Para todas as outras variáveis utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA). A comparação das médias foi realizada pelo método de *Tukey* sendo utilizado o nível de significância de 5%. As análises dos dados foram realizadas através do programa computacional R (R Core Team) versão 3.0.0.

RESULTADOS

Na Tabela 1 são apresentados os dados de motilidade, vigor, potencial mitocondrial e viabilidade do sêmen ovino fresco diluído com PBS e armazenado por duas horas com diferentes concentrações de cisteína.

Tabela 1 - Motilidade, vigor, potencial mitocondrial (DAB) e viabilidade (eosina-nigrosina) do sêmen ovino fresco diluído com PBS, armazenado por duas horas em temperatura ambiente com diferentes concentrações de cisteína (sem antioxidante, adição de 2.5; 5,0 e 7.5 mM).

Espermatozóides	Grupos				P	CV (%)
	Controle	Cys2,5	Cys5,0	Cys7,5		
Motilidade (%)	49,00^{d}	60,50^{c}	66,50^{b}	73,50^{a}	<0,001	4,51
Vigor (1-5)	3,5 (3,5)^{b}	3,9 (4,0)^{a}	4,0 (4,0)^{a}	4,0 (4,0)^{a}	0,043	-
Viabilidade (%)	71,10^{a}	70,52^{a}	70,64^{a}	69,50^{a}	0,848	3,77
DAB (%)	52,00^{b}	55,40^{ab}	58,30^{a}	59,30^{a}	0,012	7,05

Letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey.

Houve diferenças significativas (P<0,05) para o parâmetro motilidade entre os grupos avaliados. O grupo com 7,5 mM de cisteína apresentou os maiores valores enquanto que o grupo controle mostrou os menores valores de motilidade (73,5 e 49%) respectivamente.

Não houve diferenças entre as concentrações de cisteína avaliadas (P>0,05) para o parâmetro vigor, exceto para o grupo controle que apresentou valor de 3,5; significativamente menor do que quando foi adicionada cisteína aos meios.

Não houve diferença (P>0,05) entre os grupos para o parâmetro viabilidade.

Houve diferença significativa (P<0,05) quando avaliou-se o DAB dos grupos. O grupo controle apresentou o menor valor entre os avaliados (52%) enquanto que os grupos Cys 2,5; Cys 5,0 e Cys 7,5 apresentaram valores de 55,4; 58,3 e 59,3% respectivamente.

Na Tabela 2 são apresentados os dados de motilidade, vigor, potencial mitocondrial e viabilidade do sêmen ovino diluído com Equimix e armazenado por quatro horas a 15°C com diferentes concentrações de cisteína.

Tabela 2 - Motilidade, vigor, potencial mitocondrial (DAB) e viabilidade (eosina-nigrosina) do sêmen ovino diluído com Equimix, armazenado por quatro horas a 15°C, com diferentes concentrações de cisteína (sem antioxidante, adição de 2,5; 5,0 e 7,5 mM).

Espermatozóides	Grupos				P	CV (%)
	Controle	Cys2,5	Cys5,0	Cys7,5		
Motilidade (%)	45,00^{c}	56,00^{b}	66,50^{a}	68,00^{a}	<0,001	6,88
Vigor (1-5)	3,1 (3,0)^{b}	3,4 (3,5)^{b}	3,9 (4,0)^{a}	3,9 (4,0)^{a}	0,016	-
Viabilidade (%)	71,13^{a}	70,38^{a}	70,00^{a}	69,75^{a}	0,914	4,14
DAB (%)	31,00^{a}	27,90^{a}	30,80^{a}	30,20^{a}	0,131	7,03

Letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey.

Houve diferenças significativas (P<0,05) para o parâmetro motilidade entre os grupos avaliados. O grupo com 7,5 mM de cisteína apresentou os maiores valores enquanto que o grupo controle mostrou os menores valores de motilidade (68 e 45%) respectivamente. Resultados diferentes foram relatados por FIGUEIREDO et al., 2012 que não encontraram diferenças entre o grupo controle e a adição de 5mM de cisteína no sêmen de ovinos resfriados a 5°C. BUCAK (2008) encontraram resultados semelhantes ao deste trabalho ao adicionarem 5mM de cisteína ao diluente em sêmen de ovinos congelados.

Houve diferenças entre as concentrações de cisteína avaliadas (P<0,05) para o parâmetro vigor, os grupos controle e Cys 2,5 apresentaram os menores valores (3,1 e 3,4 respectivamente) enquanto que os grupos Cys 5,0 e Cys 7,5 apresentaram valor de 3,9.

Não houve diferença (P>0,05) entre os grupos para o parâmetro viabilidade.

Não houve diferença significativa (P>0,05) quando avaliou-se o DAB dos grupos.

Na Tabela 3 são apresentados os dados de motilidade, vigor, potencial mitocondrial e viabilidade do sêmen ovino diluído com Equimix e armazenado por oito horas a 15°C com diferentes concentrações de cisteína.

Tabela 3 - Motilidade, vigor, potencial mitocondrial (DAB) e viabilidade (eosina-nigrosina) do sêmen ovino diluído com Equimix, armazenado por oito horas a 15°C, com diferentes concentrações de cisteína (sem antioxidante, adição de 2,5; 5,0 e 7,5 mM).

Espermatozóides	Grupos				P	CV (%)
	Controle	Cys2,5	Cys5,0	Cys7,5		
Motilidade (%)	37,00^{c}	46,00^{b}	55,00^{a}	57,00^{a}	<0,001	9,63
Vigor (1-5)	2,2 (2,0)^{b}	3,1 (3,0)^{a}	3,3 (3,5)^{a}	3,4 (3,5)^{a}	0,016	-
Viabilidade (%)	58,50^{a}	59,00^{a}	60,25^{a}	60,13^{a}	0,739	4,41
DAB (%)	22,38^{a}	22,75^{a}	20,88^{a}	23,25^{a}	0,368	8,41

Letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey.

Houve diferenças significativas (P<0,05) para o parâmetro motilidade entre os grupos avaliados. O grupo com 7,5 mM de cisteína apresentou os maiores valores enquanto que o grupo controle mostrou os menores valores de motilidade (57 e 37%) respectivamente.

Não houve diferenças entre as concentrações de cisteína avaliadas (P>0,05) para a variável vigor, exceto para o grupo controle que apresentou valor de 2,2, significativamente menor do que quando foi adicionada cisteína aos meios.

Não houve diferença (P>0,05) entre os grupos para a variável viabilidade.

Não houve diferença significativa (P>0,05) quando avaliou-se o DAB dos grupos.

DISCUSSÃO

MENEZES et al., 2012 não observaram diferenças na motilidade e nenhum efeito significativo na qualidade do sêmen de ovinos mantidos a 4°C por 2, 24 e 48h após a adição de cisteína nas concentrações de 0,5m; 1,0mM; 5mM e 10mM.

ÇOYAN et al. (2011) avaliaram o efeito da adição de dois antioxidantes, cisteína e ergotioneína, em diferentes concentrações (1 mM, 2 mM e 4 mM) sobre os parâmetros espermáticos após o descongelamento de sêmen de ovinos. De acordo com tais autores, a adição de ergotioneína aumentou a motilidade, velocidade média de percurso (VMP) e velocidade linear (VLN), enquanto a adição de cisteína se mostrou mais eficiente na manutenção da integridade da membrana espermática e atividade mitocondrial. De acordo com os dados, os autores concluíram que a ergotioneína e cisteína melhoraram, respectivamente, os parâmetros de motilidade e atividade mitocondrial após a criopreservação, porém, elucida que os efeitos dos antioxidantes devem ser estabelecidos também in vivo.

CASTRO, 2011 avaliaram a adição de 5 mM e 10 mM de cisteína ao sêmen de ovinos conservado a 5°C por 0, 12, 24 e 48 horas de armazenamento e observaram que a 12h de conservação a adição de 5mM resultou em maiores valores seguidos do controle e da adição de 10 mM (62,58; 50,9 e 47,42% respectivamente). Avaliando os diferentes tempos de conservação dentro do mesmo tratamento, verificou-se que o grupo controle manteve a motilidade progressiva similar ao sêmen fresco por até 24h, enquanto que 5 mM manteve similar até 12h e 10 mM reduziu significativamente a motilidade progressiva, independente do tempo de conservação, quando comparado ao sêmen fresco – 0h.

Em caprinos, a inclusão de cisteína a 5, 10 e 15 mM não promoveu melhoria na motilidade espermática quando comparado com grupo controle, no entanto, o tratamento com 15 mM teve a motilidade significativamente superior a 5 mM (ATESSAHIN et al., 2008).

Segundo Castro, 2011 a adição de antioxidantes aos diluidores apresentam uma grande variação nos resultados devido a uma gama de fatores que influenciam no equilíbrio entre radicais livres produzidos e removidos pelos sistemas antioxidantes e neste trabalho a adição de cisteína nas concentrações de 5 e 10 mM promoveu uma redução nos percentuais de progressiva em relação ao grupo controle, e não promoveu nenhum efeito positivo sob os demais parâmetros avaliados sugerindo que a utilização

do diluente ACP-102® sem o acréscimo deste antioxidante é mais apropriado para o resfriamento do sêmen ovino a 5 °C

Estudos avaliando a adição de diferentes concentrações de cisteína ao diluente TRIS empregado para o congelamento de sêmen ovino demonstraram que a concentração de 10 mM teve efeito positivo sobre a manutenção das características espermáticas (UYSAL & BUCAK, 2007) e as concentrações de 5 e 10 mM promoveram um aumento na taxa de motilidade pós-descongelação (BUCAK et al., 2007).

CONCLUSÃO

A adição de cisteína ao sêmen ovino resultou em melhoria da qualidade dos espermatozóides mantidos à temperatura ambiente e refrigerados a 15 °C.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para as amostras seminais mantidas em temperatura ambiente, a adição de 7,5mM de cisteína foi mais eficiente em manter a motilidade dos espermatozóides dentro dos padrões satisfatórios para utilização, mas para as amostras mantidas sob refrigeração a adição de cisteína tanto na concentração de 5,0 quanto de 7,5 mM foram capazes de manter a motilidade espermática, sugerindo que esse seja um procedimento útil para o armazenamento de semen ovino para ser utilizado em programas de inseminação artificial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATESSAHIN, A.; BUCAK, M.N.; TUNCER, P.B.; KIZIL, M. Effects of anti-oxidant additives on microscopic and oxidative parameters of Angora goat semen following the freeze-thawing process. **Small Ruminant Research**, v.77, p.38-44, 2008.

BUCAK, M.N.; ATESSAHIN, A.; VARISLI, O.; YÜCE, A.; TEKIN, N.; AKÇAY, A. The influence of trehalose, taurine, cysteamine and hyaluron on ram semen. Microscopic and oxidative stress parameters after freeze-thawing process. **Theriogenology**, v.67, p.1060-1067, 2008.

BUCAK, M.N.; TEKIN, N. Protective effect of taurine, glutathione and trehalose on the liquid storage of ram semen **Small Rumin. Res**., 73 (2007), pp. 103–108.

CASTRO, E.V. Adição de antioxidante ao sêmen ovino diluído em água de coco em pó acp-102® e resfriado a 5ºc por 48 horas. **Dissertação de Mestrado (Reprodução e sanidade de pequenos ruminantes)** – Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária. 2011.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL – CBRA. **Manual de exame andrológico e avaliação de sêmen animal.** 2 ed., Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p.

CELEGHINI, E. C. C. et al. Practical techniques for bovine sperm simultaneous fluorimetric assessment of plasma, acrosomal and mitochondrial membranes. **Reprod. Dom. Anim**., Uppsala, v. 42, n. 5, p. 479-488, Oct. 2007.

ÇOYAN, K. BASPINAR, N. BUCAK, M. N.; AKALIN, P. P. Effects of cysteine and ergothioneine on post-thawed Merino ram sperm and biochemical parameters. **Cryobiology**, San Diego, v. 63, p. 1-6, 2011.

DOTT, H. M.; FOSTER, G. C. A technique for studying the morfology of mammalian spermatozoa which are eosinophilic in a differential “live/dead” stain. **Journal of Reproduction and Fertility,** v. 29, p. 443-445, 1972.

FIGUEIREDO, C.T.; SILVA, E.F.; LAZZARI, J.C.; PRADIEE, J.; LUCIA JR, T. Influencia da adição de cisteina ao diluente em sêmen ovino resfriado. 21° Congresso de Iniciação Cientifica. UFPEL, 2012.

HAFEZ, E.S.E; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7ª Ed. São Paulo: Editora Manole. 2004. 516 p.

HRUDKA, F. Cytochemical and ultracytochemical demonstratation of cytochrome c oxidase in spermatozoa and dynamics of its changes accompanying ageing or induced by stress. **International Journal of Andrology,** v.19, n.6, p.809-828, 1987.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal-2011**. Disponível em http://www.ibge.gov.br/estadosat/index.php Acesso em: julho de 2013.

MAIA, M. S.; MEDEIROS, I. M.; LIMA. C. A. C. Características reprodutivas de carneiros no Nordeste do Brasil: parâmetros seminais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 35, n. 2, p. 175-179, 2011.

MAIA, M.S.; BICUDO, S.D.; AZEVEDO, H.C.; SICHERLE, C.C.; SOUSA, D.B.; RODELLO, L. Motility and viability of ram sperm cryopreserved in a Tris-egg yolk extender supplemented with anti-oxidants. **Small Rumin Res**, v.85, p.85-90, 2009.

MAIA, M. S.; BICUDO, S. D. Radicais livres, antioxidantes e função espermática em mamíferos: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 33, n. 4, p. 183-193, 2009.

MENEZES, E. S. B.; CAVALCANTE, J. M. M.; BRASIL, O. O.; SOUZA, D. F. R.; NETO, E. T. A.; SILVA JÚNIOR, J.B.; SALGUEIRO, C. C. M.; NUNES, J. F. Uso da n-acetilcisteina na conservação de sêmen ovino a 40c: resultados preliminares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA, 2012, Santos. **Anais...,**Santos: Soc. Bras. Med. Vet. 2012

MICHAEL, A.J.; ALEXOPOULOS, C.; PONTIKI, E.A.; HADJIPAVLOU-LITINA, D.J.; SARATSTIS, P.; VERVERIDIS, H.N.; BOSCOS, C.M. Effect of N-Acetyl-L-cysteine supplementation in semen extenders on semen quality and reactive oxygen species of chilled canine spermatozoa . **Reproduction in Domestics Animals**, v.19, p 37 – 47. 2008.

NORDBERG, J.; ARNÉR, E.S.J. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology & Medicine**, v.31, n.11, p.1287-1312, 2001.

PAGL, R.; AURICH, J.E.; MÜLLER-SCHLÖSSER, F.; KANKOFER, M.; AURICH, C. Comparison of an extender containing defined milk protein fractions with a skim milk-base extender for storage equine semen at 5°C. **Theriogenology**, v. 66, p.1115-1122, 2006.

REGHINI, M.F.S.; ULIANI, R.C.; MONTEIRO, G.A., DELL`AQUA, J.Jr.; PAPA, F.O.; ALVARENGA, M.A. Utilização da N-A cetilcisteína na conservação do sêmen eqüino à 5º e 15º C. **Anais...** XI Conferência Anual da Associação Brasileira do Veterinários de Equídeos, v. 29, p. 326 – 327, 2010.

SARIÖZKAN, S.; BUCAK, M.N.; TUNCER, P.B.; ULUTAS, P.A.; BILGEN, A. The influence of cysteine and taurine on microscopic-oxidative stress parameters and fertilizing ability of bull semen following cryopreservation. **Cryobiology**, v. 58, p. 134 – 138, 2009.

UDBY, L.; BJARTELL, A.; MALM, J.; EGESTEN, A.; LUNDWALL, A.; COWLAND, J.B. Characterization and localization of cysteine-rich secretory protein 3 (CRISP-3)in the human male reproductive tract. **Journal of Urology**, v. 26, p. 333 – 342, 2005.

Uysal, O., Bucak, M.N. Effects of Oxidized Glutathione, Bovine Serum Albumin, Cysteine and Lycopene on the Quality of Frozen-Thawed Ram Semen. **Acta Vet Brno** 76, 383-390. 2007.

VARNER, D. From a Sperms Eye View – Revisiting Our Perception of This Intriguing cell. In: ANNUAL CONVENTION OF AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRATICIONERS, 53, Orlando, 2007. **Proceedings ...**Orlando, p.104 – 177. 2007.

SIMULAÇÃO DE PROBLEMAS DE FLUIDODINÂMICA UTILIZANDO O MÉTODO PSEUDOESPECTRAL DE FOURIER

Ramon Silvério de Almeida, ramonsvra@gmail.com, (orientando); Felipe Pamplona Mariano, fpmariano@emc.ufg.br (orientador); Universidade Federal de Goiás, Escola de Engenharias Elétrica, Mecânica e de Computação

Resumo: *O trabalho consiste na simulação de dois problemas de fluidodinâmica, as equações de Navier-Stokes aplicadas a escoamentos sobre cilindro e a equação de Burgers, utilizando o método pseudoespectral de Fourier, avaliando-as quanto às variações em suas características. Os problemas foram comparados, o primeiro com sua solução analítica e o segundo com outros trabalhos da literatura e apresentam bons resultados.*

Palavras Chave: *Fluidodinâmica Computacional, Método Espectral de Fourier, Equações de Navier-Stokes, Equação de Burger.*

1. INTRODUÇÃO

A dinâmica dos fluidos estuda o comportamento dos fluidos em regime de movimento acelerado, no qual se faz presente a ação de forças externas responsáveis pelo transporte de massa e quantidade de movimento. Existem basicamente duas maneiras de estudar a dinâmica dos fluidos: o método experimental que consiste na observação e aquisição de dados experimentais através do uso de instrumentos de medidas e técnicas avançadas de visualização, e o método teórico que consiste na solução das equações que modelam do fenômeno físico, de forma que esta solução pode se dar de maneira analítica ou numérica, sendo que, esta última, permite soluções para uma maior gama de aplicações e é a qual será abordada no presente trabalho.

A Dinâmica de Fluidos Computacional ou *Computational Fluid Dynamic* (CFD,) é uma poderosa ferramenta na análise de escoamentos, pois permite avaliar com detalhes escoamentos sob geometrias muito complexas, obtendo soluções que permitem reduzir o número de experimentos em laboratórios. Diversas são suas aplicações na engenharia,

Revisado pelo orientador

(Mendis, Ngo, Haritos, e Hira, 2007) apresenta a aplicação na análise de escoamento em torno dos edifícios sujeitos à ação do vento como mostrado na Fig. 1.

Outra área de grande aplicação de CFD é a da aviação, onde muito se estuda o perfil de asas com o intuito de reduzir o consumo de combustível, (Matos, 2009) retrata essa relação pela análise através de CFD.

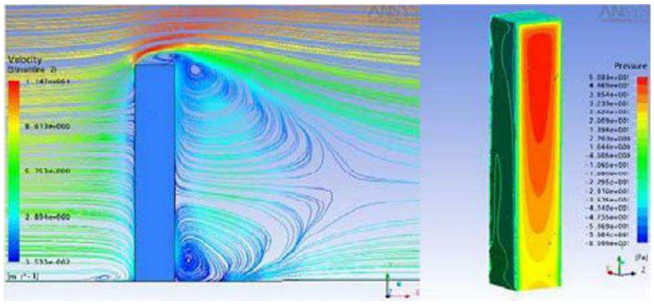


Figura 1. Exemplo de aplicação de CFD a um edifício de seção quadrada – Escoamento no plano X-Z (esquerda) e distribuição de pressões (direita) (Mendis, Ngo, Haritos e Hira, 2007).

O estudo de CFD também é aplicado na análise de esforços em pilares de pontes e outras estruturas que estão sujeitas a forças externas causadas pelo escoamento de fluidos que caracteriza o chamado caso de interação fluido-estrutura. (Carmo, 2005) apresenta um estudo das forças hidrodinâmicas que atuam nos elementos cilíndricos de plataformas "*offshore*" de produção de petróleo, como mostrado na Fig. 2.

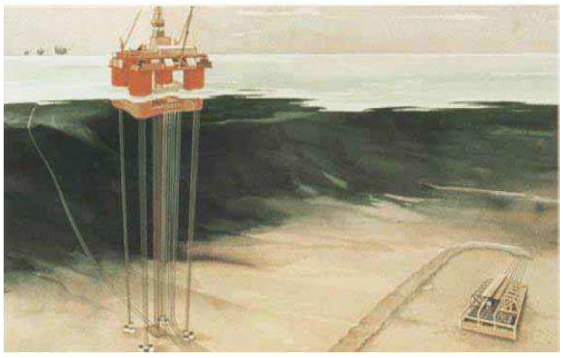


Figura 2. Estrutura dos componentes cilíndricos que levam a produção do poço petrolífero para a superfície.

A base para a Dinâmica de Fluidos Computacional é a resolução numérica das equações de Navier-Stokes, que são equações diferenciais parciais (EDP) de segunda ordem sobre domínios bidimensionais ou tridimensionais, as quais são compostas por termos não-lineares e que modelam matematicamente o comportamento dinâmico dos fluídos. São várias as formas de resolver numericamente essas equações, dentro das quais podem ser citados os

Revisado pelo orientador

métodos das diferenças finitas, volumes finitos, elementos finitos e métodos espectrais. Cada método se aplica de maneira melhor que o outro de acordo com o tipo de escoamento.

O presente trabalho baseou-se na solução das equações de Navier-Stokes utilizando o método espectral de Fourier, e tem como objetivo resolver dois problemas: a equação de Burgers (problema unidimensional) e escoamento sobre cilindro (problema bidimensional).

Cabe ressaltar que para a solução do primeiro problema proposto foi desenvolvido um código numérico totalmente novo, com o intuito de aprender o método espectral de Fourier e algoritmos de integração numérica, leitura e escrita de dados, aplicado na solução de equações diferenciais parciais. O segundo problema, foi resolvido com um código numérico já desenvolvido e validado no trabalho Mariano, (2011) e teve como objetivo compreender a física da dinâmica dos fluidos em um problema físico mais próximo da realidade e estudar as as vantagens e desvantagens do método numérico.

2. METODOLOGIA

2.1. Método Numérico: Espectral de Fourier

O método espectral de Fourier é baseado na transformada de Fourier e para trabalhar computacionalmente com ela utiliza-se a versão discreta, denominada Transformada Discreta de Fourier ou *Discrete Fourier Transform* (DFT,).

Assumindo uma função que é definida no intervalo (-∞,∞) e é integrável em todo domínio real, portanto:

$$\int_{-\infty}^{\infty} |f(x)| dx < \infty , \tag{1}$$

Então se define uma função $\hat{f}(w)$ como sendo:

$$\hat{f}(w) = \int_{-\infty}^{\infty} f(x) e^{-i2\pi\omega x} dx , \tag{2}$$

onde $-\infty < \omega < \infty$ e $i = \sqrt{-1}$. A função $\hat{f}(w)$ é a transformada de Fourier da função f, e é definida no domínio da frequência, ou domínio espectral, enquanto que a função f é definida no domínio espacial, se x for uma coordenada espacial, ou no domínio do tempo se x é uma função dependente do tempo. Existe também uma relação inversa, denominda transformada inversa de Fourier, entre f e $\hat{f}$, que é dada pela Eq. 4:

$$f(x) = \int_{-\infty}^{\infty} \hat{f}(\omega) e^{i2\pi\omega x} d\omega \tag{3}$$

O núcleo das transformadas é o termo exponencial que pela fórmula de Euler pode ser escrito como apresentado na Eq. 4:

$$e^{\pm i2\pi\omega x} = \cos(2\pi\omega x) \pm i\sin(2\pi\omega x) \tag{4}$$

Na Eq. 4, para um valor fixo de ω o núcleo consiste de ondas (senos e cossenos) e a essas ondas é dado o nome de modos.

A fim de encontrar a DFT como sendo uma aproximação da transformada de Fourier são feitas as seguintes considerações: os limites de integração não são mais infinitos, são limitados por um intervalo e f é zero fora dos limites. Sendo assim:

$$\hat{f}(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} f(x)e^{-i2\pi\omega x}dx = \int_{-\frac{A}{2}}^{\frac{A}{2}} f(x)e^{-i2\pi\omega x}dx \tag{5}$$

Para aproximar a integral acima, o intervalo $\left[-A/2, A/2\right]$ é dividido em N subintervalos de comprimento $\Delta x = A/N$. Assume-se que N é o número de divisões do domínio, com $N+1$ pontos igualmente espaçados definidos como na Eq. 6:

$$x_n = n\Delta x,\ n = -\frac{N}{2} : \frac{N}{2} \tag{6}$$

Assumindo que a função f é conhecida nos pontos da malha, e fazendo o integrando como:

$$g(x) = f(x)e^{-i2\pi\omega x}$$

Então, aplicando a regra do trapézio, a integral é aproximada pela Eq. 7:

$$\int_{-\frac{A}{2}}^{\frac{A}{2}} g(x)dx \approx \frac{\Delta x}{2}\left[g\left(-\frac{A}{2}\right) + 2\sum_{n=-\frac{N}{2}+1}^{\frac{N}{2}-1} g\left(x_n\right) + g\left(\frac{A}{2}\right)\right] \tag{7}$$

Fazendo a exigência que o domínio é periódico, tem-se que, $g\left(-A/2\right) = g\left(A/2\right)$. Sendo assim, a aproximação pela regra do trapézio pode ser escrita através da Eq. 8:

$$\hat{f}(\omega) = \frac{A}{N}\sum_{n=-\frac{N}{2}+1}^{\frac{N}{2}} f\left(x_n\right)e^{-i2\pi\omega x_n} \tag{8}$$

Como foram utilizados N subintervalos na regra do trapézio, logo serão utilizados N subintervalos no domínio da frequência. Dessa forma, têm-se no domínio espacial, ou do tempo, o intervalo $\left[-A/2, A/2\right]$ com espaçamento de Δx e com os pontos $x_n = n\Delta x$, e no

domínio da frequência têm-se o intervalo $\left[-\Omega/2, \Omega/2\right]$ com uma malha de N pontos igualmente espaçados por uma distância $\Delta\omega$ de forma que os pontos são descritos da seguinte forma: $\omega_k = k\Delta\omega$, onde $k = -\frac{N}{2}+1 : \frac{N}{2}$. Com esses parâmetros definidos, então se deduz as duas relações de reciprocidade, Eqs. 9 e 10.

Considerando que todos os modos (senos e cossenos) possuem um número inteiro de períodos em $\left[-A/2, A/2\right]$ que encaixa exatamente no intervalo. A onda de maior período possível possui um único período no intervalo e uma frequência de $\Delta\omega = 1/A$. Essa é unidade fundamental da frequência e será o espaçamento dos pontos no domínio da frequência. Como no domínio da frequência o intervalo $\left[-\Omega/2, \Omega/2\right]$ existe N pontos de malha e estes pontos são separados por $\Delta\omega$ segue-se que $\Omega = N\Delta\omega$. Logo:

$$\Omega = N\Delta\omega = \frac{N}{A} \text{ ou } A\Omega = N \tag{9}$$

Essa primeira relação afirma que o comprimento do domínio do espaço (ou do tempo) e o comprimento do domínio da frequência variam inversamente.

Como o intervalo $\left[-A/2, A/2\right]$ é coberto por N pontos igualmente espaçados por Δx, logo $N\Delta x = A$. Combinando com a frequência fundamental, obtêm-se a segunda relação de reciprocidade:

$$\frac{1}{\Delta\omega} = A = N\Delta x \text{ ou } \Delta x\Delta\omega = \frac{1}{N} \tag{10}$$

Com base nas equações obtidas nas relações de reciprocidade, tem-se que:

$$x_n\omega_k = \left(n\Delta x\right)\left(k\Delta\omega\right) = \left(n\frac{A}{N}\right)\left(\frac{k}{A}\right) = \frac{nk}{N} \tag{11}$$

Adotando f_n para representar os valores f_{x_n} amostrados, sendo $n = -\frac{N}{2}+1 : \frac{N}{2}$, então:

$$\hat{f}\left(\omega_k\right) \approx \frac{A}{N}\sum_{n=-\frac{N}{2}+1}^{\frac{N}{2}} f\left(x_n\right)e^{-i2\pi\omega_k x_n} = \frac{A}{N}\sum_{n=-\frac{N}{2}+1}^{\frac{N}{2}} f_n e^{-i2\pi nk/N} \tag{12}$$

Pode-se concluir que a aproximação da Transformada de Fourier será:

$$\hat{f}\left(\omega_k\right) \approx AF_k \tag{13}$$

Sendo F_k a DFT:

$$F_k = \frac{1}{N} \sum_{n=-\frac{N}{2}+1}^{\frac{N}{2}} f_n e^{-i2\pi nk/N}, \tag{14}$$

onde $k = -\frac{N}{2}+1 : \frac{N}{2}$.

A Eq. 14 depende se N for um número par ou ímpar. Assim a Transformada Discreta de Fourier para N par, o qual é o caso utilizado no presente trabalho, é dada pela Eq. 15:

$$F_k = \frac{1}{N} \sum_{n=-\frac{N}{2}+1}^{\frac{N}{2}} f_n e^{-i2\pi nk/N}, \text{ para } k = -\frac{N}{2}+1 : \frac{N}{2} \tag{15}$$

onde k é o número de onda.

Para determinar a Transformada Inversa Discreta de Fourier (IDFT) o procedimento é feito de forma inversa. Sendo N um número par:

$$f_n = \sum_{k=-\frac{N}{2}+1}^{\frac{N}{2}} F_k \omega_k^{\,i2\pi nk/N}, \text{ para } \quad n = -\frac{N}{2}+1 : \frac{N}{2} \tag{16}$$

2.2. Equações de Navier-Stokes

As equações de Navier-Stokes são equações diferenciais que modelam o escoamento de fluidos, essas equações estabelecem que mudanças na quantidade de movimento e aceleração de uma partícula fluída são simplesmente o resultado das mudanças na pressão e forças viscosas e advectivas atuando sobre uma partícula de fluido. Tendo como hipóteses de que o fluido seja Newtoniano, em escoamento incompressível, sem transferência de calor e com propriedades constantes, as equações de Navier-Stokes podem ser apresentadas como na Eq. 17:

$$\frac{\partial u_l}{\partial t} + \frac{\partial \left(u_l u_j\right)}{\partial x_j} = -\frac{\partial p}{\partial x_l} + \upsilon \frac{\partial^2 u_l}{\partial x_j \partial x_j}, \tag{17}$$

onde $p = p^* / \rho + gz$; p^* é a pressão estática em [N/m^2]; z é a componente vertical do vetor deslocamento alinhada com o vetor gravidade $\vec{g}$ na direção vertical e sentido positivo para cima; u_i são as componentes do vetor velocidade em [m/s] nas direções $l=1, 2$ para casos bidimensionais e $l=1, 2, 3$ para casos tridimensionais; ρ é a massa específica em [kg/m^3]; υ é a viscosidade cinemática em [m^2/s].

Para aplicação do método pseudoespectral de Fourier também é considerada a equação da continuidade apresentada na Eq. 18.

$$\frac{\partial u_i}{\partial x_i} = 0 \tag{18}$$

2.3. Transformação das equações de Navier-Stokes para o espaço espectral de Fourier

Depois de definida a transformada de Fourier, será feita a transformação das equações de Navier-Stokes para o espaço espectral de Fourier, além disso, também será mostrado o método da projeção, que desvincula o termo da pressão da equação 17.

Transformando-se a equação da continuidade (Eq. 18) para o espaço de Fourier, e aplicando a propriedade da transformada de Fourier para transformação de derivadas, se obtêm que:

$$ik_i\hat{u}_i = 0 \tag{19}$$

Se o produto escalar entre dois vetores é nulo, então ambos devem ser ortogonais entre si. Sendo assim, da equação da continuidade transformada para o espaço de Fourier, Eq. (19), tem-se que o vetor número de onda k_i é ortogonal à velocidade transformada $\hat{u}_i$. Dessa forma, define-se o plano π perpendicular ao vetor número de onda $\vec{k}$ e, portanto, o vetor velocidade transformado, $\vec{V}\left(\vec{k},t\right)$, pertence ao plano π, conforme ilustrado na Fig.3.

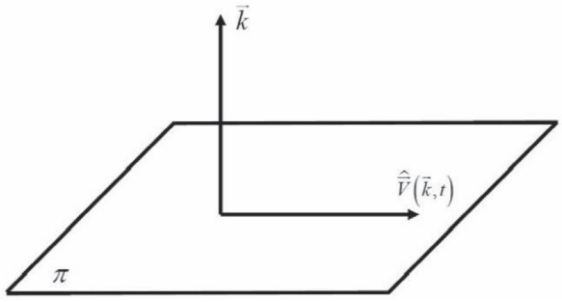


Figura 3. Definição do plano π (SILVEIRA-NETO, 2002).

Transformando a Eq. 17 para o espaço de Fourier, aplicando as devidas propriedades da transformada de Fourier, tem-se:

$$\frac{\partial \hat{u}_l}{\partial t} + \frac{\partial\left(u_l u_j\right)}{\partial x_j} = -ik_l\hat{p} - \upsilon k^2\hat{u}_l, \tag{20}$$

onde k^2 é a norma ao quadrado do vetor número de onda. Observando separadamente cada termo da Eq. (20), tem-se:

- Termo da taxa de variação da quantidade de movimento linear:

Pelas Eq. (19) e Eq. (20), tem-se:

$$\frac{\partial}{\partial t}\left(k_j\hat{u}_j\right) = k_j\frac{\partial \hat{u}_j}{\partial t} = 0 \Rightarrow \frac{\partial \hat{u}_j}{\partial t} \in ao\ plano\ \pi \tag{21}$$

- Termo da difusão da quantidade de movimento linear:

$$\upsilon \frac{\partial^2 u_l}{\partial x_j \partial x_j} = -\upsilon k^2 \hat{u}_l \in ao\ plano\ \pi \tag{22}$$

Pertence ao plano π, pois k^2 é um escalar.

- Gradiente da pressão:

$$\frac{\partial p}{\partial x_l} = ik_l \hat{p} \tag{23}$$

O gradiente de pressão é perpendicular ao plano π, uma vez que é colinear ao vetor número de onda.

- Termo não-linear:

$$\frac{\partial \left(u_l u_j\right)}{\partial x_j} = ik_j \left(u_l u_j\right) \tag{24}$$

Por se tratar da transformada do produto de duas funções, recai em uma integral de convolução, como definido na Eq. (25).

$$\left(u_l u_j\right)\left(\vec{k}\right) = \int_{\vec{k}=\vec{r}+\vec{s}} \hat{u}_l\left(\vec{r}\right)\, \hat{u}_j\left(\vec{k}-\vec{r}\right) dr \tag{25}$$

Sendo assim, não se sabe em que posição se encontra o termo não-linear transformando em relação ao plano π.

Após observar cada termo pode ser feita a projeção dos mesmos. Para isso, com os termos definidos nas equações (21), (22), (23) e (24) tem-se que:

$$\left[\frac{\partial u_l}{\partial t} + \upsilon k^2 \hat{u}_l\right]_{\in\pi} + \left[\frac{\partial \left(u_l u_j\right)}{\partial x_j} + ik_l \hat{p}\right]_{\in\pi} = 0\,, \tag{26}$$

ou seja, sabendo-se que a soma do termo transiente com o termo viscoso pertence ao plano π, tem-se que a soma do termo não-linear com o gradiente de pressão também deve pertencer ao plano π , já que a soma dos quatro termos é nula. Para isso, será utilizado o tensor projeção $\left(\overline{\overline{\wp}}\right)$ o qual projeta qualquer vetor sobre o plano π (SILVEIRA-NETO, 2002).

Como o gradiente de pressão é ortogonal ao plano π, então aplicando o tensor projeção tem-se:

$$\left[\frac{\partial \left(u_l u_j\right)}{\partial x_j} + ik_l \hat{p}\right] = \wp_{lm}\left[\frac{\partial \left(u_m u_j\right)}{\partial x_j}\right] \tag{27}$$

Pode-se concluir da Eq. 27 que a soma dos vetores transformados do gradiente de pressão e do termo não-linear transformados é a projeção do termo não-linear transformado sobre o plano π (Fig. 4). Sendo assim, as equações de Navier-Stokes no espaço de Fourier para escoamentos incompressíveis fica:

$$\frac{\partial \hat{u}_l\left(\vec{k}\right)}{\partial t} + \upsilon k^2 \hat{u}_l\left(\vec{k}\right) = -ik_j \wp_{lm} \int_{\vec{k}=\vec{r}+\vec{s}} \hat{u}_m\left(\vec{r}\right) \hat{u}_j\left(\vec{k}-\vec{r}\right) dr \tag{28}$$

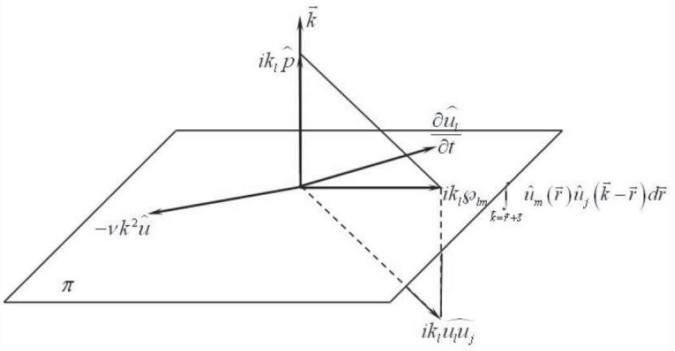


Figura 4. Projeção do termo não-linear sobre o plano π (Mariano, 2007).

2.4. Método Pseudo-Espectral

Como foi verificado na Eq. (28), a resolução das equações de Navier-Stokes passa por uma integral de convolução. A resolução dessa integral é inviável computacionalmente, pois se trata de um procedimento computacionalmente muito caro, para isso faz-se o uso do método pseudoespectral.

O algoritmo básico de um método pseudo-espectral com tratamento do termo não-linear na forma anti-simétrica alternada apresentado por Mariano, (2007) é descrito abaixo:

1) Primeiro traz-se o campo $\hat{u}_l$ para o espaço físico, como condição inicial utiliza-se um campo que satisfaça a equação da continuidade;

2) Calcula-se o produto $u_l u_j$ no espaço físico;

3) Transforma-se o produto $u_l u_j$ para o espaço de Fourier $u_l u_j$;

4) Calcula-se a derivada de $u_l u_j$ no espaço de Fourier, ou seja, $ik_j u_l u_j$;

5) Avança-se no tempo e resolve-se as equações de Navier-Stokes;

2.5. Avanço Temporal

Para análise do primeiro problema proposto no presente trabalho, equação de Burgers, foram utilizados dois métodos de avanço temporal a fim de compará-los com os resultados

obtidos a partir da solução analítica. Foram eles, o método de Euler e o método de Adam-Bashforth de quarta ordem.

A equação para o método é apresentada na Eq. (29):

$$y^{n+1} = y^n + \Delta t f^n \tag{29}$$

A equação para o método de Adams-Bashforth de quarta ordem é apresentada na Eq. (30):

$$y^{n+1} = y^n + \frac{1}{24}\Delta t\left[55f^n - 59f^{n-1} + 37f^{n-2} - 9f^{n-3}\right] \tag{30}$$

Sendo que para calcular os termos f^{n-3}, f^{n-2}, f^{n-1} e f^n foi utilizado o método de Euler.

Para o problema bidimensional, escoamento sobre cilindro, optou-se pelo método de Runge-Kutta de quarta ordem, com seis passos (RK46), com redução do custo de armazenamento de variáveis, baixa dispersão e baixa dissipação numérica (Allampalli et al. 2009).

3. RESULTADOS

Os resultados obtidos são divididos em duas partes, a primeira apresenta os resultados para o problema unidimensional da equação de Burgers, já a segunda consta os resultados obtidos para o problema bidimensional da equação de Navier-Stokes aplicada em um escoamento sobre cilindro.

3.1. Equação de Burgers

3.1.1. Introdução da Equação de Burgers

As equações de Burgers são equações diferenciais parciais não-lineares, e são consideradas como formas simplificadas das equações de Navier-Stokes, para os casos em que o gradiente da pressão possa ser desprezado (Cenedese, 2005). A equação de Burgers é uma das poucas equações diferencias não lineares que apresenta solução analítica e é utilizada para modelagem simplificada da dinâmica de gases e para a acústica (Mariano, 2007). Esta equação vem sendo utilizada como modelo matemático para a análise de diversos fenômenos físicos, tais como, aqueles que tratam do estudo da turbulência, da formação de ondas de choques e de processos estocásticos, entre outros (Cenedese, 2005). A equação de Burgers é mostrada pela Eq. (31):

$$\frac{\partial u}{\partial t} = -u\frac{\partial u}{\partial x} + \upsilon\frac{\partial^2 u}{\partial x^2}, \tag{31}$$

onde u é a velocidade de propagação do fluido, υ é a viscosidade cinemática do fluido e t é o tempo. O termo $\partial u/\partial t$ indica a variação da velocidade no tempo, o termo $u\,\partial u/\partial x$ é o termo advectivo, ou termo não-linear, e o termo $\partial^2 u/\partial x^2$ é o termo difusivo.

Esta onda eventualmente se dissipa e a solução não linear tende à mesma forma da solução linearizada, porém, com uma amplitude menor (Cenedese, 2005). Com o objetivo de comparar os métodos de avanço temporal, além do cálculo numérico para a equação de Burgers, foi calculada também a solução analítica apresentada por (Canuto, 2006) indicada pela Eq. (32):

$$u(x,t) = -2\upsilon \frac{\dfrac{\partial \phi}{\partial x}(x-ct, t+1)}{\phi(x-ct, t+1)}, \tag{32}$$

Sendo:

$$\phi(x,t) = \sum_{n=-\infty}^{\infty} e^{\frac{-\left[x-(2n+1)\pi\right]^2}{4\upsilon t}}, \tag{33}$$

onde υ é a viscosidade cinemática, x é a posição no eixo da abscissa, c é a velocidade de fase, t é o tempo e n é o contador do somatório. Para iniciar o cálculo do somatório que aparece na solução analítica a variável n varia de -100 a 100. A condição inicial da Equação de Burgers é dada pelas Eqs. 32 com t=0.

3.1.2. Aplicação do Método Espectral de Fourier na Equação de Burgers

Aplicando a Transformada de Fourier e suas propriedades na Eq. (31) tem-se:

$$\frac{\partial \hat{u}}{\partial t} = -\frac{u\partial u}{\partial x} - \upsilon k^2 \hat{u} \tag{34}$$

Para o cálculo do termo não-linear é utilizado o método pseudo-espectral a fim de evitar o cálculo da integral de convolução.

Para o cálculo da Equação de Burgers pelo método Espectral de Fourier, utilizou-se de um conjunto de algoritmos escritos em Fortran 90/95, dentre eles as rotinas FFTE escritas por Takahashi (Takahashi ,2001) para o cálculo da FFT (Fast Fourier Transform). Para essa sub-rotina o número de onda (k_η) é calculado da seguinte forma:

$$k_\eta = \eta - 1 \text{ para } 1 < \eta < \frac{N}{2} + 1 \tag{35}$$

$$k_\eta = \eta - 1 - N \text{ para } \frac{N}{2} + 2 < \eta < N \tag{36}$$

A equação de Burgers foi resolvida com diferentes números de pontos de colocação (8, 16, 32, 64 e 128) e para todos os algoritmos foram utilizados os seguintes valores para as variáveis: $v=0,2$ $[m^2/s]$; Intervalo de tempo, $\Delta t=\pi/12800$ $[s]$; Tempo final de $\pi/8$ $[s]$;

Para a velocidade de fase foram utilizados dois valores, o primeiro como sendo nulo e o segundo de $4,0$ $[m/s]$, com o objetivo de verificar qual a influência dessa variável no erro da solução numérica.

Para calcular o erro que se tem na aproximação da solução numérica em relação a solução analítica, utilizou-se os seguintes métodos:

Cálculo do erro usando a norma infinito:

$$L_\infty = \max\left(\left|u_a(i)-u_n(i)\right|\right) \qquad 1<i<N \tag{37}$$

sendo u_a a velocidade calculada da forma analítica, u_n a velocidade calculada da forma numérica e N o número de pontos.

O cálculo do erro usando a norma L_2:

$$L_2 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N}\left[u_a(i)-u_n(i)\right]^2}{N}} \qquad 1<i<N \tag{38}$$

3.1.3. Resultados para Equação de Burgers

A Fig. 5 apresenta a solução analítica proposta por (Canuto, 2006) para o tempo final de π/8 s com velocidade de fase nula. As Figs. 6, 7, 8, 9 e10 mostram as soluções numéricas para a equação de Burgers para diversos números de pontos de discretização.

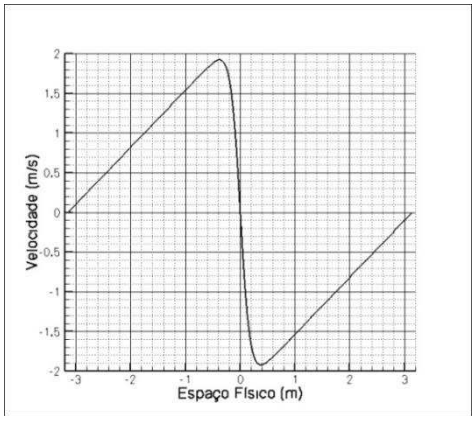


Figura 5. Curva de Burgers por solução analítica.

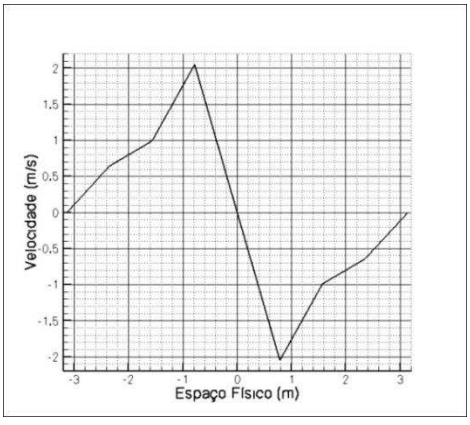


Figura 6. Curva de Burgers por solução numérica com 8 nós de discretização.

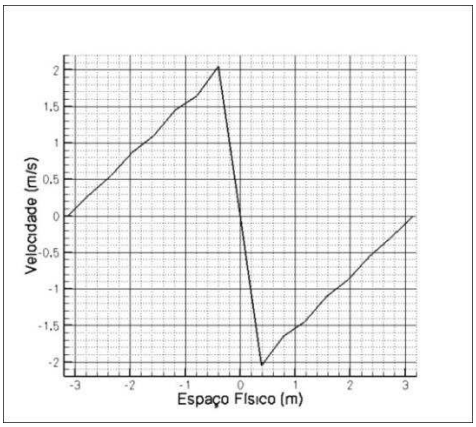


Figura 7. Curva de Burgers por solução numérica com 16 nós de discretização.

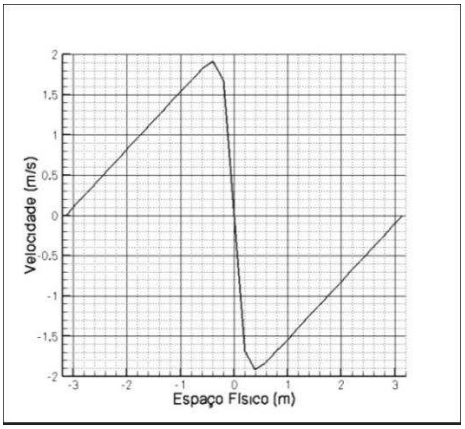


Figura 8. Curva de Burgers por solução numérica com 32 nós de discretização.

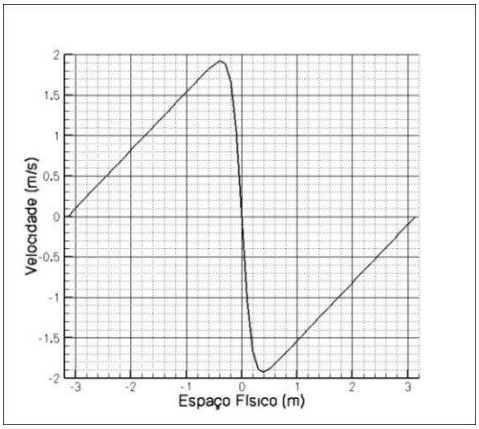


Figura 9. Curva de Burgers por solução numérica com 64 nós de discretizacão.

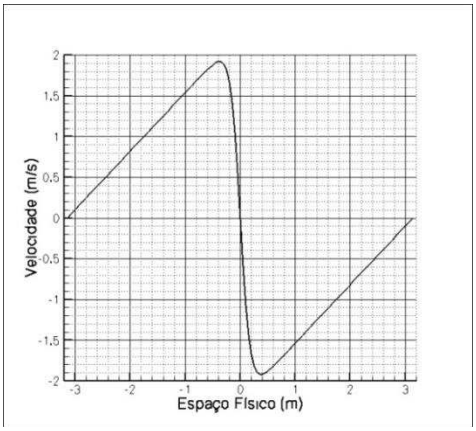


Figura 10. Curva de Burgers por solução numérica com 128 nós de discretização.

As Figs 11, 12, 13 e 14 apresentam gráficos para diferentes tempos, todos com 128 pontos e velocidade de fase de 4 m/s, com os quais é possível perceber como o perfil de velocidade se desenvolve ao longo do tempo.

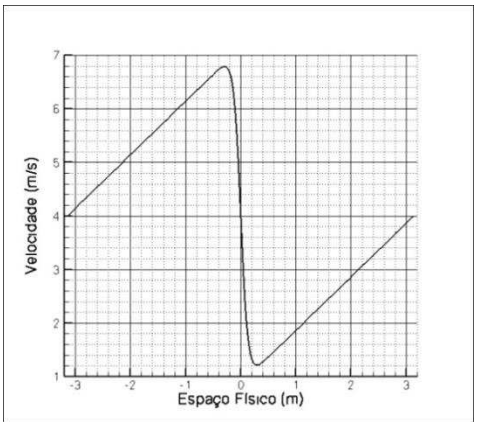


Figura 11. Curva de Burgers para velocidade de fase de 4 m/s com 128 pontos no tempo inicial.

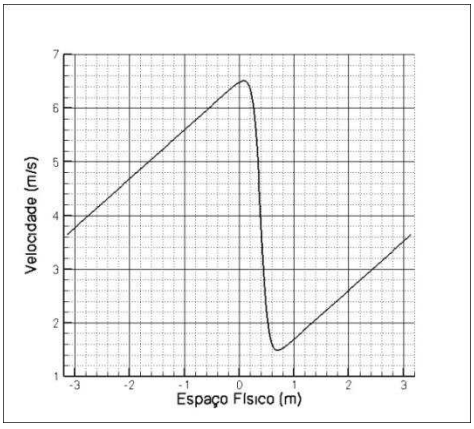


Figura 12. Curva de Burgers para velocidade de fase de 4 m/s com 128 pontos no tempo de $\pi/32$ s .

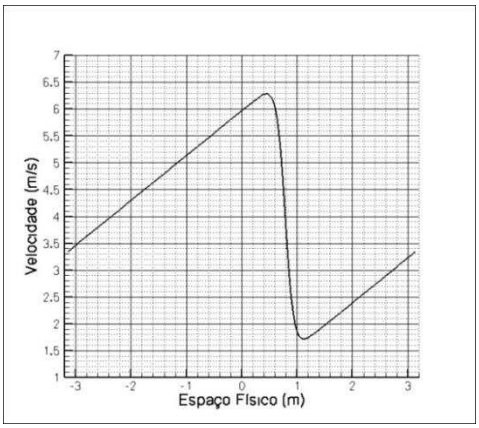


Figura 13. Curva de Burgers para velocidade de fase de 4 m/s com 128 pontos no tempo de $\pi/16$ s .

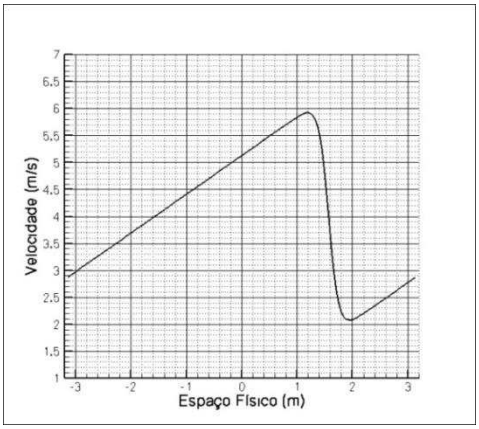


Figura 14. Curva de Burgers para velocidade de fase de 4 m/s com 128 pontos no tempo de $\pi/8$ s .

Pelas Figs. 11, 12, 13 e 14 pode-se perceber dois fenômenos: a amplitude da onda diminui com o passar do tempo e a onda se desloca para a direita. O primeiro fenômeno é devido ao termo difusivo da equação de Burgers, o que ocorre é que com o passar do tempo a onda perde energia e isso leva a uma redução da sua amplitude. O segundo fenômeno já é justificado pelo termo advectivo que atua no sentido de causar o movimento da onda no sentido da abcissa

As Figs 15, 16, 17 e 18 apresentam os erros entre os cálculos numéricos e analíticos para velocidade de fase nula e velocidade de fase de 4 m/s obtidos no tempo $\pi/8$ s. Em ambos os gráficos são comparados os dois avanços temporais apresentados na seção 2.5.

Com base nos dados obtidos nas Figs. 15, 16, 17 e 18, foi possível perceber que o erro produzido pelo método de Euler é maior que o erro do método de Adams-Bashforth de quarta ordem, o que é esperado, já que este último é uma forma aperfeiçoada do método de Euler que nada mais é do que o de Adams-Bashforth de primeira ordem.

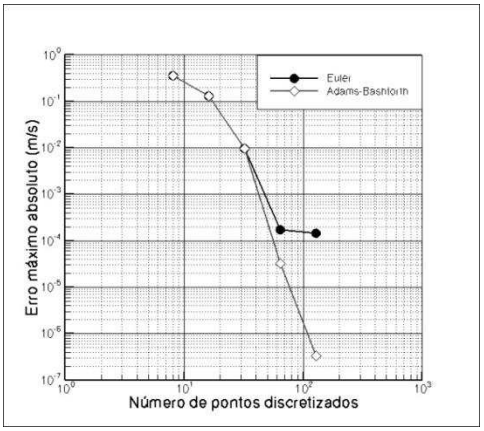


Figura 15. Gráfico do erro norma infinito com velocidade de fase nula.

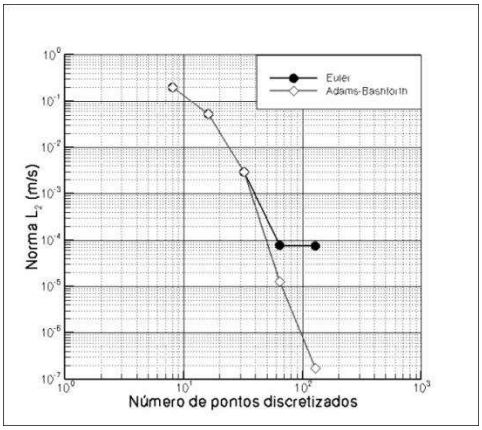


Figura 16. Gráfico do erro norma 2 com velocidade de fase nula.

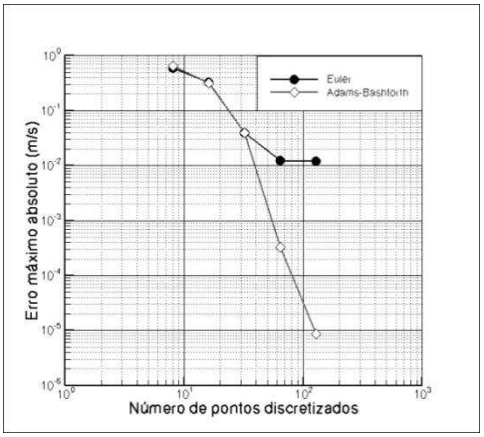


Figura 17. Gráfico do erro norma infinito com velocidade de fase de 4 m/s.

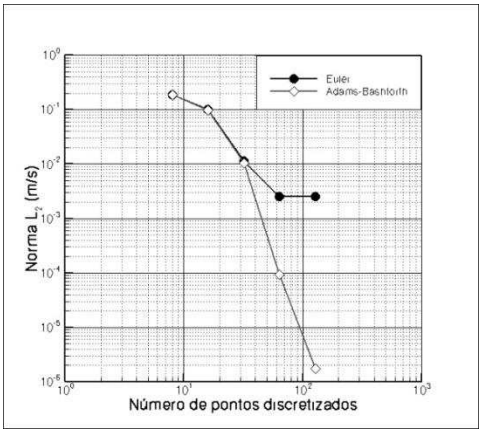


Figura 18. Gráfico do erro norma 2 com velocidade de fase de 4 m/s.

Com relação ao método de Euler percebe-se que o erro estabiliza quando o número de pontos de colocação alcança 64 pontos. Para esse método, com velocidade de fase nula o erro da norma infinita foi de $1{,}73\text{x}10^{-4}$ e da norma L_2 foi de $7{,}64\text{x}10^{-5}$, já para velocidade de fase de 4 m/s o erro da norma infinita foi de $1{,}51\text{x}10^{-2}$ e da norma L_2 foi de $2{,}52\text{x}10^{-3}$, mostrando a influência do termo não linear na solução da equação de Burgers.

Os gráficos apresentados nas Fig. 15, 16, 17 e 18 mostram que o erro do método de Adams-Bashforth diminuí bastante com o aumento do número de pontos. Para a mesma condição de 64 pontos do método de Euler, com velocidade de fase nula o erro da norma infinita foi de $3{,}24\text{x}10^{-5}$ e da norma L_2 foi de $1{,}27\text{x}10^{-5}$, já para velocidade de fase de 4 m/s o erro da norma infinita foi de $3{,}32\text{x}10^{-4}$ e da norma L_2 foi de $9{,}33\text{x}10^{-5}$.

O erro obtido pelo método de Adams-Bashforth diminui consideravelmente com o aumento do número de pontos discretizados, quando foi utilizado 128 pontos com velocidade de fase nula o erro da norma infinita foi de $3{,}35\text{x}10^{-7}$ e da norma L_2 foi de $1{,}71\text{x}10^{-7}$, já para velocidade de fase de 4 m/s o erro da norma infinita foi de $8{,}68\text{x}10^{-6}$ e da norma L_2 foi de $1{,}74\text{x}10^{-6}$. O erro tende a diminuir além dos dados mostrados, porém para o passo de tempo adotado nos algoritmos, o cálculo divergiu quando se utilizou mais de 128 pontos.

Tendo em vista os resultados encontrados o método espectral de Fourier com avanço temporal pelo método de Adams-Bashforth se mostrou bastante eficiente.

3.2.1 Escoamento Sobre Cilindro

Na presente seção, serão apresentadas as simulações de escoamentos sobre cilindros circulares. O domínio de cálculo é ilustrado na Fig. 19:

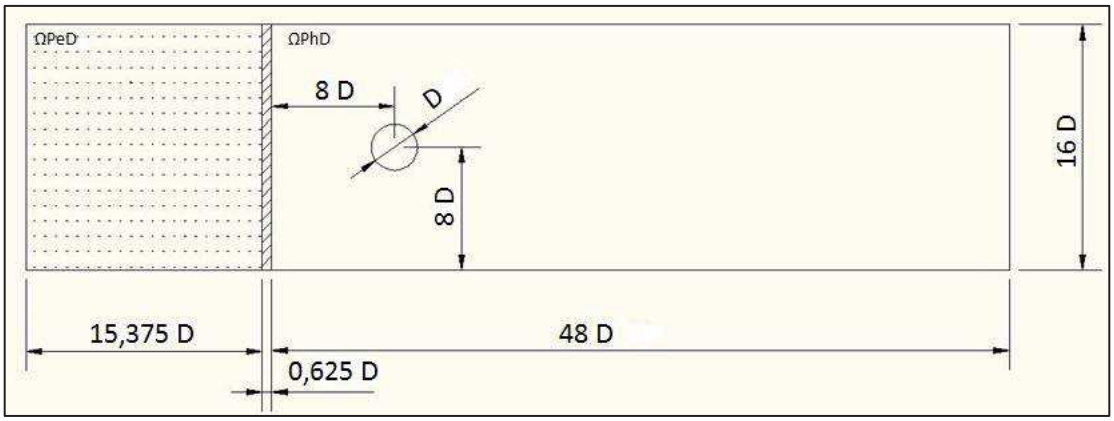


Figura 19. Domínio de cálculo para as simulações de escoamentos sobre cilindros.

O domínio é dividido em três regiões: Zona de amortecimento (BZ) com comprimento de 15,375D [m], Zona de forçagem (FZ) com comprimento de 0,625D [m] e o domínio físico (Ω_{PhD}) com 48D, onde D = 1,0 [m] é o diâmetro do cilindro. Devido à condição de periodicidade, quando se utiliza o método pseudoespectral de Fourier, as instabilidades físicas que saem por uma face do domínio (Ω_{PeD}) são reinjetadas na outra face, como mostrado no trabalho de Mariano (2011). Para evitar que estas instabilidades prejudiquem a imposição, via campo de força, da velocidade na entrada física do domínio, é feito o amortecimento dessas instabilidades através da zona de amortecimento e também é utilizada a zona de forçagem, a fim de alinhar o escoamento antes que ele atinja a região de interesse.

A velocidade do perfil de entrada é constante, sendo $U_\infty = 1,0$ [m/s]; a massa específica é $\rho = 1,0$ [kg/m^3] e a viscosidade cinemática é calculada com base no número de Reynolds:

$$Re_D = \frac{U_\infty D}{\nu} \tag{39}$$

Sendo que nas simulações da presente seção adotou-se Re=100. O principal parâmetro analisado neste problema é o coeficiente de arrasto, (Cd), Eq. 40, determinado pela força que o fluido exerce sobre o corpo imerso na direção do escoamento:

$$Cd = \frac{2Fc_x}{\rho A U_\infty^2} \tag{40}$$

onde Fc_x dada em [N] é a força que atua no cilindro na direção do escoamento; A é a área da interface imersa projetada sobre o plano normal ao escoamento, no caso bidimensional é o próprio diâmetro em [m] multiplicado por uma dimensão perpendicular com comprimento unitário.

Os resultados são divididos em duas análises, a primeira é avaliar a influência da distância do centro do cilindro ao perfil de entrada e a segunda é analisada a influência do refinamento dos pontos de colocação no coeficiente de arrasto do cilindro.

3.2.2 Influência da Distância do Centro do Cilindro ao Perfil de Entrada

Para avaliar a influência da distância do centro do cilindro ao perfil de entrada, foram consideradas três situações, uma primeira, na qual o centro do cilindro está a uma distância de 8D do perfil de entrada ilustrada na Fig. (19), uma segunda na qual o centro está a uma distância de 16D e a última em que o distância é de 4D. Em ambos os casos foram utilizados 1024x256 pontos de colocação.

3.2.3 Influência do Refinamento da Malha

Para avaliar a influência do refinamento da malha frente ao coeficiente de arrasto do cilindro, foram consideradas três situações, uma primeira com 1024x256 pontos, a segunda com 512x128 pontos e a última como sendo a mais grosseira de 256x64 pontos de colocação. Com isso obteve-se o gráfico do coeficiente de arrasto para os dois casos, que é ilustrado na Fig. (21):

3.2.4 Resultados e Comparações

Para os dois casos apresentados obtiveram-se a Fig. (20) e a Fig. (21):

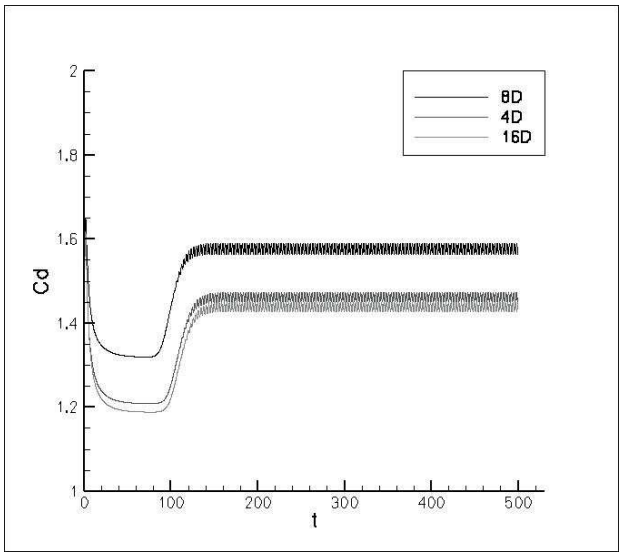


Figura 20. Evolução temporal do coeficiente de arrasto para diferentes distâncias do centro do cilindro ao perfil de entrada.

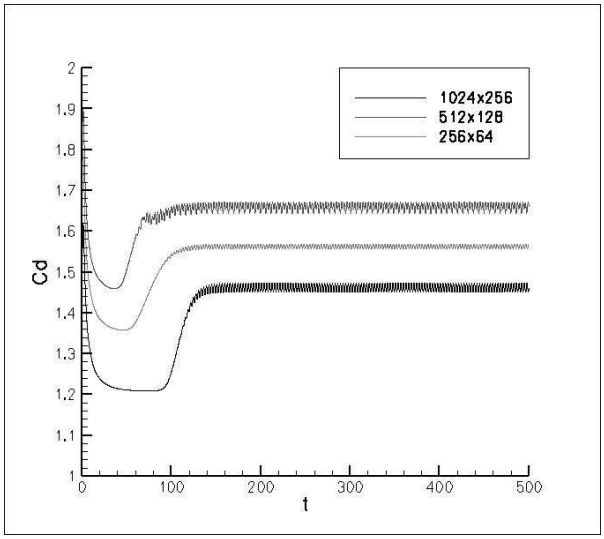


Figura 21. Evolução temporal do coeficiente de arrasto para diferentes malhas.

Os resultados obtidos nas simulações ainda foram comparados com outros trabalhos da literatura a fim de verificar se os resultados estavam dentro da faixa apresentada na literatura. Cada trabalho possui uma abordagem diferente para a solução do problema, mas buscam tratá-lo nas mesmas condições. A Tab. 1 mostra os resultados para o coeficiente de arrasto médio dos diversos trabalhos:

Tabela 1: Coeficientes de arrasto médio para Re=100.

Trabalhos	Cd
Lima-E-Silva, Silveira-Neto e Damasceno (2003)	1,39
Xu e Wang (2006)	1,42
Le, Khoo e Peraire (2006)	1,39
Mariano (2011)	1,39
Presente Trabalho	1,46

Primeiramente, com relação a distância do centro do cilindro até o perfil de entrada, percebeu-se que houve uma influência significativa, a Fig. (20) mostra este efeito claramente. Para o caso com a distância de 8D apresentou um coeficiente de arrasto médio de 1,46 já os casos de 16D e 4D apresentaram respectivamente coeficientes médios de 1,44 e 1,58, caracterizando diferença percentual relativa de 1,37% e 8,22% respectivamente.

Com relação ao refinamento da malha houve uma influência também no coeficiente de arrasto obtido para o cilindro, para o caso de 1024x256 pontos foi de 1,46, para a malha com 512x128 pontos o coeficiente médio de arrasto obtido foi de 1,66 e para o caso da malha mais grosseira de 256x64 pontos o coeficiente foi de 1,56, com isso as diferenças percentuais relativas foram de 13,70% e 6,85% respectivamente.

Quanto ao comportamento do coeficiente de arrasto do cilindro, em todos os casos percebe-se a mesma tendência, no primeiro instante existe uma queda no coeficiente devido a

formação de recirculações, quando essas recirculações são liberadas, então o coeficiente passa a apresentar um comportamento oscilatório. Um detalhe importante pode ser verificado na Fig. (21), o estado de oscilação do coeficiente começa em tempos diferentes para cada malha, primeiro na malha 512x128, depois na malha 256x64 e finalmente a malha 1024x256, isso indica que o processo de liberação dos vórtices seguiu a mesma sequência. Essa diferença não apareceu para a condição das diferentes distâncias entre o centro do cilindro e o perfil de entrada.

Por último foi comparado o coeficiente médio de arrasto com outros trabalhos presentes na literatura e pode-se perceber que o resultado se aproxima do esperado. Os erros entre o presente trabalho e os outros apresentados mostraram relativamente baixos, uma vez que variam de 1,37% a 4,79%.

4. CONCLUSÃO

Primeiramente, para o caso do problema unidimensional da equação de Burgers quando foi combinado o avanço temporal de Adams-Bashforth de quarta ordem com o método espectral de Fourier o erro entre a solução numérica e a analítica diminuíram consideravelmente (só não apresentou erros menores, pois o passo de tempo limitou-se ao critério de estabilidade do método, isto é, diminuindo o intervalo entre os tempos, o método seria ainda mais eficaz). Além do caso unidimensional, a solução das equações de Navier-Stokes para o caso bidimensional se mostraram eficazes também, uma vez que apresentou resultados bem próximos de outros trabalhos (vale lembrar que por terem sido realizados por métodos diferentes, era esperado um erro entre os trabalhos comparados e o presente trabalho).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar dos problemas apresentados serem relativamente simples, o método apresentado permite as mais diversas aplicações. Sendo assim, exemplos como os apresentados na introdução do trabalho são possíveis de serem implementados mudando a geometria do corpo a ser estudado. Como, por exemplo, a asa de avião, como foi mostrado o coeficiente de arrasto para o cilindro no trabalho, é possível substituir a geometria do cilindro pela da asa e assim avaliar o coeficiente para essa nova geometria, e assim estudar a relação entre o consumo de combustível e o perfil da asa. Cabe ressaltar que o projeto continua em andamento e mais simulações de escoamentos sobre cilindros serão analisadas.

6. REFERÊNCIAS

- ALLAMPALLI, V.; HIXON, R.; NALLASAMY, M.; SAWYER, S. High-accuracy large-step explicit Runge-Kutta (hale-RK) schemes for computational aeroacoustics. Journal of Computational Physics, v. 228, p. 3837-3850, 2009.

- BRIGGS, W.; HENSON, V. The DFT. Philadelphia: SIAM, 1995.

- CANUTO, C.; HUSSAINI, M. Y.; QUARTERONI, A.; ZANG, T. A. Spectral methods: fundamentals in single domains. New York: Spriger Verlag, 2006.

- CARMO, B. S. Estudo Numérico de escoamento ao redor de cilindros alinhados Dissertação (Mestrado) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

- CENEDESE, E.; Solução das Equações de Burgers e de Navier-Stokes Bidimensionais Utilizando a Técnica da Transformada Integral Generalizada. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2005.

- LE, D. V.; KHOO, B. C.; PERAIRE, J. An immersed interface method for viscous incompressible flows involving rigid and flexible boundaries. Journal of Computational Physics, v. 220, p. 109-138, 2006.

- LIMA-E-SILVA, A.; SILVEIRA-NETO, A.; DAMASCENO, J. Numerical simulation of two dimensional flows over a circular cylinder using the immersed boundary method. Journal of Computational Physics, v. 189, p. 351-370, 2003.

- MATOS, A. R. F. Optimização de asas laminares para aeronaves “Pro-Green” Dissertação (Mestrado) – Universidade Técnica de Lisboa – 2009;

- MARIANO, F. P. Simulação de escoamentos não-periódicos utilizando as metodologias pseudo-espectral de Fourier e da fronteira imersa acopladas. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2007.

- MARIANO, F. P. Solução numérica das equações de Navier-Stokes usando uma hibridação das metodologias fronteira imersa e pseudo-espectral de Fourier. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

- MENDIS, P.; NGO, T.; KARITOS, N.; HIRA, A.; SAMALI, B.; CHEUNG, J. Wind loading on tall buildings. - (2007).

- SILVEIRA-NETO, A. Turbulência nos fluidos aplicada. Uberlândia, 2002. Apostila da Disciplina Mecânica dos Fluidos do Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Uberlândia.

- XU, S.; WANG, Z. An immersed interface method for simulating the interaction of a fluid with moving boundaries. Journal of Computational Physics, v. 216, p. 454-493, 2006.

- TAKAHASHI, D. An extended split-radix FFT algorithm, 2001.

"OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS COM POTENCIAL ANTIOXIDANTE DAS CASCAS DOS FRUTOS DE *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg."

Laila Portil Garcino Campos[1], Edemilson Cardoso da Conceição[2].

[1] Bolsista de Iniciação Científica/CNPq, Faculdade de Farmácia, UFG. laila.portil@gmail.com
[3] Professor Dr. Orientador de Iniciação Científica, Faculdade de Farmácia, UFG. ecardosoufg@gmail.com

RESUMO

A jabuticaba - *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. - é um fruto pertencente à família Myrtaceae, sendo essa a espécie bastante difundida no país. Na industrialização as cascas e sementes são desprezadas, representando aproximadamente uma perda de 50% do fruto, consistindo em um percentual significativo para ser desperdiçado. Assim, a otimização da extração de fenóis totais e compostos com potencial antioxidante das cascas dos frutos de *M. cauliflora*, resultantes de resíduos da fabricação de fermentado de jabuticaba, tem o objetivo de promover um melhor aproveitamento desse material vegetal, levando em conta melhores tempos, teores alcóolicos e proporções de droga solvente. Para caracterização do material vegetal pulverizado foram realizados testes de determinação da umidade residual do pó, granulometria do pó, teor de fenóis totais e potencial antioxidante. Com o intuito de avaliar a influência de fatores como o tempo, teor alcoólico e proporção droga solvente no processo extrativo e consequente avaliação do teor de fenóis totais e atividade antioxidante, realizou-se uma otimização do método de extração por meio do Planejamento Experimental 2^3 associado a metodologia de superfície de resposta. A otimização evidenciou que não é necessário um grande gasto de álcool no processo extrativo, já que o aumento da graduação alcóolica interfere de maneira negativa na extração de fenóis totais e no índice de captura de DPPH. A grande diferença relatada na otimização é a proporção de droga solvente, que na extração da atividade antioxidante influi positivamente e no teor de fenóis totais possui influência negativa.

PALAVRAS-CHAVE: *Myrciaria cauliflora,* jabuticaba, otimização, fenóis, antioxidante.

Revisado pelo orientador

INTRODUÇÃO

A jabuticaba - *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. - é um fruto pertencente à família Myrtaceae e originária do centro-sul do Brasil, sendo esta espécie de fruto bastante difundida no país. Suas principais características são: baga globosa de até 3 cm de diâmetro, com casca avermelhada quase preta, polpa esbranquiçada mucilaginosa, agridoce, saborosa, apresentando de uma a quatro sementes (GOMES, 2007).

Existem duas principais variedades de jabuticaba *M. cauliflora* no Brasil: a jabuticaba Sabará, a mais apreciada e doce das jabuticabas e a mais intensamente plantada. Seu fruto é miúdo, de epicarpo fino quase preto e muito saboroso, com maturação precoce; e a jabuticaba Paulista, de maior porte do que a Sabará e de grande produção. É um fruto grande e coriáceo, com maturação mais tardia. (LIMA et al, 2008; GOMES, 2007).

A importância industrial dos seus frutos tem sido relatada. É possível encontrá-los beneficiados na forma de sucos, geleias, compotas, licor e vinagre. Também podem ser utilizadas na fabricação de fermentados e destilados. (OLIVEIRA et al., 2003).

Na industrialização as cascas e sementes são desprezadas, representando aproximadamente uma perda de 50% do fruto. Contudo, este é um percentual muito grande para ser desperdiçado quando considerado resíduo na fabricação. Dessa maneira, um melhor aproveitamento desses subprodutos agregaria valor comercial e evitaria problemas ambientais gerados pelo seu descarte no solo (GUO et al., 2004; SOONG e BARLOW, 2004; AJILA et al., 2007). Além disso, as cascas são ricas em corantes naturais e poderiam ser utilizadas como matérias-primas pelas indústrias de alimentos, farmacêutica e cosmética (OLIVEIRA et al., 2003).

Mesmo com grande popularidade da jabuticaba, poucos estudos são encontrados na literatura, sobretudo com relação à presença de compostos bioativos, estando reportada somente a presença de ácido ascórbico, taninos e glicosídeos cianidínicos e peonidínicos (REYNERTSON et al., 2006).

A otimização da extração de fenóis totais e compostos com potencial antioxidante das cascas de *M. cauliflora,* resultantes de resíduos da fabricação de vinho de jabuticaba, visa promover um melhor aproveitamento de tais propriedades, levando em conta melhores tempos, teores alcóolicos e proporções de droga solvente. Assim, a otimização destes parâmetros representa um fator indispensável para a obtenção de extratos com melhores características físico-químicas e aumento no rendimento do processo.

Dessa maneira, a extração assistida por ultrassom, cria forças de cisalhamento que decompõem paredes celulares e mecanicamente melhora a transferência de material o que pode reduzir bastante o tempo de extração. Além disso, não há envolvimento químico na extração assistida por ultrassom, que pode impedir possível degradação química dos compostos-alvo (WANG & WELLER, 2006).

METODOLOGIA

Caracterização do material botânico

Coleta e preparo

As cascas de jabuticaba são provenientes da Fazenda Jabuticabal, localizada no município de Hidrolândia, Goiás. As amostras das cascas dos frutos de jabuticaba recebidas foram pesadas, estabilizadas e desidratadas em estufas com circulação forçada de ar a 40ºC até atingir peso constante. Após a desidratação o material seco foi pesado, triturado em moinho de facas e acondicionado ao abrigo de luz e umidade.

Determinação do teor de compostos voláteis do pó

Utilizando uma balança com lâmpada de halogênio (Ohaus® modelo MB35), realizaram-se ensaios em triplicata, com amostras de 0,5 g do pó das cascas de *M. cauliflora*. Distribuiu-se o material uniformemente no coletor de alumínio contido dentro do aparelho. A lâmpada de halogênio fornece o aquecimento através da emissão de radiação infravermelha uniforme até 160ºC em menos de 1 min, permitindo que a amostra fique seca em segundos.

Determinação da granulometria do pó

A distribuição dos tamanhos de partículas do pó de *Myrciaria cauliflora* foi determinada por tamisação do material, utilizando um tamisador Bertel®. Empregou-se a metodologia descrita pela Farmacopeia Brasileira (5ª edição). Inicialmente, pesou-se 25g de amostra do pó das cascas de *M. cauliflora* em balança analítica e distribuiu-se uniformemente sobre um jogo de tamises de aço inox, previamente pesados, de malhas 710, 355, 250, 180, 125 μm, provido de tampa e recipiente para a coleta do pó. Submeteu-se o jogo de tamises a

vibrações de nível 5, em velocidade padronizada por 15 min no tamisador vibratório. Após esse procedimento, as porções de pós que foram retidas em cada um dos tamises foram pesadas separadamente. Realizou-se a análise em triplicata, sendo que os valores apresentados e utilizados nos cálculos referem-se à média dos valores obtidos.

Determinação do teor de fenóis totais

Para determinar o teor de fenóis totais contido no pó das cascas de *M. cauliflora*, foi seguida a metodologia adaptada de Hagerman e Butler (MOLE; WATERMAN, 1987). Este método baseia-se na reação de complexação dos compostos fenólicos presentes na amostra com uma solução de $FeCl_3$, que pode ser medida em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 510nm.

Para o preparo das amostras pesou-se 0,75g do pó da casca de *M. cauliflora* em balança analítica e transferiu-se para um Erlenmeyer de 250 ml, onde também se adicionou 150 ml de água destilada. O conteúdo do Erlenmeyer foi aquecido até fervura e mantido em banho-maria entre 80 e 90ºC por 30 minutos. Resfriou-se a solução em água corrente. Transferiu-se a mesma do Erlenmeyer para um balão volumétrico de 250 ml, onde se completou o volume com água destilada. Deixou-se decantar o sedimento e fez-se filtração através de papel de filtro qualitativo. Os primeiros 50 ml do filtrado foram desprezados. Preparou-se cada amostra em triplicata.

Na preparação do branco adicionou-se em um tubo de ensaio, 2 ml de solução de LSS/Trietanolamina, 1ml de solução de $FeCl_3$ e 1ml de água destilada.

Para confecção da Curva Padrão pesou-se 100mg de ácido tânico e transferiu-se para um balão volumétrico de 100 ml, completando-se o volume com 40 ml de metanol a 50% e o restante com água destilada. Retirou-se alíquotas de 100, 150, 200, 250 e 300µL desta solução, transferindo-as para tubos de ensaio contendo 2 ml de solução de LSS/Trietanolamina e 1ml de solução de $FeCl_3$. Completou-se então, o volume de cada tubo para 4 ml com água destilada. Cada ponto da curva foi preparado em triplicata. Após 15 min em repouso, fez-se a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro utilizando um comprimento de onda de 510nm e construiu-se uma Curva de Calibração Padrão da Absorbância x Concentração.

Para o doseamento de fenóis totais nas amostras de jabuticaba, adicionou-se em tubos de ensaio (em triplicata), 2 ml de solução de LSS/Trietanolamina, 1mL de solução de $FeCl_3$ c

1mL da respectiva amostra. Fez-se este procedimento para cada amostra da triplicata. Deixou-se em repouso por 15 minutos e realizou-se a leitura das absorbâncias em 510nm.

Determinação do potencial antioxidante

Este ensaio se baseia na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em capturar o radical DPPH (radical livre estável, com coloração violeta), reduzindo-o a hidrazina. Esta é obtida quando uma determinada substância que age como doador de átomos de hidrogênio é adicionada a uma solução de DPPH, produzindo um decaimento da absorbância no comprimento de onda observado, com mudança simultânea na coloração de violeta a amarelo pálido (ALVES et al, 2010).

O método utilizado foi adaptado a partir do proposto por SÁNCHEZ-MORENO et al. (1998) para avaliar além da concentração do antioxidante, os parâmetros cinéticos também. Inicialmente preparou-se a solução controle de álcool metílico, acetona e água. Tal solução foi preparada utilizando um balão volumétrico de 100 ml, onde se adicionaram 40 ml de solução de álcool metílico 50% e 40 ml de solução de acetona 70%. Completou-se o volume para 100 ml com água destilada.

Para o preparo da solução de DPPH dissolveu-se 2,4 mg de DPPH em álcool metílico e completou-se o volume para 100 ml em um balão volumétrico com álcool metílico.

Na preparação do extrato da droga adicionou-se 0,25 g do pó da casca de jabuticaba e 20 ml de metanol 50% em um Erlenmeyer de 100 ml. Deixou-se esta solução em mesa agitadora por 60 min e logo depois se fez a filtração da mesma. Transferiu-se o filtrado para um balão volumétrico de 50 ml. Retornou-se o resíduo desta extração para o mesmo Erlenmeyer e adicionou-se 20 ml de acetona 70%, deixando-se sob agitação por 60 minutos. Filtrou-se então essa solução e juntou-se este filtrado ao balão volumétrico contendo o primeiro filtrado. Completou-se o volume do balão para 50 ml com água destilada.

Para confecção a curva de porcentagem de captura do DPPH pela amostra (IC_{50}), transferiu-se alíquotas de 20, 40, 60, 80 e 100 µl do extrato obtido para tubos de ensaio contendo 3,9 ml da solução de DPPH. Completou-se então, o volume de cada tubo pra 4 ml com metanol e homogeneizou-se em agitador de tubos. Depois, as alíquotas formadas foram mantidas por 20 minutos em repouso para estabilização da absorbância. Após a estabilização, realizaram-se as leituras. Utilizou-se 0,1 ml da solução controle (álcool metílico, acetona e água) com 3,9 ml da solução de DPPH como o controle final. Para calibrar o espectrofotômetro usou-se álcool metílico como branco.

Otimização do método de extração

Com o intuito de avaliar a influência de fatores como o tempo, teor alcoólico e proporção droga solvente no processo extrativo e consequente avaliação do teor de fenóis totais e atividade antioxidante, realizou-se uma otimização do método de extração por meio do Planejamento Experimental 2^3 associado à metodologia de superfície de resposta. Utilizou-se o software STATISTICA 7.0. Assim, de acordo com o delineamento proposto, preparou-se treze soluções diferentes (denominadas de A a M) em balões volumétricos de 50 ml. A Tabela 1 expressa os parâmetros analisados no delineamento.

Tabela 1. Planejamento Experimental 2^3 para otimização do método de extração de fenóis totais e atividade antioxidante do pó das casas de *M. cauliflora*.

	Tempo (min)	**PDS (mg/ml)**	**EtOH** (%)
A	10,000	3,000	45,000
B	20,000	3,000	45,000
C	10,000	6,000	45,000
D	20,000	6,000	45,000
E	10,000	3,000	95,000
F	20,000	3,000	95,000
G	10,000	6,000	95,000
H	20,000	6,000	95,000
I	15,000	4,500	70,000
J	15,000	4,500	70,000
K	15,000	4,500	70,000
L	15,000	4,500	70,000
M	15,000	4,500	70,000

Fonte: Próprio autor

Para preparo das soluções, pesou-se as massas de 150, 225 e 300mg que correspondem, respectivamente, às proporções de droga solvente (PDS) de 3,0; 4,5 e 6,0 mg/ml referentes de A a M. Transferiu-se cada massa para balões volumétricos de 50 ml. Completou-se o volume de cada balão com álcool etílico nas graduações alcóolicas propostas no delineamento, ou seja, 45, 70 e 95%. Transferiram-se então os balões para o aparelho de banho de ultrassom, onde o método de extração será realizado através de sonicação ou cavitação. Retirou-se cada balão do ultrassom de acordo com o tempo estipulado, em que

A,C, E e G são retirados com 10 minutos; I, J, K, L, M em 15 min; e por fim B, D, F e H com 20 minutos.

Para a otimização por fenóis totais, primeiramente construiu-se a curva padrão de fenóis totais (descrita anteriormente) e logo após adicionou-se em treze tubos de ensaio, 2 ml de solução de LSS/Trietanolamina, 1mL de solução de $FeCl_3$ c 1mL da respectiva amostra (A a M). Fez-se este procedimento em triplicata. Deixou-se em repouso por 15 min e realizou-se a leitura das absorbâncias em 510nm. A partir destas leituras e da equação da reta originada pela curva padrão, encontrou-se as concentrações referentes a tais valores e calculou-se o teor de fenóis das amostras de A a M.

Já para a otimização por DPPH, preparou-se primeiro a solução de DPPH (2,4 mg de DPPH e metanol em q.s.p 100 ml) e depois confeccionou-se a curva de porcentagem de captura do DPPH pela amostra (IC_{50}), onde alíquotas de 1ml de cada amostra (A a M) foram transferidas para tubos de ensaio contendo 3,9 ml da solução de DPPH. Realizou-se cada amostra em triplicata. Homogeneizou-se em agitador de tubos e mantiveram-se as alíquotas por 20 min em repouso para estabilização da absorbância. Após a estabilização, realizaram-se as leituras. Utilizou-se como controle 0,1 ml de álcool etílico com 3,9 ml da solução de DPPH. A partir destas leituras, calculou-se a captura de DPPH por cada amostra de A a E.

Por fim, com base nos resultados do teor de fenóis totais e de captura de DPPH, estes dados receberam tratamentos estatísticos através do software STATISTICA 7.0. com metodologia de superfície de resposta.

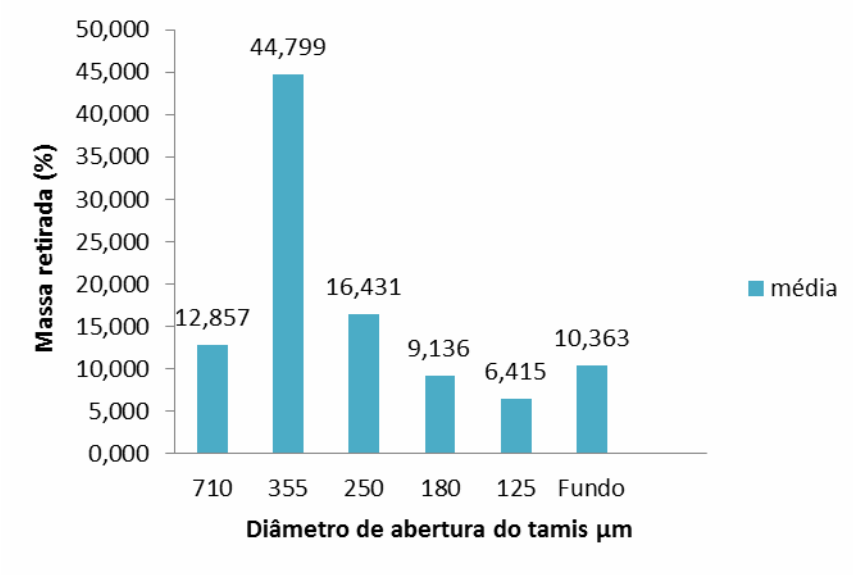
RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pó das cascas de *M. cauliflora* analisado, apresenta um teor de compostos voláteis de 6,46 % ± 1,23%, sendo, portanto, um teor aceitável por estar dentro do limite estipulado pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição (máximo 14%). Quantidades excessivas de água em drogas vegetais favorecem maior atividade de microrganismos, insetos, hidrólise e atividade enzimática com consequente deterioração dos componentes da droga, comprometendo sua qualidade. Assim, este baixo teor de umidade encontrado indica que o processo de secagem foi eficiente e que o material é estável (BARA, M. T. F. et al, 2009; OLIVEIRA; AKISUE; AKISUE, 1991).

A análise granulométrica da amostra demonstrou que cerca de 57,66% das partículas encontram-se na faixa entre 355 a 710 μm (Figura 1), apresentando tamanho médio de

partículas de 440,36 µm. Diante das características obtidas na análise considera-se este um pó moderadamente grosso.

Figura 1. Histograma de distribuição granulométrica do pó das cascas de *M. cauliflora*



Fonte: Próprio autor

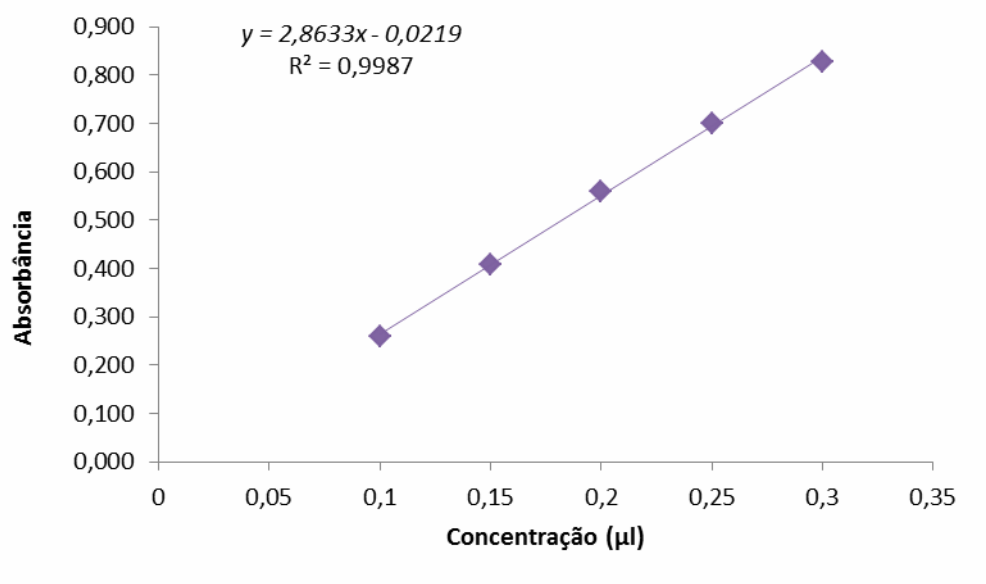
Já a metodologia empregada na determinação do teor de fenóis totais baseia-se na capacidade dos compostos fenólicos reagirem com sais metálicos, como $FeCl_3$, em meio alcalino, formando soluções de coloração enegrecida (BARA, M. T. F. et al, 2009). Assim, a partir da equação da reta, $y = 2{,}8633x - 0{,}0219$ fornecida pela Curva de Calibração Padrão do teor de fenóis totais (Gráfico 1) e das fórmulas apresentadas abaixo, pode-se então calcular a concentração (mg/ml) de fenóis totais no extrato aquoso e a porcentagem presente no material vegetal pulverizado.

$$C = \frac{Abs - A}{B}$$

$$FT\ (\%) = \frac{C \times 250 \times 10^{-1}}{m\ (g)}$$

Em que: A= Coeficiente linear
ABS = Absorbância
B = Coeficiente angular
C = Concentração de fenóis totais em mg/ml
FT= Teor de fenóis totais

Gráfico 1. Curva de Calibração Padrão do teor de fenóis totais.



Fonte: Próprio autor

O teor de fenóis totais encontrado no material pulverizado de *M. cauliflora* foi de 4,15% ± 1,93%, sendo este valor expresso pela média ± desvio padrão relativo de três determinações. Não foram encontrados na literatura limites específicos relacionados a todas as análises realizadas neste trabalho para a espécie *M. cauliflora.* Contudo, TEIXEIRA, N.C. (2011), encontrou valores de 2,92 a 5,32g/L utilizando catequina como padrão para a variedade *Myrciaria jaboticaba* . LIMA, et al.(2008) em seu estudo encontrou no fruto inteiro e na polpa, respectivamente, 1,27 e 0,07 g/100g na variedade Paulista e 1,75 e 0,07 g/100g na variedade Sabará. Já para as cascas, seus maiores teores de fenóis apresentaram 2,70 g/100g na variedade Paulista e 1,89 g/100g na Sabará.

A determinação da atividade antioxidante do pó das cascas de *M. cauliflora* é feita com base na Curva de captura de DPPH pelo extrato de *M. cauliflora* (Gráfico 2), onde a partir da equação da reta originada $y = -0,1087x + 0,5729$, pode-se calcular a quantidade de amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH, o IC_{50}. (RUFINO M. S. M, et al, 2007).

$$y = -0,1087x + 0,5729$$

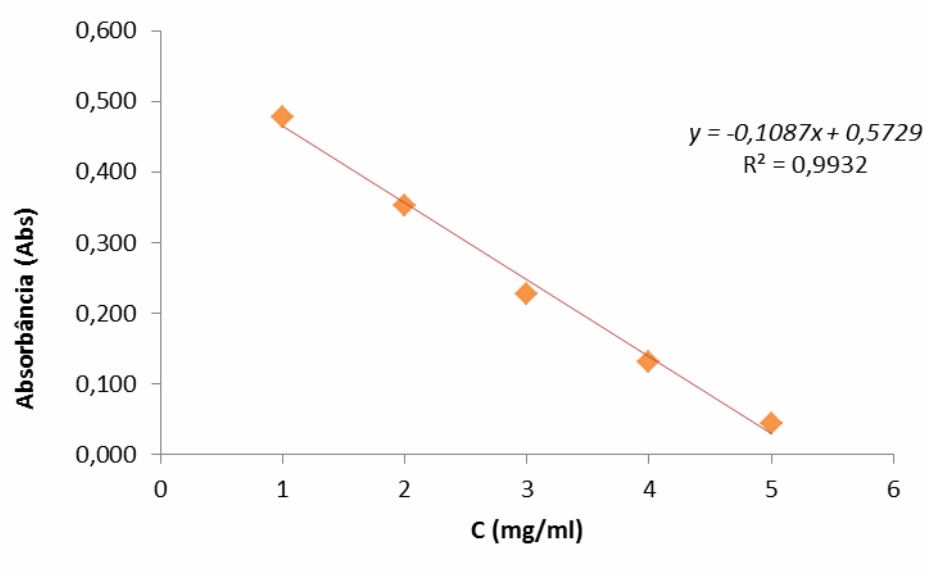
$$0,3375 = - 0,1087x + 0,5729$$

$$x = 2,17 \text{ mg/ml}$$

Em que: y = Absorbância inicial do controle/ 2

x = IC_{50} (mg/ml)

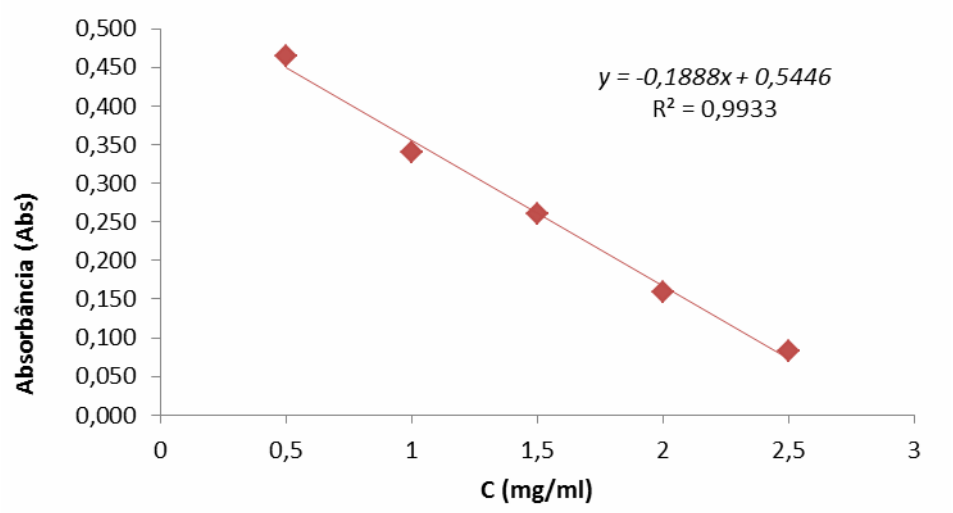
Gráfico 2. Curva de captura de DPPH pelo extrato de *M. cauliflora.*



Fonte: Próprio autor

A fim de avaliar o comportamento de captura de DPPH pelo extrato de *M. cauliflora* realizou-se o mesmo experimento para o padrão de referência BHT, em concentração de 2,5mg/ml. Obteve-se para o BHT a seguinte curva:

Gráfico 3. Curva de Captura de DPPH pelo padrão BHT.



Fonte: próprio autor

A partir da equação da reta *y = -0,1888x + 0,5446* e leitura controle de absorbância de 0,684 A, tem-se para o BHT em IC_{50} igual 1,07 mg/ml. Verifica-se então que o extrato de *M. cauliflora* apresenta uma boa capacidade antioxidante, pois possui um valor de IC_{50} (2,17 mg/ml) com aproximadamente a metade do valor do IC_{50} de um antioxidante de referência (1,07 mg/), o BHT. Observa-se aqui, a possibilidade de obtenção de antioxidantes naturais em fontes residuais da agroindústria, que se estudados mais profundamente, possam um dia serem utilizados como alimentos funcionais ou nutracêuticos, atuando na prevenção de muitas doenças degenerativas, doenças cardiovasculares e vários tipos de câncer (CARVALHO, A. A; ASQUIERI, E. R.).

O planejamento estatístico realizado visa obter o máximo aproveitamento de fenóis totais e do potencial antioxidante presente no pó oriundo de resíduos das cascas de *M. cauliflora*, através da análise da influência de parâmetros como o tempo, a proporção droga solvente e o teor alcóolico no processo extrativo da mesma. Assim, o planejamento experimental torna-se uma ferramenta essencial no aprimoramento de processos em utilização. Além disso, um planejamento adequado permite a redução da variabilidade de resultados, a redução de tempos de análise e dos custos envolvidos. (BUTTON, S. T, 2005).

Propôs-se para o processo de otimização a extração assistida por ultrassom, esta cria forças de cisalhamento que decompõem paredes celulares mecanicamente e melhora a transferência de material. Além disso, como a extração assistida por ultrassom ocorre por forças físicas, pode impedir possível degradação química dos compostos-alvo (WANG & WELLER, 2006). A extração assistida por ultrassom também possibilita a diminuição do tempo gasto em demorados processos de extração, como por exemplo, na metodologia de determinação do potencial antioxidante por DPPH em que o tempo de extração do material vegetal é torno de 2h.

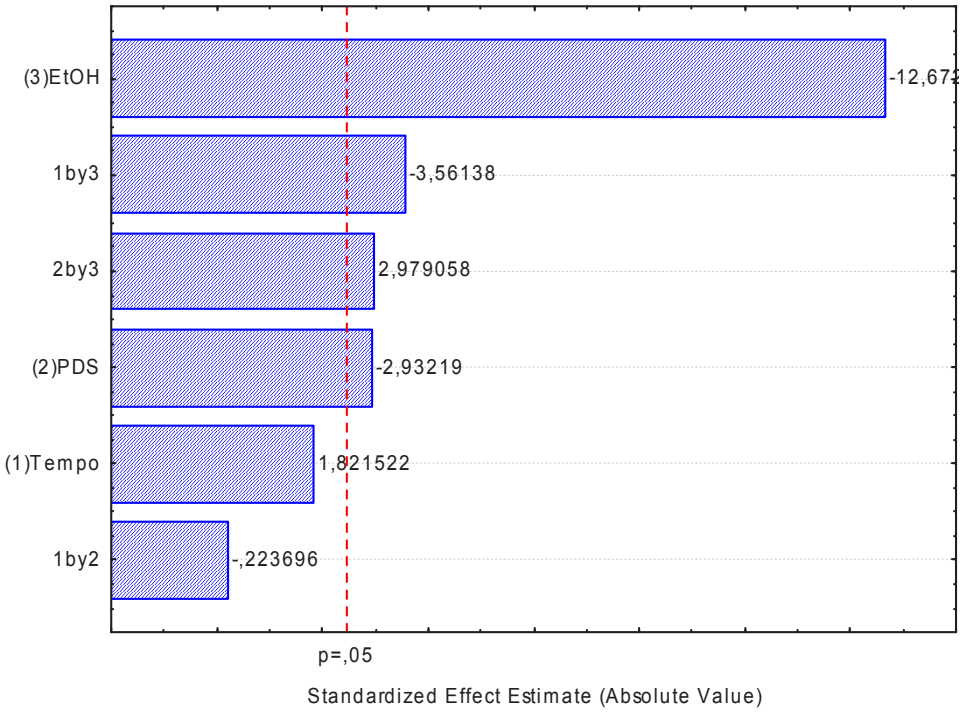
A partir dos resultados obtidos na Tabela 2, realizou-se a análise estatística através do software STATISTICA 7.0, para evidenciar os fatores significativamente importantes na obtenção dos melhores teores de Fenóis Totais (FT) e de Atividade Antioxidante (% de captura de DPPH) de extratos alcóolicos de M. cauliflora.

Tabela 2. Teores de Fenóis Totais (FT) e de Atividade Antioxidante (% de captura de DPPH) de extratos alcóolicos de *M. cauliflora* diante do Planejamento Experimental 2^3.

	Tempo (min)	PDS (mg/ml)	EtOH (%)	FT (%)	(% de captura) DPPH
A	10,00000	3,00000	45,00000	**3,493391**	**0,270333**
B	20,00000	3,00000	45,00000	**4,13531**	**0,206**
C	10,00000	6,00000	45,00000	**2,456185**	**0,113333**
D	20,00000	6,00000	45,00000	**3,414841**	**0,053667**
E	10,00000	3,00000	95,00000	**1,504287**	**0,507**
F	20,00000	3,00000	95,00000	**1,470502**	**0,491**
G	10,00000	6,00000	95,00000	**1,736138**	**0,322333**
H	20,00000	6,00000	95,00000	**1,252587**	**0,324667**
I	15,00000	4,50000	70,00000	**2,683672**	**0,207**
J	15,00000	4,50000	70,00000	**2,385236**	**0,212333**
K	15,00000	4,50000	70,00000	**2,205048**	**0,245**
L	15,00000	4,50000	70,00000	**2,66678**	**0,204333**
M	15,00000	4,50000	70,00000	**2,610471**	**0,186667**

Fonte: Próprio autor

Diagrama de Pareto 1. Planejamento: Extração de fenóis totais de extrato alcóolico a partir do pó de resíduos das cascas de *M. cauliflora.*



Fonte: Próprio autor

O Diagrama de Pareto 1 demonstra a influência de fatores como o tempo, proporção droga solvente (PDS) e graduação alcóolica (EtOH) , que são denominados como variáveis independentes ou preditoras, sobre a variação dos teores de compostos fenólicos presente nos resíduos das cascas de *M. cauliflora*, chamada de variável dependente, pois flutua de acordo com as demais. Consideram-se efeitos significativos todos aqueles que ultrapassam a linha vermelha, indicando uma confiabilidade estatística, com $p < 0,05$.

Nota-se que a graduação alcóolica foi significativamente importante no teor de fenóis toais, contudo ela influencia negativamente esta resposta. Ou seja, quanto maior a graduação alcóolica, pior é a extração de compostos fenólicos. Isto pode ser explicado pelo fato de que quanto menos álcool, mais polar a solução extrativa e maior número de compostos fenólicos polares e solúveis em meio aquoso (flavonóides, taninos, etc) serão extraídos. Assim, não é necessário muito álcool pra obter um bom teor de fenóis totais de resíduos das cascas de *M. cauliflora.*

Outro efeito significativo foi a interação entre tempo e graduação alcóolica, sendo que o tempo sozinho não representa um fator significativo. Esta interação também influencia negativamente a reposta de fenóis totais, em que menores graduações alcóolicas exigem maiores tempos de extração. Já graduação alcóolica juntamente com a proporção droga solvente, expressa efeito significativo e influencia positivamente a resposta, onde uma boa extração de fenóis necessita de baixo teor alcóolico, porém alta proporção de droga solvente. Contudo, esta isoladamente exerce efeito significativo negativo, onde altas proporções de droga solvente atingem o ponto de saturação e não extraem teores de fenóis além deste. Todas estas relações podem ser observadas mais dinamicamente na Figura 2, que apresenta a superfície de resposta.

Figura 2. Superfície de resposta ao teor de fenóis totais.

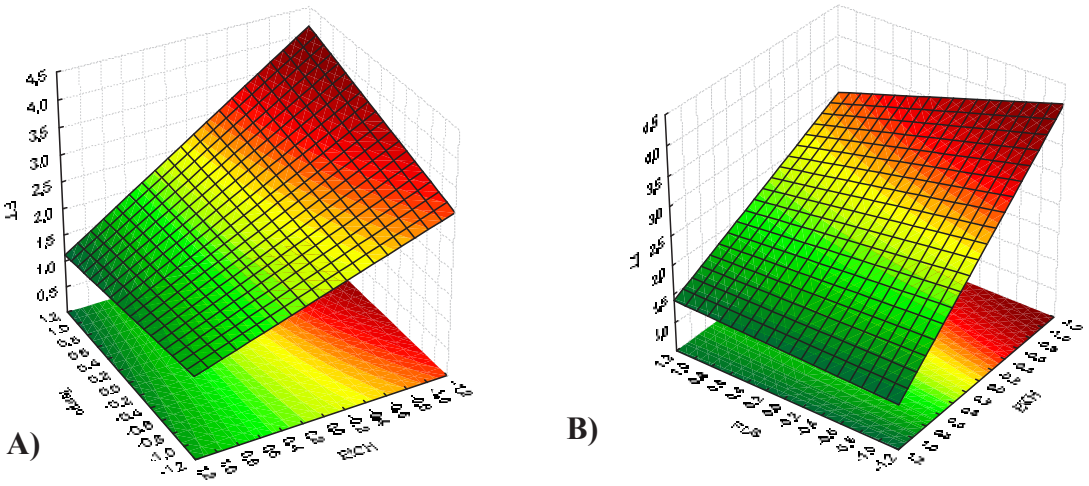
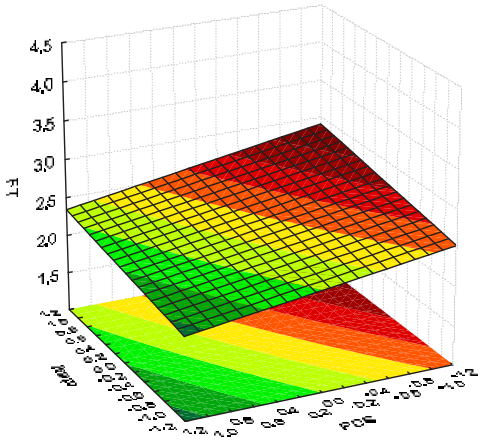


Figura 2. Superfície de resposta ao teor de fenóis totais. (*Continuação*)

C)



A) Influência da interação entre tempo e graduação alcóolica no teor de fenóis. **B)** Influência da interação entre proporção droga solvente e graduação alcóolica no teor de fenóis. **C)** Influência da interação entre tempo e proporção droga solvente no teor de fenóis.

Fonte: próprio autor

A análise de regressão múltipla pelo método proposto avaliou a influência das variáveis independentes sobre a variação dos teores de compostos fenólicos presente nas nos resíduos das cascas de *M. cauliflora* através da Equação 1. Este modelo proposto foi capaz de descrever 97% dos resultados obtidos ($R^2 = 0,97$).

(Eq. 1) FT(%) =2,46 -0,21PDS -0,94EtOH -0,26TempoxEtOH + 0,22PDSxEtOH

Em que:

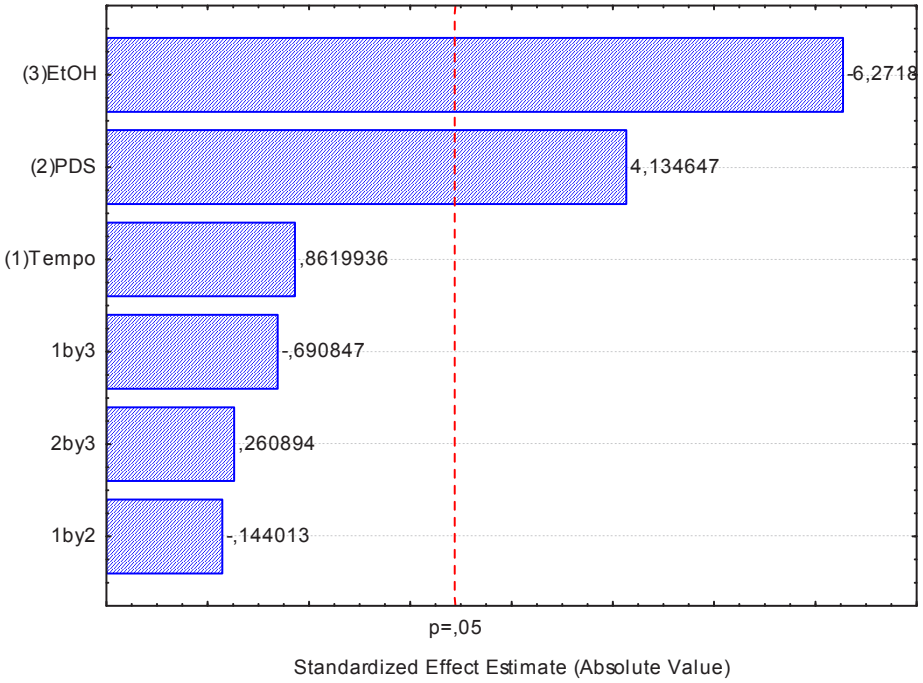
FT = Fenóis totais

PDS = Proporção droga solvente

EtOH = Graduação alcóolica

O Diagrama de Pareto 2 revela a influência das variáveis independentes como o tempo, proporção droga solvente (PDS) e graduação alcóolica (EtOH) , sobre a variação variável dependente , que agora é representada pela atividade antioxidante (% de captura de DPPH) de extratos alcóolicos de *M. cauliflora*.

Diagrama de Pareto 2. Planejamento: Atividade antioxidante (% de captura de DPPH) de extrato alcóolico a partir do pó de resíduos das cascas de *M. cauliflora.*



Fonte: próprio autor

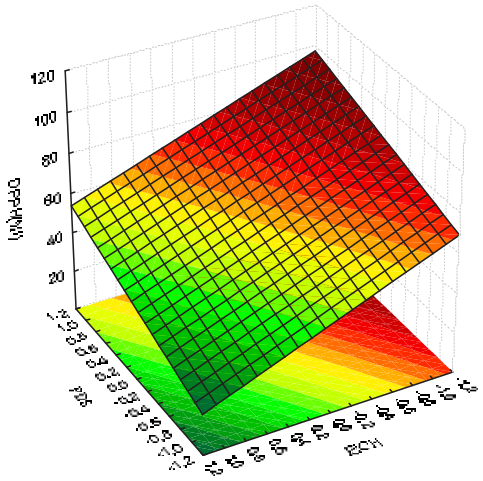
Assim como na otimização de fenóis totais, a graduação alcóolica foi significativamente importante na atividade antioxidante por porcentagem de captura de DPPH pelo extrato alcóolico a partir do pó de resíduos das cascas de *M. cauliflora*, sendo que também influencia negativamente na resposta dessa atividade. Assim, a atividade antioxidante do extrato é desfavorecida pelo aumento no teor alcóolico.

Além da graduação alcóolica, apenas a proporção droga solvente apresentou influência significativa na atividade antioxidante. Como este fator influencia positivamente na resposta, torna-se necessário uma maior proporção de droga solvente para uma melhor porcentagem de captura de DPPH pelo extrato, diferentemente do resultado demonstrado no planejamento com teor de fenóis totais, em que a proporção droga solvente exerce efeito significativo negativo e por isso, altas proporções de droga solvente não extraem altos teores de fenóis.

Nenhuma interação entre os fatores de variáveis independentes foi significativamente importante para a atividade antioxidante do extrato alcóolico a partir do pó de resíduos das cascas de *M. cauliflora,* todas as interações de fatores e o tempo isolado apresentaram $p>0,05$.

As relações demonstradas no Diagrama de Pareto 2 são apresentadas de forma mais dinâmica na Figura 3 a seguir.

Figura 3. Superfície de resposta à atividade antioxidante em relação a proporção droga solvente e a graduação alcóolica.



Fonte: próprio autor

A influência das variáveis independentes sobre a variação na atividade antioxidante por porcentagem de captura de DPPH pelo extrato alcóolico a partir do pó de resíduos das cascas de *M. cauliflora* pode ser avaliada pela análise de regressão múltipla do método proposto através da Equação 2. Este modelo proposto foi capaz de descrever 90,58% dos resultados obtidos. (R^2 = 0,9058).

(Eq. 2) **DPPH(%I)=60,30 + 12,74PDS -19,32EtOH.**

CONCLUSÃO

O material vegetal pulverizado oriundo de resíduos das cascas de *Myrciaria cauliflora* representa uma interessante forma de obtenção de antioxidantes naturais e compostos fenólicos em fontes residuais da agroindústria, a ser explorada. A extração assistida por ultrassom possibilita a rápida extração de compostos em extratos alcóolicos de resíduos das cascas de *M. cauliflora.*

A otimização do processo extrativo de compostos fenólicos e da atividade antioxidante de resíduos da jabuticaba evidencia que para a obtenção destes, não é necessário um grande gasto de álcool, já que o aumento da graduação alcóolica interfere de maneira negativa na extração de fenóis totais e no índice de captura de DPPH. A grande diferença relatada na otimização é a proporção de droga solvente, que na extração da atividade antioxidante influi

positivamente na resposta, tornando necessária uma maior proporção de droga solvente para uma melhor porcentagem de captura de DPPH pelo extrato; diferentemente do resultado demonstrado no planejamento com teor de fenóis totais, em que a proporção droga solvente exerce efeito significativo negativo e por isso, altas proporções de droga solvente não extraem altos teores de fenóis.

Acredita-se que o conhecimento adquirido a partir deste estudo seja uma útil ferramenta para continuar a explorar e aplicar este importante recurso representado pelos resíduos das cascas de *M. cauliflora*.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo suporte financeiro concedido.

REFERÊNCIAS

AJILA, C. M.; BHAT, S. G.; PRASADA RAO, U. J. S. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. Food Chemistry, Washington, v. 102, n. 4, p. 1006-1011, 2007.

ALVES, C.Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. Química Nova, Vol. 33, No. 10, 2202-2210, 2010.

BARA, M. T. F. et al. Caracterização físico-química do pó das folhas de Eugenia dysenterica dc. (Myrtaceae). Revista Eletrônica de Farmácia Vol 6(3), 59-69, 2009.

BRASIL, Farmacopéia brasileira. 5. ed. São Paulo: Atheneu, parte 1. V.4.2.3-4.2.5 (2010).

BUTTON, S. T. Metodologia para planejamento experimental e análise de resultados. Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, agosto de 2005.

CARVALHO, A. A; ASQUIERI, E. R. Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante da semente de jabuticaba (Myrciaria cauliflora). CONPEEX- UFG.

GOMES, R. P. Fruticultura Brasileira. 13. ed. São Paulo: Nobel, 2007. 263 p.

GUO, C.; YANG, J.; WEI, J.; LI, Y.; XU, J.; JIANG, Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. Nutrition Research, Washington, v. 23, n. 12, p. 1719-1726, 2003.

HOTTA, H, SAKAMOTO, H, Nagano, S, Osakai, T, Tsujino, Y., Unusually large numbers of electrons for the oxidation of polyphenolic antioxidants. Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects, 2001.

LIMA, A.J.B.; CORRÊA, A.D.; ALVES, A.P.C.; ABREU, C.M.P.; DANTAS-BARROS, A.M. Caracterização do fruto jabuticaba (Myrciaria cauliflora) e de suas frações. Archivos Latinoamericanos de Nutricion, v. 58, p. 426-421, 2008.

OLIVEIRA, A. L; BRUNINI, M. A.; SALANDINI, C. A. R.; BAZZO, F. R. Caracterização tecnológica de jabuticabas Sabará provenientes de diferentes regiões de cultivo. Revista Brasileira de Fruticultura, Jabuticabal, v.25, n.3, p. 397-400, 2003.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. Análise de Drogas. São Paulo: Editora Livraria Atheneu,1991.

REYNERTSON, K.A.;WALLACE, A.M.; ADACHI, S.; GIL, R.R.; YANG, H.;BASILE, M.J.; D'ARMIENTO, J.;WEINSTEIN, I.B.; KENELLY,E.J. Bioactive depsides and anthocyanins from jabuticaba (Myrciaria cauliflora). J. Nat. Prod.,Ohio, v.69, n.8, p.1228-1230, 2006.

RUFINO M. S. M, et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Comunicado Técnico online – EMBRAPA. Fortaleza, Ceará, 2007.

SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. Food Chemistry, Washington, v. 88, n. 3, p. 411-417, 2004.

TEIXEIRA, N.C. Desenvolvimento, caracterização físico-química e avaliação sensorial de suco de jabuticaba (Myrciaria jaboticaba (Vell) Berg), 2011.

WANG, L., & WELLER, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends in Food Science and Technology, 17, 300−312.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies I: techniques for chemically defining tannins. Oecologia, V. 72, p. 137-147, 1987.

As origens institucionais da Companhia Siderúrgica Nacional (CSN) (1939-1940): estudo documental e análise bibliográfica.

Autores:

João Alberto da Costa Pinto (orientador) – Faculdade de História (FH/UFG)joaoacpinto@yahoo.com.br

Raquel Aparecida Siqueira Arrais (orientanda) – Faculdade de História (FH/UFG)
raquelsiqueirarrais@gmail.com

Resumo:

Este texto[1] apresenta as origens institucionais da CSN (Companhia Siderúrgica Nacional) através do comentário crítico de algumas produções acadêmicas dedicadas ao tema e desenvolve também uma análise descritiva de um importante *diário pessoal* elaborado pelo Engenheiro Militar Edmundo de Macedo Soares e Silva, o principal gestor responsável pela organização da empresa. Fonte pouco utilizada pela historiografia especializada no tema, o diário foi escrito durante os meses de agosto e setembro de 1940, nos Estados Unidos, quando Macedo Soares em nome do Governo Vargas negociava a montagem da empresa com o Governo Roosevelt e com os representantes de algumas companhias siderúrgicas que depois haveriam por participar da montagem da CSN na cidade de Volta Redonda (RJ) no período de 1941 a 1946.

Palavras-chave: diário; historiografia; Companhia Siderúrgica Nacional; gestor.

Introdução e Metodologia

No trabalho desenvolvido neste segundo ano de pesquisa, além de darmos continuidade ao estudo iniciado ano passado, a saber, fazer um levantamento historiográfico de algumas produções acadêmicas elaboradas sobre as origens

[1]Texto revisado pelo orientador.

institucionais da Companhia Siderúrgica Nacional, nos concentramos em analisar uma fonte histórica específica: o diário escrito pelo engenheiro militar Edmundo de Macedo Soares e Silva (principal organizador da empresa) durante sua permanência nos Estados Unidos, para cuidar das questões relacionadas ao financiamento e montagem da CSN. Em nosso entendimento a reconstrução desse diário é importante, pois seu uso como fonte não é frequente e, apesar de não ser citado pela historiografia lida, ele é fundamental para a compreensão do processo de constituição da CSN. E, é através do conteúdo dessa fonte que percebemos o destaque de Macedo Soares como articulador do convênio que foi estabelecido entre Brasil e Estados Unidos.

Nossa metodologia se baseou em realizar uma triagem da documentação sobre a CSN oferecida pelo CPDOC até conseguirmos definir um documento central que contribuísse para nosso estudo: o diário escrito por Macedo Soares. Também continuamos com as leituras dos trabalhos acadêmicos que tratam do tema, para elaboração de um quadro de posições historiográficas desenvolvidas acerca da história institucional da CSN.

Discussão bibliográfica e Resultados

Durante a realização do estudo acerca da história das origens institucionais da CSN continuamos a fazer um levantamento historiográfico acerca do tema. Concentramo-nos na leitura de duas dissertações de mestrado e uma tese de doutorado, buscando examinar como nosso assunto é abordado nas pesquisas acadêmicas. Estes trabalhos tomam a história da CSN sob diferentes perspectivas e recortes temporais; de uma forma ou de outra, cada autor se volta para as origens da siderúrgica, mesmo sendo seus trabalhos direcionados a outras questões do desenvolvimento histórico-institucional da empresa. É importante destacar que nenhum dos autores lidos utilizou o diário de Macedo Soares em seus textos.

A história da Companhia Siderúrgica Nacional é encontrada no trabalho da historiadora Magali Nogueira da Silva Calife (2000) sob o ponto de vista da relação capital/trabalho. Em sua dissertação ela busca refletir sobre a formação do trabalhador da CSN, a constituição histórica do local onde a siderúrgica foi construída e as implicações da sua instalação, enaltecendo os operários como sendo os verdadeiros agentes dessa história. Além disso, analisa o advento da siderurgia brasileira, essencialmente durante o governo de Getúlio Vargas, reforçando o discurso de que a

instalação de indústrias de base seria necessária para afirmar a soberania do país, garantir a segurança nacional e promover a acumulação capitalista de base industrial.

A partir da década de 30 a capacidade de intervenção do Estado sobre diversos setores foi ampliada e emergiram grupos que definiam os problemas brasileiros como problemas nacionais, sendo um deles a questão siderúrgica. O aparato do Estado passou por modificações, observadas na constituição de novos quadros de engenheiros, militares e técnicos que começaram a organizar um projeto industrializante e nacionalista para legitimar a intervenção estatal. Outra modificação é a formação de comissões técnicas que traziam propostas de caráter nacional, sendo que muitas delas estavam destinadas a estudar a questão siderúrgica e propor orientações técnicas e políticas para o governo. A solução dessa questão era vista como fundamental para o desenvolvimento industrial e a segurança da nação.

A solução para a questão siderúrgica se tornou possível com a centralização política implantada a partir de 1937. De mecanismos como interventorias estaduais, autarquias, institutos e conselhos econômicos é que resultou a centralização política presente no Estado Novo. Tais mecanismos reforçaram a ação estatal, no sentido de dar suporte à criação de uma infraestrutura para a expansão industrial. De acordo com a autora, a CSN e outras empresas representaram a entrada do Estado na esfera da produção. Este, e outros empreendimentos, estavam orientados por intenções de estatização que, por sua vez, estavam subordinadas às tentativas de articulação das várias frações de capital para se constituir uma base produtiva interna, vista como independência econômica.

No decorrer de seu trabalho Calife analisou os principais acontecimentos envolvidos no processo de constituição da CSN, a saber, a formação de conselhos técnicos e consultivos (caso do Conselho Técnico de Economia e Finanças e do Conselho Federal de Comércio Exterior) e de comissões (como a Comissão Executiva do Plano Siderúrgico Nacional), as relações e negociações estabelecidas pelo governo brasileiro no plano internacional, a participação dos militares no projeto siderúrgico e a opção nacionalista e estatizante do empreendimento siderúrgico. Também são examinados a concessão do financiamento necessário para a construção da usina pelo Eximbank, a escolha da firma de engenharia norte-americana Arthur G. Meckee e o andamento das obras em Volta Redonda.

Segundo a autora, a construção da usina em Volta Redonda causou mudanças tanto na vida dos habitantes quanto nas características sócio-econômicas da região. Não foram somente os elementos apresentados pela Comissão Executiva do Plano Siderúrgico Nacional (vantagens com transporte e mão de obra) que levou a decisão por Volta Redonda. Era necessário escolher um sítio, uma região isolada, para se implantar o projeto controlador e disciplinador do espaço durante a construção e funcionamento da usina e da cidade erguida em volta dela. A CSN foi a única empresa estatal, daquelas criadas na década de 40, que construiu uma cidade associando o mundo fabril ao mundo urbano dentro do processo de dominação e controle do espaço.

A cidade operária era expressão da lógica do capital e dos interesses ideológicos do desenvolvimento nacional. Ela foi projetada de forma que a vida do trabalhador pudesse ser gerida também fora da usina, tendo-se assim um controle quase total dos seus atos. Assim, Calife considera que

> O rebatimento da organização fabril ao espaço urbano marcava a subordinação da cidade à atividade produtiva, em busca de uma eficácia mais ampla – a construção do "homem novo", o cidadão trabalhador brasileiro, produtivo economicamente, mas "dócil" e "submisso". Esta, que poderíamos chamar, "outra face do planejamento", não revelada nos documentos oficiais, a cidade projetada segundo as mais modernas normas de urbanismo, a que se refere o Relatório da Comissão Executiva do Plano Siderúrgico Nacional, é uma das primeiras experiências do urbanismo no Brasil. (CALIFE, 2000, p. 53).

Ao analisarmos esse trabalho é possível perceber que um dos objetivos de se construir uma cidade em volta da usina, bem estruturada, planejada e com recursos, era controlar o trabalhador. A área urbana arborizada, com muitos serviços e bem estruturada era um contraponto ao trabalho duro e ao ritmo intenso imposto durante o processo de construção e funcionamento da siderúrgica. A cidade era uma forma de fazer com que os trabalhadores aderissem ao projeto industrializante e, também, evitar com que eles se revoltassem e fazer com que construíssem uma relação emocional (paternalista) em relação à empresa. A criação da CSN visava produzir uma ideologia calcada no "novo modelo" de trabalhador[2].

[2] Sobre essa questão, a pesquisadora Regina Morel acrescenta que "a CSN pretendia ser para o Brasil um exemplo bem-sucedido de formação de trabalhadores, e a Escola Profissional (...) seria peça indispensável no sentido de, por um lado, lhe fornecer operário 'sob medida' para manipular seus equipamentos; por outro, também introduzia o aluno na hierarquia, disciplina e ritmo de trabalho na empresa, além de contribuir para difundir o "espírito" de colaboração entre os integrantes da "família siderúrgica". (RAMALHO &SANTANA, 2001, p. 61).

Ao discutir sobre a formação desse trabalhador Calife defende que, apesar da existência do discurso sobre a formação de uma "família siderúrgica" e de o Estado Novo tentar estabelece laços corporativos com a classe trabalhadora, o "modelo" de família apresentado pela CSN não condizia com as práticas da empresa em relação aos trabalhadores, já que estes estavam sujeitos muito mais a ações coercitivas do que ao consentimento. Muitas práticas e regras eram utilizadas para manter os operários sob o sistema de disciplina e hierarquia. Para a autora, a biografia pessoal, a identidade profissional dos trabalhadores e a história da CSN acabaram se condensando, por causa da dominação da empresa sobre eles e da construção do ideário paternalista.

A tese de doutorado produzida por Sérgio Eduardo Martins Pereira (2007) também tem como objeto a CSN e parte de sua história institucional, abordada a partir da experiência sindical dos metalúrgicos e do processo de privatização da empresa. O sindicato estava diretamente ligado à siderúrgica e à dominação que a cidade-empresa exercia. Volta Redonda foi planejada e construída pela Companhia, nascendo subordinada a esta última, que visava um misto de controle e disciplina. A organização do espaço onde a cidade foi construída representa a hierarquia executada pela empresa, percebida, por exemplo, em práticas como construir moradias que se diferenciavam de acordo com os destinatários e destinar casas localizadas em partes altas para aqueles com cargos superiores[3].

O autor considera que a criação da CSN era uma estratégia política e econômica que, além de colocar o Estado na função de empreendedor da industrialização, justificava-se pela questão do nacionalismo e da defesa nacional. A siderúrgica foi apresentada como "carro-chefe" da implantação das indústrias de base no Brasil e vista como afirmação da soberania nacional, num período de tensão no cenário internacional. Com a chegada da Segunda Guerra, o governo fez uso da diplomacia para barganhar capitais que financiassem uma grande siderúrgica, recorrendo tanto aos Estados Unidos quanto a Alemanha.

Ao apresentar o processo de constituição da CSN o autor também analisa acontecimentos que tiveram grande destaque naquele período, como a postura assumida pela política nacional em favor da industrialização, o movimento pendular realizado

[3] A hierarquia e o controle exercidos pela empresa sobre os trabalhadores podem ser verificados em outros aspectos. Segundo Regina Morel, "a construção e a utilização de habitações provisórias particulares em terrenos da Companhia dependia de autorização expressa do diretor industrial, ficando portanto impedidas as construções de barracos por iniciativa dos trabalhadores. Era também proibido realizar modificações nas casas, inclusive construir cercas e muros. Para isso, os moradores deveriam solicitar aprovação ao diretor industrial." (RAMALHO & SANTANA, 2001, p. 67).

pelo governo brasileiro nas negociações estabelecidas com os governos norte-americano e alemão, os estudos da Comissão Executiva do Plano Siderúrgico Nacional, a criação da Companhia e a escolha da área onde a siderúrgica foi instalada. Em relação a este último, Pereira considera que um dos motivos que levaram a escolha de Volta Redonda é que era uma região relativamente isolada e isso poderia contribuir para a realização do projeto político-ideológico do Estado que objetivava formar um "novo trabalhador".

Quando examina esse sistema de fábrica e vila operária o autor percebe a CSN e a cidade-empresa associadas à empresa enquanto instituição e não à figura do empresário. Assim, ele considera que

> Se por um lado o caso da CSN se assemelhava a outros abarcados pelas idéias de fábrica com vila operária e "cidade-empresa", quando os trabalhadores se encontram subordinados a um mesmo poder no trabalho e no local de moradia, Volta Redonda carregava uma forte marca pelo fato de esse agente ser o Estado. A Cidade do Aço surgiu, portanto, do "Estado Patrão", para usar a expressão de Ramalho (1989). E mais ainda, estamos falando do Estado Novo e do poder personificado na figura do "Pai dos pobres", Getúlio Vargas, o que por si só já daria um outro escopo ao empreendimento. (PEREIRA, 2007, p. 40)

Apesar da existência de outros projetos ligados à indústria de base durante as décadas de 40 e 50, o autor considera que eles não atingiram as proporções da cidade construída em torno da siderúrgica. Essa consideração é justificada por três elementos: Volta Redonda pode ser considerada como a única experiência de cidade operária inteiramente construída por uma empresa estatal; foram atraídos para a cidade trabalhadores de todos os níveis de qualificação, não apenas os mais especializados; e a cidade-empresa foi parte de um projeto de cunho político-ideológico, cujo objetivo não era somente forjar aço, mas também trabalhadores para o "novo Brasil", através da superação do passado agrícola e do estabelecimento de um padrão em empresas públicas e privadas, e de operários e relações de trabalhos exemplares.

O trabalho do geógrafo Antonio Toledo Poso (2007) é dedicado a análise do comportamento da CSN a partir da nova conjuntura mundial que se instalou após os anos da década de 1990, a saber, a reestruturação do setor siderúrgico mundial e brasileiro, marcada pela internacionalização das empresas do setor, formação de grupos multinacionais, privatizações e nova divisão internacional do trabalho. Ao analisar o parque siderúrgico brasileiro considerando as mudanças ocorridas nesse setor em âmbito nacional e internacional, procura-se entender o comportamento da siderurgia

brasileira mediante essas mudanças e suas consequências para a formação sócio-espacial do país. A CSN é estudada como principal universo empírico já que, de acordo com o autor, possui importância histórica fundamental para a origem e evolução do parque siderúrgico nacional.

No decorrer de sua tese, Poso estuda os períodos de formação, desenvolvimento, crise e reestruturação tanto da siderurgia mundial quanto nacional. Ao final, ele se dedica a análise da gênese, formação, crise, reestruturação e da situação atual da CSN, para compreender o papel da empresa na siderurgia brasileira do presente e o seu comportamento diante do processo de reestruturação em nível nacional e mundial. A história institucional da criação da CSN é abordada no estudo sobre a construção e expansão do parque siderúrgico nacional; assim, o autor verificou que as fases pelas quais passou a CSN coincidem quase completamente com a periodização estabelecida para o estudo da siderurgia nacional. Como os outros autores citados, Poso contextualiza o surgimento da siderúrgica, discutindo o desenrolar dos acontecimentos envolvidos nesse processo, apresentados a seguir.

O capital privado não reunia condições para a construção de uma siderúrgica, as usinas existentes eram pequenas e não possuíam recursos para uma expansão apreciável. Além desta dificuldade, o governo teve que lidar com a pressão dos militares e com as divergências entre dois grupos opositores: os nacionalistas que defendiam a idéia de exportar minério de ferro para a Alemanha em troca de equipamentos; e a organização diplomática que era a favor da utilização de capital norte-americano no financiamento da siderúrgica. No cenário internacional, enquanto Macedo Soares estava na Europa se reunindo com empresas alemãs, Oswaldo Aranha foi para os Estados discutir a possibilidade de se obter financiamento necessário. O ministro acentuou em sua missão que se o empréstimo não fosse concedido o Brasil teria que negociar com a Alemanha; esse argumento surtiu efeito e o Eximbank firmou compromisso preliminar de financiar a aquisição de equipamentos.

> Na primeira metade da década de 1940, Vargas criou uma comissão executiva, chefiada pelo industrial Guilherme Guinle, para que se formasse uma companhia siderúrgica e se obtivesse ajuda financeira. Ao mesmo tempo, o presidente condicionou a cooperação brasileira na Segunda Guerra ao financiamento de uma siderúrgica, criando assim um fato político para a viabilidade do projeto. Em julho de 1940, chegou a Washington a comissão siderúrgica brasileira e, em setembro do mesmo ano, o Banco de Exportação

> Importação concedeu U$ 20 milhões de dólares para financiar a siderúrgica. (POSO, 2007, p. 56).

Após essa análise o autor se concentra no processo de formação (constituição da Companhia, funções executadas pela comissão que cuidou de toda a organização formada por Guilherme Guinle, Ary Torres e Macedo Soares, construção da usina e da vila operária e conclusão das obras), evolução (expansão da siderúrgica), reestruturação (iniciada com o leilão da privatização) e estrutura atual da CSN. A história da siderúrgica é discutida desde a sua criação, passando pelos planos de expansão da usina, pela emancipação do distrito de Volta Redonda, pelas medidas adotadas pelos presidentes militares a partir de 1964 que definiram a intervenção estatal na CSN e a influenciou, pelas crises que se iniciaram no início da década de 70 e que se agravaram na década de 80 chegando ao pior estágio até chegar aos momentos que antecederam a privatização e a efetivação desta.

Após a leitura de todos os trabalhos acadêmicos citados, podemos perceber que a abordagem da história institucional da CSN é feita a partir da ligação existente entre a criação da siderúrgica, o projeto industrializante empreendido pelo governo Vargas no decorrer das décadas de 30 e 40 e a conjuntura internacional desse período. São ressaltados pelos autores a intervenção e o papel empreendedor do Estado para promover o desenvolvimento industrial do país (justificado seja pelo nacionalismo, segurança nacional, independência econômica e/ou progresso) e a maneira como a CSN foi constituída em Volta Redonda, ou seja, além da siderúrgica também foi construída uma cidade em volta dela, sendo que as duas estavam intrinsecamente conectadas. Apesar de serem trabalhos que tem como foco principal a CSN, que retornam a período do surgimento da siderúrgica e reconstituem a história das suas origens institucionais e que chegam a mencionar a atuação de Macedo Soares (caso da dissertação produzida pelo historiador Alexandre de Sá Avelar), ressaltamos que os autores não trabalharam o diário escrito pelo engenheiro militar, quer dizer, o uso desse relato como fonte não é frequente.

Bibliografia metodológica

Depois de analisar a historiografia que aborda nosso tema utilizamos também outros trabalhos para examinar a trajetória institucional de Macedo Soares. Além de continuar tendo como referencial teórico o marxista João Bernardo, encontramos num

texto de Pierre Bourdieu considerações relevantes e que contribuíram para o estudo do objeto e da fonte histórica. Ao tratar sobre o que chama de ilusão biográfica Bourdieu demonstra a impossibilidade historiográfica de relatos como a biografia e a autobiografia. Essas "histórias de vida" costumam seguir uma ordem cronológica composta por acontecimentos que tentam se organizar em sequências inteligíveis, desconsiderando que o indivíduo está sujeito a diversas transformações e imprevistos, que existe uma realidade ao seu redor que lhe escapa e, às vezes, o impede de agir com controle ou vontade própria.

Pierre Bourdieu, ao criticar a biografia e a autobiografia, defende que tratar a vida como uma história, constituída por uma série de acontecimentos com determinada significação e direção é como se conformar com uma ilusão retórica. Uma vida não é um percurso linear e unidirecional, totalmente orientado e controlado, nem deve ser entendida como uma série única e suficiente por si mesma. E o indivíduo não tem que ser pensado linearmente, mas através de uma realidade que o escapa; ele está sujeito constantemente às determinações do campo, está determinado pelo campo. A sua realidade se insere em uma realidade que o ultrapassa, definindo-se pela institucionalidade a que está envolvido. Segundo Bourdieu

> (...) não podemos compreender uma trajetória (isto é, o *envelhecimento social* que, embora o acompanhe de forma inevitável, é independente do envelhecimento biológico) sem que tenhamos previamente construído os estados sucessivos do campo no qual ela se desenrolou e, logo, o conjunto das relações objetivas que uniram o agente considerado – pelo menos em certo número de estados pertinentes – ao conjunto dos outros agentes envolvidos no mesmo campo e confrontados com o mesmo espaço dos possíveis. Essa construção prévia também é a condição de qualquer avaliação rigorosa do que podemos chamar de *superfície social*, como descrição rigorosa da *personalidade* designada pelo nome próprio, isto é, o conjunto das posições simultaneamente ocupadas num dado momento por uma individualidade biológica socialmente instituída e que age como suporte de um conjunto de atributos e atribuições que lhe permitem intervir como agente eficiente em diferentes campos. (*apud*FIGUEIREDO & FERREIRA, 2006, p. 190).

Durante a pesquisa e análise da fonte percebemos que o percurso institucional de Macedo Soares obedece a uma lógica que o transcende e sobre a qual ele não teve controle. A atuação dele durante o processo de organização da CSN é marcada por

muitas situações sobre as quais não tinha domínio e que não dependiam exclusivamente das suas ações para se resolverem. Os relatos feitos no diário demonstram como o engenheiro militar ficava preocupado com o andamento e a demora no andamento das negociações para concessão do empréstimo, visto que o contexto histórico daquele momento era a Segunda Guerra Mundial, uma situação instável que poderia prejudicar o andamento das negociações; também é visível o seu esforço em convencer os responsáveis pelo financiamento de que a proposta de montagem da siderúrgica era viável e seu empenho em cuidar do projeto e a organização do funcionamento da siderúrgica.

As circunstâncias na qual se encontrava Macedo Soares nos mostram que ele estava determinado pelo campo institucional ao qual pertencia. Era um engenheiro militar, um gestor que participou do processo de organização e construção da CSN desde o início e que fazia parte de uma comissão brasileira cujo objetivo era tornar efetiva a montagem da siderúrgica. Ele precisava lidar com as contingências e procurar a melhor maneira de agir diante das situações que lhe eram colocadas, não como indivíduo em si mesmo, mas como indivíduo que estava circunstanciado pelos espaços institucionais que integrava e aos quais ele tinha que dar respostas.

A aflição com a concessão do financiamento e os imprevistos que surgiram, a preocupação com o tempo, com a execução do projeto e funcionamento técnico da usina, o cuidado com a escolha da firma de engenharia que prestaria serviço à companhia, participar das relações interinstitucionais entre o governo brasileiro e norte-americano, são resultados de uma lógica maior, da determinação de uma realidade que o ultrapassa. E é importante ressaltar que a atuação de Macedo Soares se destaca não pelo seu nome em si, pois o nome próprio somente tem relevância desde que esteja acomodado a uma superfície social, mas por causa do seu percurso institucional, da sua trajetória durante a constituição da CSN, como um dos principais organizadores da empresa.

Essas mesmas considerações podem ser feitas ao retomarmos as considerações feitas por João Bernardo acerca do gestor. Após estudarmos a bibliografia e, principalmente, analisarmos a fonte história, verificamos que nossa percepção acerca da desenvoltura institucional de Macedo Soares na organização interna da CSN foi reforçada, a saber, a trajetória desse engenheiro como sendo a de um gestor, de um

organizador e controlador do processo produtivo. Assim, a função exercida por ele não foi somente a de um técnico qualificado (engenheiro metalúrgico), foi a de um administrador do processo que culminou na criação da CSN.

Apresentação do diário de Macedo Soares (6 de agosto de 1940 – 24 de setembro de 1940)

Antes de apresentar o conteúdo da fonte histórica utilizada na pesquisa, faz-se necessário explicar a conjuntura do período em que ela foi produzida. O diário foi escrito na viagem feita aos Estados Unidos pela comissão siderúrgica brasileira criada na primeira metade da década de 40, cujos integrantes eram o industrial e banqueiro Guilherme Guinle, o engenheiro Ari Frederico Torres e o engenheiro militar Edmundo de Macedo Soares e Silva. A comissão chegou em julho de 1940, enviada pelo governo brasileiro, para cuidar do financiamento e da escolha dos escritórios que prestariam serviços à companhia. O conteúdo da fonte não mostra, mas o Eximbank (Banco de Exportação e Importação) concedeu um empréstimo de 20 milhões de dólares para financiar a montagem da usina[4] e a firma de engenharia Arthur G. Mckee foi escolhida para fornecer os engenheiros que participaram do processo e prestar a consultoria exigida pelo banco[5].

A fonte histórica analisada nos meses finais deste trabalho, o qual trata da história das origens institucionais da CSN, é um diário escrito pelo engenheiro militar Edmundo de Macedo Soares e Silva que, durante a sua permanência nos Estados Unidos, chefiou as negociações referentes à concessão do financiamento destinado a siderúrgica, organizou a montagem do escritório de engenharia que cuidaria do

[4]De acordo com o historiador norte-americano John D. Wirth, durante uma viagem para os Estados Unidos (1939) o Ministro das Relações Exteriores, Oswaldo Aranha, se reuniu com o presidente Roosevelt para discutir assuntos ligados às relações político-econômicas entre Estados Unidos e Brasil. Nesse momento, o ministro levantou a possibilidade de o governo norte-americano conceder créditos para construção de uma siderúrgica brasileira e, também, informou ao Banco de Exportação e Importação a intenção do Brasil em construir uma usina estatal. Ele argumentou que se o Brasil não conseguisse ajuda dos Estados Unidos seria obrigado a se voltar para a Alemanha (outro país com o qual o governo brasileiro manteve contato e negociações com algumas empresas do setor siderúrgico). Depois disso, o Banco apresentou uma promessa preliminar de que financiaria a montagem da siderúrgica. As negociações somente se efetivaram, com a concessão do empréstimo, em 1940.

[5] "Em meados do verão de 1940, os Estados Unidos se compenetraram de que – se não fornecessem imediatamente créditos para a (...) instalação da usina – os alemães o fariam. Em junho o problema brasileiro fora apresentado a Washington com toda a franqueza, e em fins de julho tiveram início as negociações. A missão brasileira com Guinle, Macedo Soares e Tôrres chegou a Washington em 25 de julho (...). As conversações produziram fruto: em fins de setembro o Banco de Exportação e Importação comprometeu-se a dar 20 milhões de dólares para uma usina inteiramente dos brasileiros. A pedra fundamental financeira era finalmente posta no lugar." (WIRTH, 1973, p. 97-98).

planejamento e construção da usina e resolveu questões relacionadas a estes dois objetivos. O diário foi aberto no dia 6 de agosto de 1940 e o último registro foi feito no dia 24 de setembro de 1940[6]; os relatos foram escritos em Nova York e Washington, cidades pelas quais passaram Macedo Soares e a comissão brasileira.

Considerando que nosso objetivo principal é fazer uma análise do documento citado acima, realizando um exercício de interpretação e questionamento e,tendo em vista a preocupação de tornar este texto compreensível e organizado, optamos, primeiramente, por fazer uma descrição detalhada do conteúdo narrado por Macedo Soares. Nos próximos parágrafos apresentamos um roteiro descritivo dos acontecimentos na sequência em que foram relatados e, também, das questões tratadas durante a viagem da comissão enviada pelo governo brasileiro aos Estados Unidos.

Logo que chegou a Nova York Macedo Soares acertou com Carlos Martins, embaixador do Brasil nos Estados Unidos, uma viagem para Washington a fim de iniciar os trabalhos da comissão. Em Washington ocorreu o primeiro contato com as autoridades norte-americanas que eram responsáveis pela concessão do financiamento necessário para a construção da siderúrgica; Jesse Jones[7]e Warren Lee Pierson[8]se reuniram com Macedo Soares e Guilherme Guinle e receberam, em um primeiro momento, uma documentação que veio com a comissão do Brasil e, posteriormente, os documentos elaborados pela comissão da firma Arthur G. Mckee.

Após receberem o apoio de Summer Weels[9], Ari Torres e Macedo Soares retornaram para Nova York e Guilherme Guinle permaneceu em Washington. Seis dias depois, Ari Torres e Macedo Soares estavam novamente na capital estado-unidense para terem uma segunda reunião somente com Jesse Jones; aparentemente, Guilherme Guinle, que também estava presente, preferiu se reunir sozinho com Jesse Jones a fim de poder conversar mais livremente.Guilherme Guinle informou a Macedo Soares,

[6] Apesar de o diário conter uma segunda parte, intitulada pelo autor de "Apontamentos", nos referimos, nesse trabalho, ao dia 24 de setembro de 1940 como sendo o último relato do nosso objeto de pesquisa em seu diário. Isto porque, na parte mencionada - que foi iniciada no dia 17 de novembro de 1985 e concluída no dia 10 de julho de 1986 - o conteúdo narrado não mais se refere aos acontecimentos relacionados à constituição e construção da CSN e nem a trajetória de Macedo Soares como organizador de todo este processo. Assim, no nosso entendimento, o conteúdo da parte "Apontamentos" não corresponde ao tema e ao recorte temporal da pesquisa; como um projeto de pesquisa obedece a um recorte temporal delimitado e a um tema específico, a segunda parte do diário foi lida detalhadamente, mas não foi analisada como fonte histórica e, portanto, não consta nesse texto.
[7] Administrador geral dos bancos de empréstimo do Estado.
[8] Presidente do Banco de Exportação e Importação (Eximbank).
[9] Subsecretário de Estado (Departamento de Estado).

depois da conversa com Jones, que este não leu os documentos que foram entregues por Ari Torres na semana anterior e também que não havia se surpreendido com o valor do empréstimo pedido pela comissão brasileira: 26.500.000 dólares (sendo que na primeira reunião o valor mencionado havia sido de 17.000.000 dólares).

Outra notícia passada por Guilherme Guinle foi que Jesse Jones informou que o crédito para os brasileiros somente poderia ser aberto se o Congresso votassepelo aumento do capital do Eximbank. Para Macedo Soares essa segunda entrevista não trouxe nenhum progresso em relação ao que já se sabia; ele demonstrou preocupação com o tempo, já que o contexto histórico daquele momento era a Segunda Guerra Mundial, uma situação instável que poderia prejudicar o andamento das negociações. Uma terceira reunião foi marcada entre Macedo Soares, Ari Torres e Warren L. Pierson; durante o encontro, Macedo Soares explicou o problema a ser resolvido de maneira geral e foi interrogado por Pierson.

Apesar da confiança de Guilherme Guinle em relação à concessão do empréstimo (Jones havia falado a ele que depois que o Congresso votasse a favor do aumento de capital do Eximbank, o financiamento iria ser concedido), Macedo Soares considerava que o pedido de empréstimo seria tratado depois da votação do Congresso e se este votasse em favor do aumento de capital do Eximbank. Um dia depois da terceira reunião, Macedo Soares e Ari Torres deixaram Washington; segundo o engenheiro militar não havia nada a fazer no momento e deveriam estabelecer contato com os fabricantes dos equipamentos e organizar as idéias da fase construtiva da usina.

Antes de voltar para Nova York, Macedo Soares foi informado por Herman Greenwood[10]que Pierson estava procurando um engenheiro para estudar o projeto da siderúrgica e negociando com uma empresa, a Bethlehem Steel[11], objetivando fazê-la se interessar pelo projeto. Segundo relatou o autor do diário, sua maior preocupação era fazer com que Jesse Jones se convencesse de que o propósito da comissão brasileira era honesto, mas estava difícil fazer isso porque Jones nunca perguntava nada; no dia

[10]Segundo Wirth, Greenwood foi presidente da subsidiária de exportações da U. S. Steel. A United States Steel era uma grande empresa norte-americana do setor siderúrgico que se interessou em participar do projeto siderúrgico brasileiro. Em maio de 1939, depois do contato de Oswaldo Aranha com o Eximbank, Macedo Soares viajou para os Estados com o objetivo de iniciar conversações com a U. S. Steel. A empresa chegou a enviar, em junho de 1939, uma missão técnica para estudar as condições do Brasil em relação a capacidade de construção de uma usina siderúrgica (reservas de minérios, carvão, ferrovias, técnicos qualificados). Contudo, a companhia desistiu das negociações, por motivos diversos.
[11]Wirth mostra que tanto a Bethlehem Steel quanto a Brassert (citadas no diário) foram empresas convidadas a estudar a questão siderúrgica brasileira.

seguinte, nosso engenheiro militar escreveu que acordou de madrugada e começou a pensar num esquema de construção e direção da usina que inspirasse confiança aos responsáveis pela concessão do financiamento (Pierson e Jones).

Em função disso, Macedo Soares formulou a idéia de organizar um conselho de engenheiros consultores[12], o qual poderia contribuir muito com os trabalhos da comissão brasileira. Em um almoço com Herman Greenwood, este comunicou ao nosso engenheiro militar e Ari Torres que a idéia do conselho era boa e possível e que iria indicá-la a Pierson para que ele seguisse este caminho. Também conversaram sobre uma possível obtenção de técnicos da U. S. Steel. Dois dias após esse encontro, Greenwood telefonou para Macedo Soares e informou que a U. S. Steel, através de Fairless[13], confirmou que iria fornecer técnicos, fazer contratos e achou prática a ideia do conselho.

Nesse dia, Macedo Soares relatou que esteve no escritório Bressert, o qual estava cuidando do programa de produção e do esquema financeiro da siderúrgica e do terreno de Volta Redonda. Oito dias depois, ele recebeu outra confirmação de Greenwood: o Eximbank contratou um técnico (um engenheiro, A. T. Keller) para estudar o relatório da comissão brasileira. Macedo Soares e Ari Torres viajaram pra Washington e se reuniram com ele; esse engenheiro trabalhou para a U. S. Steel e para a Bethlehem Steel e foi indicado ao Eximbank pelo presidente da Bethlehem, o qual era amigo de Jesse Jones e Warren L. Pierson. Durante a entrevista, Macedo Soares apresentou o problema brasileiro em linhas gerais e entregou as cartas geológica e geográfica do Brasil; ele reparou que Keller estava com os relatórios produzidos pelos técnicos da U. S. Steel (que estiveram no Brasil fazendo estudos, em 1939), com o seu relatório e com o da Mckee.

Enquanto Macedo Soares estava nessa reunião, Guilherme Guinle estudou com Pierson as condições financeiras, os juros e o prazo referentes ao empréstimo; ficou acertado o seguinte: o financiamento concedido seria de 15.000.000 de dólares se o aumento de capital do Eximbank não fosse aprovado e 20.000.000 de dólares caso fosse

[12]No modelo empresarial norte-americano, que o Brasil passaria a adotar, as empresas eram geridas por conselhos (board) diretivos; como havia uma parceria internacional de governo com governo (EUA-Brasil) e de governo com empresas (governo Vargas – Arthur G. Mckee), a organização da CSN teria que se dar sob a forma de um "board", com gestores brasileiros e norte-americanos.

[13] Não conseguimos encontrar na historiografia informações sobre Fairless. Sabe-se somente que ele tinha ligações com a U. S. Steel.

aprovado; os juros seriam de 4% e o prazo de 12 anos; sabia-se que 10.000.000 de dólares estavam à disposição da comissão brasileira, faltava somente oficializar isso. Nesse mesmo dia, em um almoço com Greenwood, Macedo Soares além de convidá-lo para fazer parte do conselho consultivo, pediu para que ele entrasse em contato com o engenheiro- chefe e com um importante técnico da U. S. Steel.

Depois de uma semana sem escrever, Macedo Soares voltou a demonstrar preocupação com o tempo em seu relato, agora por causa dos seguintes motivos: a morte do senador (relator do projeto de aumento de capital do Eximbank) num desastre de avião e o feriado do Dia do Trabalho, que paralisou as negociações e reuniões. Neste dia ele também relatou que durante uma conversa de Guilherme Guinle com Pierson e Jones estes confirmaram diante do embaixador as ofertas que foram feitas no dia 26 (mencionadas acima). Macedo Soares mencionou a elaboração de um projeto que continha sua compreensão acerca do andamento dos trabalhos, dentro da idéia do conselho, que foi já havia sido apresentado e entregue na forma de minuta para Guinle.

Este acrescentou a conversa com Pierson ao projeto, o qual depois de ser revisado pelo Departamento de Estado seria discutido com Jesse Jones. O trabalho também foi resumido e entregue ao chefeda divisão das Repúblicas da America Latina (Departamento de Estado), que conversou com o engenheiro militar sobre os detalhes do projeto e a organização do funcionamento da siderúrgica. Macedo Soares afirmou que seu objetivo nessa conversa era passar segurança em relação à execução do projeto e ao funcionamento técnico da usina.

Depois de oito dias, Macedo Soares volta para Nova York e faz um novo registro em seu diário, avaliando a semana que passou. Houve mais uma reunião de Guinle com Jesse Jones e este pediu a hipoteca da siderúrgica como garantia do financiamento; Guinle recusou e conseguiu convencê-lo de que as garantias do governo brasileiro e do Banco do Brasil seriam suficientes. Nessa reunião também descartou-se a possibilidade de associar uma companhia America à companhia brasileira eos nomes dos técnicos que iriam compor o conselho consultivo foram submetidos ao Eximbank, conforme fora exigido. Apesar da tentativa de se discutir os juros de 4% (empréstimo), Guinle deixou claro que esse valor já tinha sido combinado com Pierson. Segundo Macedo Soares, o empréstimo já estava garantido.

O aumento de capital do Eximbank foi aprovado pelo Senado e isso significava que o empréstimo seria concedido. Dois dias depois, Macedo Soares relatou que o aumento de capital ainda não era definitivo e que poderia demorar algum tempo[14]. Nesse mesmo dia, ele recebeu um telefonema de Guinle, que estava muito nervoso, informando que as negociações com o Eximbank estavam perdidas; contudo, ao viajar para Washington e reler o acordo feito com o banco Macedo Soares percebeu que não nada estava perdido.Durante essa viagem, o engenheiro militar também descreveu um conflito de opiniões ocorrido entre ele e Guinle acerca da condução das negociações com Jesse Jones.

Nos últimos dias de registro Macedo Soares escreveu sobre a possibilidade da Brassert ser a firma de engenharia que prestaria serviço para a companhia (a outra possibilidade era a Arthur G. Mckee). A planta e o planejamento feitos pela primeira firma foram entregues para estudo, embora Ari Torres se mostrasse contra, pois isso poderia representar um compromisso com a empresa. Argumentando que o fechamento com a Brassert somente seria feito por escrito, Macedo Soares pediu que o material lhe fosse entregue para estudo em caráter pessoal e não como membro da Comissão. Outro ponto relatado foi a aquisição que seria feita pela Brassert no Brasil: ela buscava ter como representante brasileira uma empresa da qual Guilherme Guinle era o maior acionista. A situação deixou Ari Torres preocupado (a situação poderia ser mal interpretada), mas Macedo Soares manteve-se firme e tranquilizou seu colega.

Em uma reunião feita após o regresso de Ari e Macedo Soares para Nova York, com o representante da Brassert, ficou decidido que a empresa não buscaria nenhuma representação no Brasil até que ficasse decidido qual seria a firma consultora. O engenheiro militar achou essa atitude um pouco indevida e somente o fez para transmitir segurança e apoio a Ari Torres. Chega-se ao dia do último relato. A situação é um pouco tensa, por causa da existência de uma possível associação brasileira com uma firma americana (pelo que é mencionado, parece ser com a U. S. Steel), do contexto de guerra e de uma reunião conflituosa ocorrida entre Jesse Jones e Guilherme Guinle (porque Jones quis elevar os juros e voltar atrás em decisões já tomadas).

[14] Alguns autores consideram que o empréstimo foi liberado pelo Eximbank após o governo brasileiro se alinhar aos Estados Unidos e se comprometer em cooperar com o país durante a Segunda Guerra.

Após estudar os rascunhos das cartas acertou-se alguns pontos e aprovou-se a minuta do telegrama que seria enviada pelo embaixador ao presidente. Ficou sugerido que nenhuma providência fosse tomada antes que o governo aprovasse o texto das cartas e que, depois do primeiro telegrama, fosse enviado um segundo com pedido de aprovação das condições estabelecidas. Macedo Soares considerou tudo isso demorado e escreveu que o melhor fosse que Guinle conseguisse agradar o contato que o ministro da Fazenda teria com o presidente no dia seguinte.

Este é o último relato feito no diário. Em fins de setembro o empréstimo é liberado e, após isso, Guilherme Guinle e Ari Torres retornam ao Brasil para dar continuidade nos trabalhos; o primeiro cuidou da estruturação da companhia e da definição de seu estatuto e, o segundo, organizou os escritórios da companhia no Rio de Janeiro e em Volta Redonda, onde permaneceu para cuidar da construção da usina. Macedo Soares ficou nos Estados Unidos até o final de 1941, para escolher os equipamentos e organizar os escritórios técnico e jurídico que prestariam assistência à companhia. Um decreto de janeiro de 1941 determinou a criação da CSN e autorizou a construção da siderúrgica; em abril do mesmo ano, foi realiza uma assembléia geral que definiu a companhia como sociedade de capital misto destinada à fabricação de aço e formou a primeira diretoria da empresa. A siderúrgica entrou oficialmente em funcionamento em outubro de 1946.

Conclusões e considerações finais

A fonte histórica analisa neste ano enriqueceu nosso trabalho. Ter a oportunidade de ler uma narrativa baseada na experiência vivida por Macedo Soares ampliou e corroborou o conhecimento que temos acerca do seu percurso institucional. Como a bibliografia consultada não menciona o diário, tivemos acesso a informações até então pouco conhecidas, como os detalhes das negociações e os conflitos que surgiram vez ou outra. A trajetória institucional de Macedo Soares ficou bem delineada, já que em seu relato conseguimos verificar que a sua atuação como organizador de um processo produtivo foi bastante significativa. Percebemos que ele não foi somente um técnico que fazia estudos, mas foi principalmente um negociador, um articulador das relações inter-institucionais entre Brasil e Estados Unidos e, também, na logística de montagem da siderúrgica, ao cuidar da escolha da firma de engenharia que trabalharia em conjunto com os técnicos brasileiros e dos equipamentos necessários à usina. Ele

demonstrou preocupação com a demora nas negociações com o Eximbank (causada pela votação do aumento de capital do Banco e ausência de uma confirmação por parte dos financiadores), participava das reuniões, se esforçava para convencer os responsáveis pela concessão do empréstimo de que o projeto da siderúrgica era seguro e viável, direcionava as ações de Ari Torres e Guilherme Guinle, pensou na organização de um conselho consultivo para adiantar os trabalhos. Sua situação institucional estava diretamente ligada à construção da CSN e suas ações eram pensadas dentro de uma realidade institucional que lhe escapava, buscando atender às demandas e contingências que seu papel de principal organizador da empresa lhe trazia.

Fonte

Edmundo Macedo Soares (manuscrito) – "Notas: negociações em Washington com o Export-Import Bank. 06 de agosto – 23 de setembro 1940. O nascimento de uma grande indústria" (28 p.). Arquivo CPDOC/FGV (Rio de Janeiro): EMS p: Soares, E, 000.00.00-53-1. Consultado em 19 de março de 2013.

Referências bibliográficas

BERNARDO, João. *Estado: a silenciosa multiplicação do poder*. São Paulo: Escrituras, 1998.

BOURDIEU, Pierre. A ilusão biográfica.In: *Usos e abusos da história oral.* FERREIRA, Marieta de Moraes & FIGUEIREDO, Janaína Amado (orgs.). Rio de Janeiro, FGV Editora, 2006.

CALIFE, Magali Nogueira da Silva. A relação capital – trabalho na gênese da CSN. *Dissertação Mestrado* em História, Universidade Severino Sombra, Vassouras, 2000, 128p.

MOREL, Regina. A construção da "família siderúrgica". Gestão paternalista e empresa estatal. In: *Trabalho e tradição sindical no Rio de Janeiro – a trajetória dos metalúrgicos.* RAMALHO, José Ricardo & SANTANA, Marco Aurélio (orgs.). Rio de Janeiro, DP&A, 2001.

PEREIRA, Sérgio Eduardo Martins Pereira. Sindicalismo e privatização: o caso da Companhia Siderúrgica Nacional. *Tese de Doutorado* em Sociologia, UFRJ, Rio de Janeiro, 2007, 282 p.

POSO, António Toledo. O processo de reestruturação da siderurgia mundial e brasileira – o caso da Companhia Siderúrgica Nacional. *Dissertação de Mestrado*. São Paulo: PPG – Geografia USP, 2007.

WIRTH, John D. *A política do desenvolvimento na era de Vargas*. Rio de Janeiro: Editora da FGV, 1973.

Pisos Intertravados com a incorporação de resíduos minerais

Rayane Lopes [a], Edgar Bacarji [b]

[a] orientanda, Escola de Engenharia Civil, hay_ray_2007@hotmail.com
[b] orientador, Escola de Engenharia Civil, edgarbacarji@hotmail.com

Resumo

Na britagem de rochas destinadas à produção de agregados para a construção civil, gera-se uma grande quantidade de resíduo (areia artificial e pó de brita). A areia artificial já é utilizada como agregado miúdo em substituição à areia natural, de rio. O pó de brita, ao contrário, permanece estocado nos pátios das empresas produtoras de agregados e a sua disposição inadequada pode causar problemas ambientais e à saúde humana. Buscando uma destinação técnica e ambientalmente correta para esse resíduo, estuda-se nessa pesquisa o efeito da sua incorporação nas propriedades mecânicas e de durabilidade de pisos intertravados. Foram analisadas as resistências à compressão aos sete, 28 e 90 dias e as absorções aos 28 dias. Foram estudados seis traços: um traço de referência 1:2 (cimento:agregados totais), sem adição de resíduo e outros cinco traços com substituição de 10% dos agregados totais pelo resíduo: 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 e 1:6. Avaliou-se também o efeito a adição de um aditivo plastificante nos traços referidos. Os resultados demonstraram que a incorporação do resíduo foi benéfica. O aumento de resistência verificado no traço 1:2 com resíduo em relação ao traço 1:2 sem resíduo foi de 20,6% aos sete dias e de 15,1% aos 28 dias. Quanto a absorção, não houve uma diferença significativa entre estes traços. Quanto ao aditivo plastificante, o seu efeito provocou significativos decréscimos de valores tanto nas resistências quanto nas absorções, em relação aos traços sem aditivos, especialmente nos traços onde houve maior consumo de cimento. Pela perspectiva da preservação ambiental os resultados também foram promissores haja vista que em todos os traços substituíram-se 10% dos agregados totais (areia e brita) pelo resíduo gerado na britagem das rochas.

Palavras-chave: resíduo de britagem, pó de brita, pisos intertravados, sustentabilidade.

1. Introdução

A indústria da construção civil é uma grande consumidora de recursos naturais, estima-se algo entre 20 e 50% do total de recursos naturais consumidos pela sociedade (Sjöström, 1996, apud Dal Molin et al., 2005, p. 345) e, consequentemente, uma grande geradora de resíduos. O concreto é o material construtivo mais utilizado pelo homem, sendo

Revisado pelo orientador.

parte desse material composto por agregados. Na fabricação desses agregados, resíduos são gerados. E cada vez mais há a necessidade de uma destinação adequada desses resíduos, sendo uma boa alternativa sua inserção na fabricação de novos produtos.

No atual padrão de consumo dos recursos naturais, novas alternativas e a busca por um desenvolvimento sustentável passa de um luxo ou uma propaganda para uma necessidade, principalmente na engenharia civil. E é dentro dessa busca que esse estudo avaliou a incorporação de um resíduo mineral em pisos intertravados de concreto.

O resíduo utilizado na pesquisa foi o pó de brita, um subproduto da britagem de rochas graníticas para a produção de agregados. Trata-se de um pó fino e inerte, sem atividade posolânica (fíler). Sua incorporação no concreto contribui para o melhor empacotamento das partículas, além do reaproveitamento de um material geralmente descartado, sem nenhum valor comercial.

Os pisos intertravados de concreto são um tipo de revestimento de pavimento, são peças pré-moldadas de concreto produzidas em escala industrial, que se tornaram uma alternativa eficaz na pavimentação de vias, estacionamentos e calçadas.

Com a reconstrução dos países arrasados pela Segunda Guerra Mundial, houve a necessidade de uma pavimentação rápida, com a fabricação industrial de peças pré-moldadas de concreto (PPC) (Abi-Ackel, 2009). Assim, substituíram-se outros tipos de revestimentos que foram usados anteriormente como blocos de tijolos de argila, pedras talhadas e blocos de madeira. Em meados da década de 1960, as PPC já estavam consolidadas comercialmente na América Central, América do Sul e África do Sul. (Purificação, 2009).

No começo da sua aplicação no Brasil, por não obedecer aos critérios mínimos necessários, a imagem dos blocos de concreto para pavimentação foi prejudicada. Enquanto isso, em outros países, sua utilização crescia, com um grande avanço tecnológico através do desenvolvimento de técnicas de dimensionamento, construção, novos formatos, aumento da resistência e durabilidade e avanços na normalização. Entre as vantagens e facilidade da utilização desse tipo de pavimento, segundo Hallack (2000), estão: versatilidade do material, facilidade de estocagem e homogeneidade, a imediata utilização do pavimento, mão de obra não especializada e baixo custo de manutenção.

Várias pesquisas já foram realizadas com a incorporação de diferentes resíduos em pisos intertravados de concreto, substituindo parte dos agregados ou parte do cimento.

Purificação (2009) estudou a substituição de parte do cimento por resíduo de polimento de porcelanato juntamente com o uso de agregados reciclados de concreto. Os valores obtidos no ensaio de compressão demonstraram que os pavers estudados apresentaram desempenho mecânico satisfatório, produzindo pavers com vantagens competitivas.

Gencel, Ozel (2011) estudaram os efeitos da substituição de parte dos agregados pelo resíduo do processamento de mármore, com a utilização de dois tipos diferentes de cimento, nas propriedades de pisos intertravados. Apesar de a resistência mecânica diminuir com o aumento do teor de resíduo, houve um aumento da durabilidade e resistência ao desgaste abrasivo, concluindo que tal resíduo pode ser usado como substituição parcial dos agregados convencionais.

Tavares e Franco (2012) estudaram a incorporação de resíduos de galvanoplastia, através da substituição parcial do cimento por dois resíduos (poeira de jateamento e lodo de galvanoplastia). Os pavers produzidos atenderam ao valor estipulado na norma brasileira de resistência à compressão para trafego de veículos leves, apesar de a resistência ter diminuído com o aumento da porcentagem substituída. Esses resíduos, tomados os devidos cuidados, demonstraram serem aceitáveis como matéria prima na construção civil.

2. Materiais e Métodos

Materiais

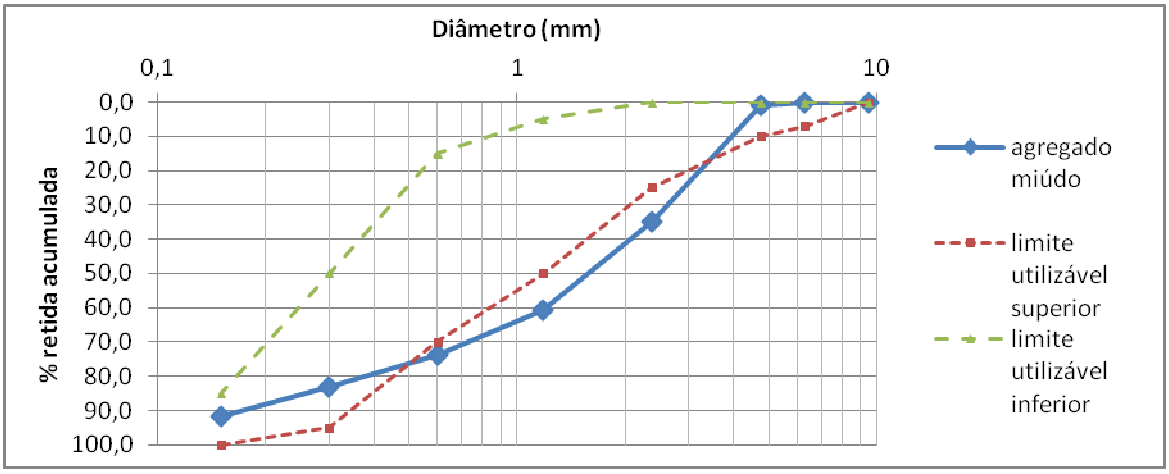
Na produção dos pisos intertravados de concreto, popularmente conhecidos como pavers, foram utilizados os seguintes materiais: cimento, agregado miúdo, agregado graúdo, fíler, água e aditivo plastificante.

O cimento utilizado foi o CP-II-F-32 com as seguintes características: índice de finura por meio da peneira 75 µm (nº 200) de 0,1%; área específica de Blaine 536 m²/kg; resistência média à compressão de 17.90, 24.60 e 38.00 MPa aos 3, 7 e 28 dias, respectivamente; inicio de pega aos 250 minutos (4 horas e 10 minutos) e fim de pega aos 330 minutos (5 horas e 30 minutos), e perda ao fogo de 12,52%. Todas essas propriedades do cimento atendem às exigências da norma ABNT NBR 11578: 1991 - Cimento Portland composto – Especificação, com exceção da perda ao fogo que deveria ser 6,5%.

Como agregado miúdo, foi utilizada areia artificial de granito com massa específica de 2.63 g/cm³, massa unitária de 1.58 g/cm³, módulo de finura (MF) de 3,45 e diâmetro máximo

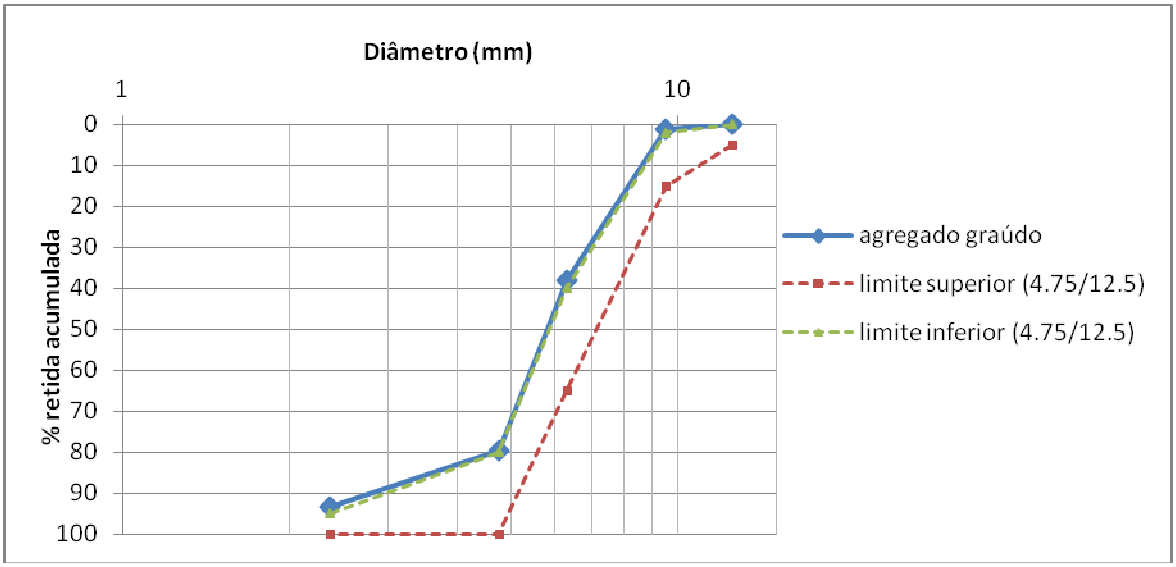
(Dmax) de 4,75 mm. A curva granulométrica da areia utilizada na pesquisa está apresentada na Figura 1. A areia não está dentro da zona utilizável, segundo a norma ABNT NBR 7211: 2009 - Agregados para concreto – Especificação.

Figura 1. Curva de distribuição granulométrica da areia artificial



O agregado graúdo utilizado foi brita de granito com massa específica de 2.61 g/cm³, massa unitária de 1.43 g/cm³, módulo de finura (MF) de 5,61 e diâmetro máximo (Dmax) de 9,5 mm. A curva granulométrica da brita utilizada na pesquisa está apresentada na Figura 2. Segundo a norma ABNT NBR 7211, a brita é classificada como 4.75/12.5, a brita conhecida popularmente como brita 0.

Figura 2. Curva de distribuição granulométrica da brita

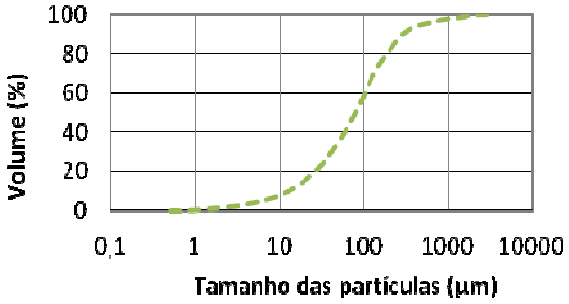


O fíler utilizado foi o pó de brita, como já foi dito anteriormente. Ele foi adicionado à mistura para contribuir com o fechamento do pacote granulométrico, preenchendo os vazios

deixados pelos grãos de areia e brita. A sua massa específica foi de 2,74 g/cm³. O tamanho da distribuição das partículas deste material está apresentado na Figura 3.

Para a caracterização mineralógica do pó de quartzo, foi realizado o ensaio de difração de Raios X. Os resultados demonstraram a presença dos minerais como: Stewartita, Quartzo, Ausmanita, Hematita, Butorita, Amesita, Microclíneo e Cianita. Assim, verificou-se que o material em estudo apresenta seus compostos na forma cristalina.

Figura 3. Tamanho da distribuição das partículas de pó de brita



As composições químicas do cimento e do pó de brita estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química do cimento e do pó de brita (%)

Constituintes	*Cimento*	*Pó. Quartzo*
CaO	56,15	2,36
SiO_2	14,83	64,36
SO_3	2,99	1,50
Al_2O_3	3,73	22,47
Fe_2O_3	3,22	3,31
SrO	-	-
K_2O	0,27	5,18
MgO	5,31	-
NaO_2	-	-
P_2O_5	0,86	-

Na segunda etapa da pesquisa, foi adicionado um aditivo comercial, para avaliar as propriedades do paver, principalmente em relação à absorção de água. O aditivo utilizado foi o Hagen DT Plus da Hagen do Brasil, um aditivo para blocos e pavers, biodegradável, com

função plastificante. Segundo a ficha técnica fornecida pelo fabricante, a sua densidade é 1,0 kg/L com pH 8,0, base química principal: surfactante à base de alquilsulfonado. As vantagens principais, segundo o fabricante, são facilitar a deforma das peças, aumento da resistência, melhora da aparência e redução do risco de fissuras. E como efeito secundário, aumenta a impermeabilidade.

Métodos

Os pavers foram produzidos em uma prensa hidráulica com capacidade de 8 tf, cedida pela empresa STC – Soluções para Construção Civil na cidade de Goiânia. As dimensões dos pavers foram de 12,5 cm x 25,0 cm, largura e comprimento, respectivamente. A sua altura variou de acordo com os traços e dependeu da capacidade de compactação do equipamento de prensagem, ficando em torno de 8 cm.

Buscando um melhor empacotamento de partículas, utilizou-se uma proporção entre os agregados de 48% de agregado miúdo e 52% de graúdo, proporção esta determinada num ensaio para determinação da maior massa unitária da mistura agregado graúdo e agregado miúdo. Para tanto, colocou-se num volume conhecido a brita e determinou-se a sua massa unitária inicial; a seguir, foram feitas substituições parciais de 2 em 2 % da brita pela areia. Após cada substituição o volume era colocado numa mesa vibratória por 2 minutos e determinadas as massas unitárias, até que este valor chegou ao seu valor máximo. Este valor foi determinado quando, ao se substituir parte da brita pela areia, a massa unitária se manteve constante. Foram adotados traços para estudo com as seguintes proporções cimento: agregados totais secos: 1:2; 1:3; 1:4; 1:5 e 1:6. Inicialmente, pensou-se em trabalhar com outros traços mais fracos (1:7; 1:8 e 1:9), porém a capacidade de prensagem do equipamento não foi suficiente para promover a coesão destes traços. Durante a fabricação do traço 1:6 (traço mais fraco estudado), os pisos já estavam quebrando muito ao serem retirados da prensa. Assim, foram estudados 6 traços no total, sendo um traço referência 1:2 (sem resíduo) e todos os outros traços tiveram uma substituição de 10% dos agregados totais pelo resíduo. As proporções dos traços estudados nessa pesquisa estão na tabela 2.

A pesquisa foi dividida em duas etapas, com os traços apresentados anteriormente, porém com diferenças no teor de água. Na primeira etapa, o teor de água adotado foi de 5% da massa total de materiais secos. Já na segunda etapa, onde se utilizou o aditivo plastificante, substituiu-se parte da água pelo aditivo, ficando assim um teor de água + aditivo de 5,4% em relação aos materiais secos. O aditivo plastificante foi utilizado na proporção de 1,5% em

relação à massa de cimento. Na apresentação e análise dos resultados, os traços da primeira etapa foram identificados com a sigla SA (sem aditivo) e os traços da segunda etapa com a sigla CA (com aditivo).

Tabela 2. Composição dos traços

Traço	cimento	agregado graúdo	agregado miúdo	pó de brita
1:2	1	1,04	0,96	-
1:2 R	1	0,94	0,86	0,20
1:3 R	1	1,40	1,30	0,30
1:4 R	1	1,87	1,73	0,40
1:5 R	1	2,34	2,16	0,50
1:6 R	1	2,81	2,59	0,60

Para cada traço, foram feitos 24 pavers, sendo 18 para ensaio de resistência à compressão (aos sete, 28 e 90 dias) e seis para ensaio de absorção de água (aos sete e 28 dias).

Visando a homogeneização dos agregados, procederam-se sua secagem e quarteamento. A quantidade necessária para fazer cada traço foi pesada e ensacada, como pode ser observado na figura 4. No preparo de cada traço, a mistura foi feita em uma betoneira com capacidade de 400 litros (figura 5), limpa e umidificada. Os materiais foram colocados na seguinte sequência: brita, areia, misturados por três minutos, acréscimo do resíduo e do cimento, misturados por mais três minutos e finalmente, acréscimo de água misturada até a verificação da homogeneização da mistura.



Figura 4. Materiais separados e ensacados



Figura 5. Betoneira utilizada

O concreto foi transferido para a prensa, onde os pisos foram moldados (figura 6). Após a prensagem os pisos foram estocados como mostra a figura 7, protegidos do sol e do vento. O procedimento de cura consistiu em aspergir água uma vez ao dia sobre os pisos, até o dia anterior aos ensaios.



Figura 6. Fabricação do piso



Figura 7. Local de cura dos pisos

Os ensaios realizados foram: resistência à compressão simples e absorção de água. Estes ensaios foram realizados no laboratório de materiais de construção da Escola de Engenharia Civil da UFG, seguindo-se os procedimentos da NBR 9781:2013 - Peças de concreto para pavimentação – especificação e métodos de ensaio.

No ensaio de resistência à compressão simples, os pisos foram capeados com argamassa dos dois lados do piso com espessura de cerca de 3 mm, coforme indicado na figura 8, e posteriormente rompidos na prensa hidráulica do laboratório, como mostra a figura 9.



Figura 8. Capeamento dos pavers



Figura 9. Ensaio com placas auxiliadoras de 90 mm

Quanto ao ensaio de absorção, primeiramente foi feita a secagem dos pavers: três corpos de prova de cada traço foram colocados em estufa com temperatura de 110 ± 5˚C por

24 horas (figura 10). Após a secagem, retiraram-se os corpos de prova da estufa e determinou-se sua massa seca (m1). Em uma segunda parte desse ensaio, os pavers foram saturados de água (figura 11), para determinação da massa saturada (m2). Após 24 horas imersos, eles foram retirados da água e pesados, como se indica na figura 12.



Figura 10. Pavers na estufa

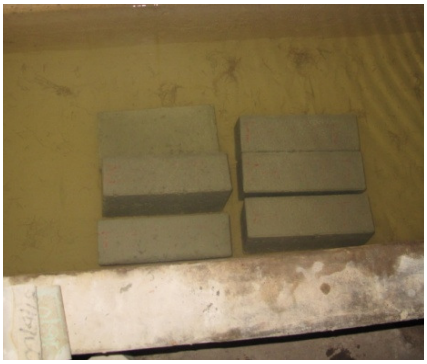


Figura 11. Saturação dos pavers



Figura 12. Pesagem dos pavers saturados

A taxa de absorção de água (A) é a razão entre a massa de água absorvida e a massa seca do paver, dada em porcentagem.

3. Resultados e Discussões

3.1. Primeira Etapa (resultados sem uso de aditivo plastificante)

3.1.1. Ensaio de Resistência a Compressão Simples

Os resultados estão apresentados nas tabelas 3, 4 e 5 com os valores individuais, médias e desvios padrões. Estes resultados estão sintetizados e nos gráficos das figuras 13, 14 e 15, para cada idade de ruptura. Cada barra representa a média das resistências dos seis

Tabela 3. Resultados ensaio de resistência à compressão – 7 dias

7 dias						
Corpo de prova	Traço					
	1:2 SA	1:2 R SA	1:3 R SA	1:4 R SA	1:5 R SA	1:6 R SA
1	10,14	10,45	10,22	8,88	7,86	7,47
2	10,61	13,83	11,95	9,59	9,04	7,23
3	9,82	11,00	10,37	8,17	8,88	7,07
4	10,14	12,03	10,14	-	7,55	5,42
5	10,30	13,75	10,92	-	8,80	6,60
6	10,85	13,52	10,37	-	7,86	7,07
Média	10,31	12,43	10,66	8,88	8,33	6,81
Desvio	0,37	1,48	0,69	0,71	0,65	0,74

Figura 13. Gráfico Resistência à compressão – 7dias

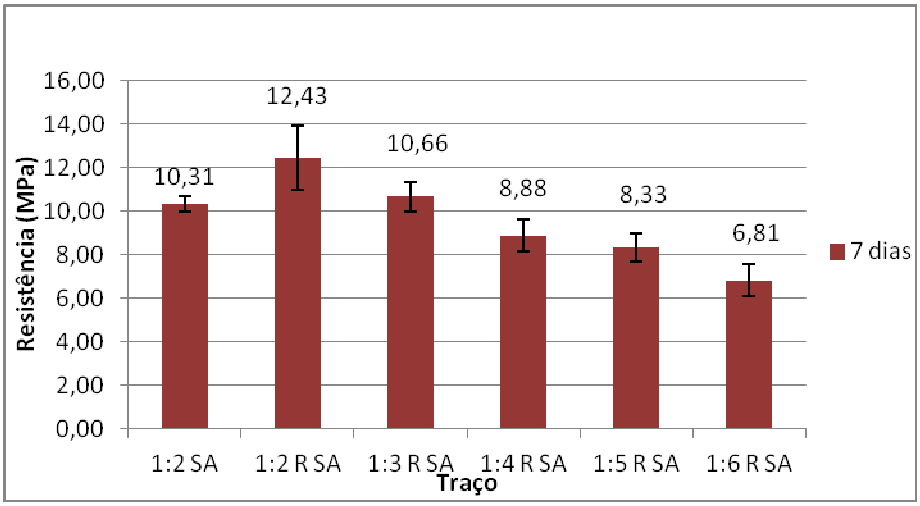


Tabela 4. Resultados ensaio de resistência à compressão – 28 dias

28 dias						
Corpo de prova	Traço					
	1:2 SA	1:2 R SA	1:3 R SA	1:4 R SA	1:5 R SA	1:6 R SA
1	15,56	15,40	14,85	12,34	10,69	8,96
2	15,88	19,02	14,62	12,10	10,53	9,90
3	15,72	15,88	15,56	12,58	9,59	8,65
4	16,33	19,49	15,56	12,26	9,90	8,33
5	15,22	17,92	15,64	12,42	10,06	6,44
6	13,60	18,47	14,85	12,58	9,75	7,86
Média	15,38	17,70	15,18	12,38	10,09	8,36
Desvio	0,95	1,68	0,45	0,18	0,44	1,16

Figura 14. Gráfico Resistência à compressão – 28 dias

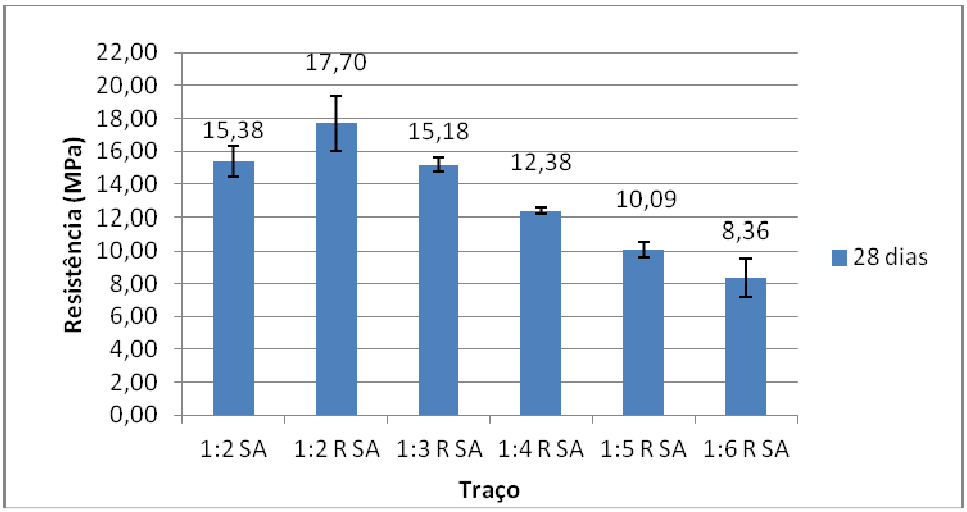
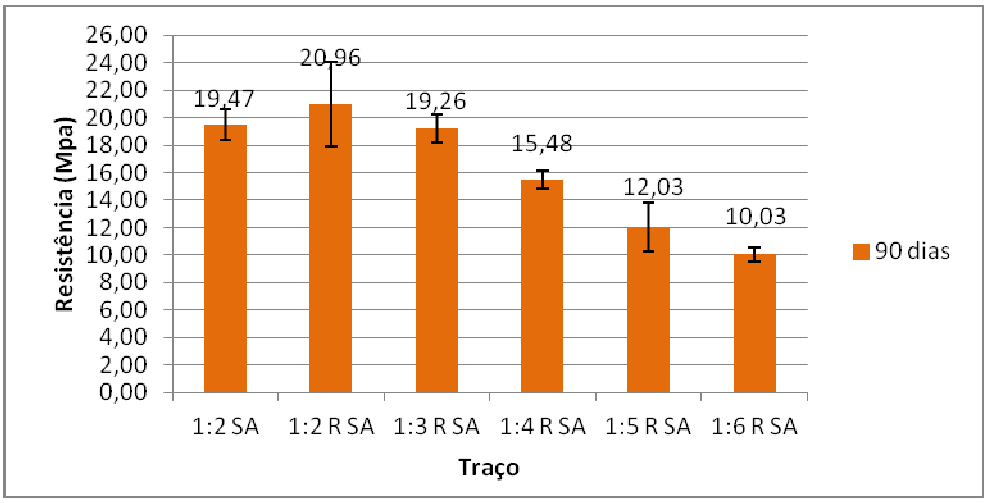


Tabela 5. Resultados ensaio de resistência à compressão – 90 dias

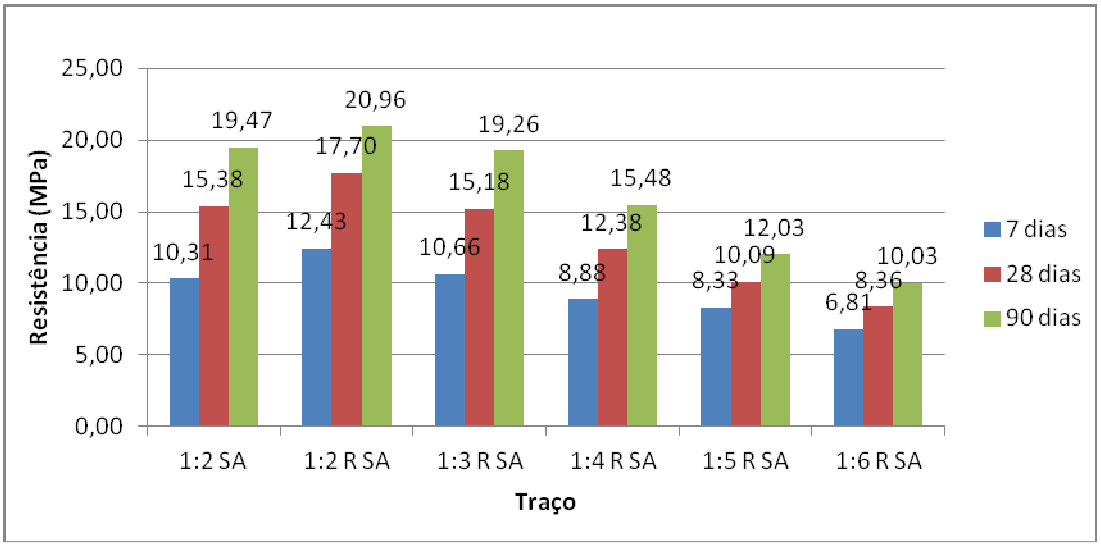
90 dias						
Corpo de prova	Traço					
	1:2 SA	1:2 R SA	1:3 R SA	1:4 R SA	1:5 R SA	1:6 R SA
1	20,12	24,99	19,81	14,70	13,05	9,43
2	19,02	19,18	17,29	15,40	13,99	10,53
3	19,33	17,45	19,33	15,48	13,36	9,43
4	18,23	22,64	19,18	14,93	9,43	10,53
5	21,38	23,26	19,65	16,66	11,79	9,90
6	18,71	18,23	20,28	15,72	10,53	10,37
Média	19,47	20,96	19,26	15,48	12,03	10,03
Desvio	1,13	3,08	1,04	0,69	1,77	0,52

Figura 15. Gráfico Resistência à compressão – 90dias



O gráfico da figura 16 apresenta o resumo dos resultados obtidos para a primeira etapa, com as resistências para todos os traços em todas as idades.

Figura 16. Gráfico Resistência à compressão – Resumo primeira etapa



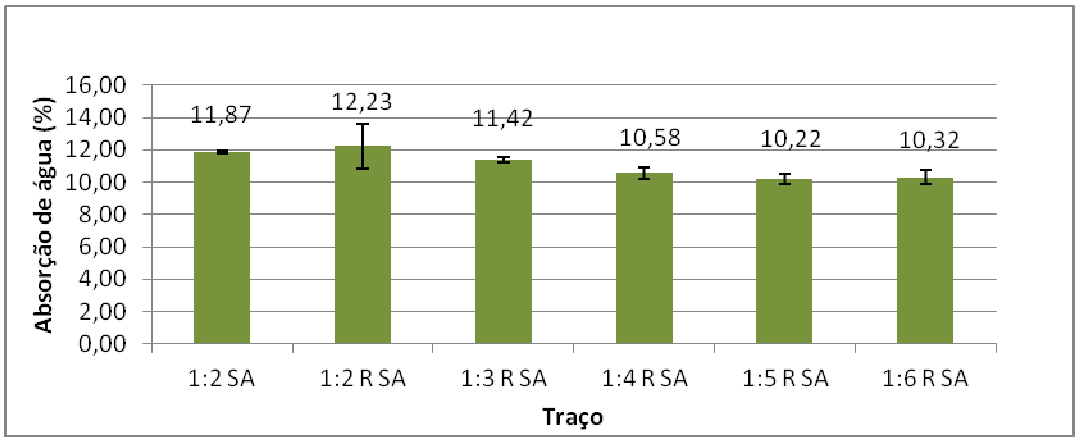
3.1.2. Ensaio de Absorção de água

Para a primeira etapa dessa pesquisa, esse ensaio só foi realizado aos 28 dias. Seguem os resultados nas tabela 6 e gráfico da figura 17, no mesmo padrão que os resultados anteriores.

Tabela 6. Resultados ensaio de absorção de água

Corpo de prova	Traço					
	1:2 SA	1:2 R SA	1:3 R SA	1:4 R SA	1:5 R SA	1:6 R SA
1	11,89	11,11	11,51	10,29	10,12	10,20
2	11,79	13,81	11,24	10,48	9,96	10,79
3	11,93	11,76	11,51	10,98	10,57	9,96
Média	11,87	12,23	11,42	10,58	10,22	10,32
Desvio	0,07	1,41	0,15	0,35	0,32	0,43

Figura 17. Gráfico Absorção de água – primeira etapa



3.2. Segunda Etapa (resultados com uso de aditivo plastificante)

3.2.1. Ensaio de Resistência à Compressão Simples

Seguem as tabelas 7, 8 e 9 e os gráficos das figuras 18, 19 e 20, com os resultados de 7, 28 e 90 dias, respectivamente.

Tabela 7. Resultados ensaio de resistência à compressão – 7 dias

7 dias						
Corpo de prova	Traço					
	1:2 CA	1:2 R CA	1:3 R CA	1:4 R CA	1:5 R CA	1:6 R CA
1	8.02	8.65	10.06	6.29	5.97	5.50
2	9.12	8.65	10.06	6.44	5.50	4.72
3	8.80	10.69	9.27	6.76	5.34	4.40
4	8.02	8.49	8.96	6.13	5.50	5.34
5	8.80	9.75	10.22	5.82	5.82	6.29
6	9.12	10.53	8.02	6.92	5.66	4.56
Média	8.65	9.46	9.43	6.39	5.63	5.13
Desvio	0.51	1.00	0.86	0.41	0.23	0.71

Figura 18. Gráfico Resistência à compressão - 7 dias

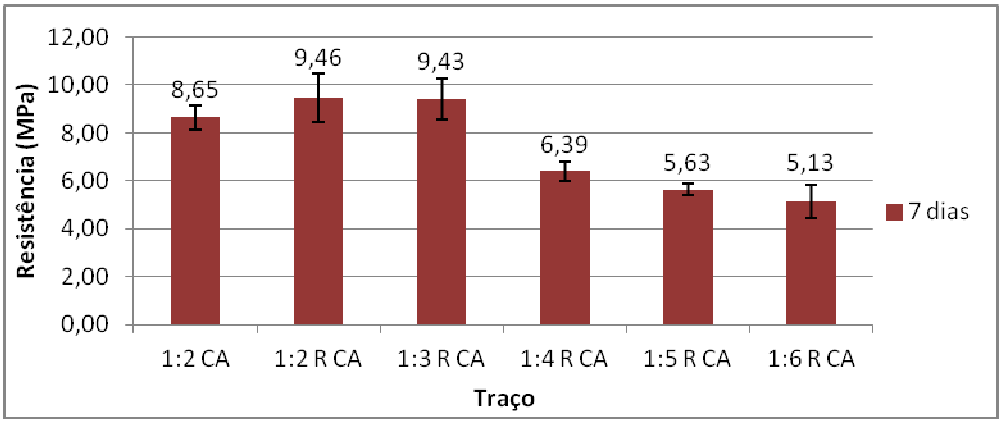


Tabela 8. Resultados ensaio de resistência à compressão – 28 dias

28 dias						
Corpo de prova	Traço					
	1:2 CA	1:2 R CA	1:3 R CA	1:4 R CA	1:5 R CA	1:6 R CA
1	8.17	9.75	10.37	8.96	9.75	9.59
2	7.86	9.43	8.65	6.60	7.86	8.65
3	7.07	9.59	10.53	5.66	9.12	7.70
4	7.70	9.27	10.06	7.70	6.60	8.96
5	7.39	8.80	10.69	8.17	9.90	10.06
6	6.92	8.49	10.53	9.59	9.43	9.43
Média	7.52	9.22	10.14	7.78	8.78	9.06
Desvio	0.48	0.48	0.76	1.46	1.29	0.83

Figura 19. Gráfico Resistência à compressão – 28 dias

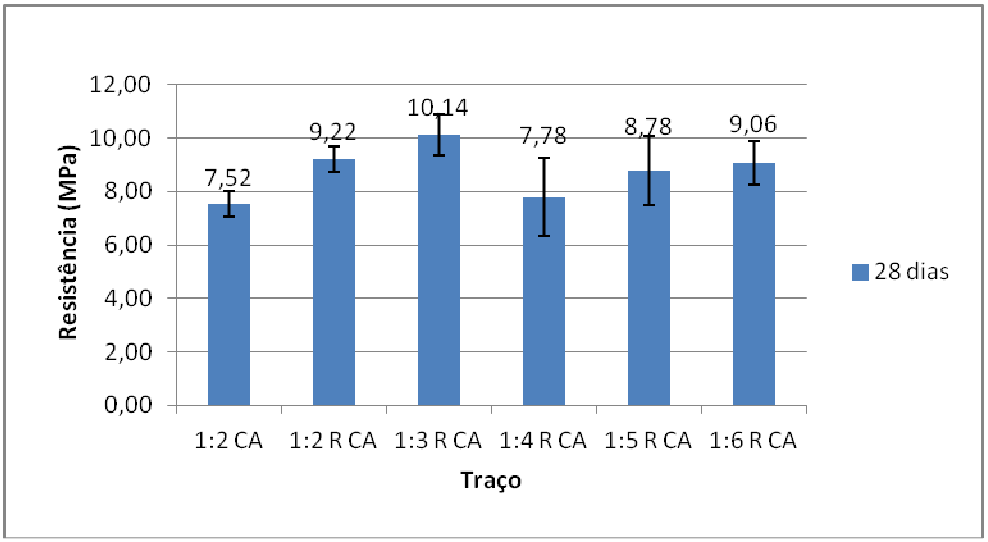
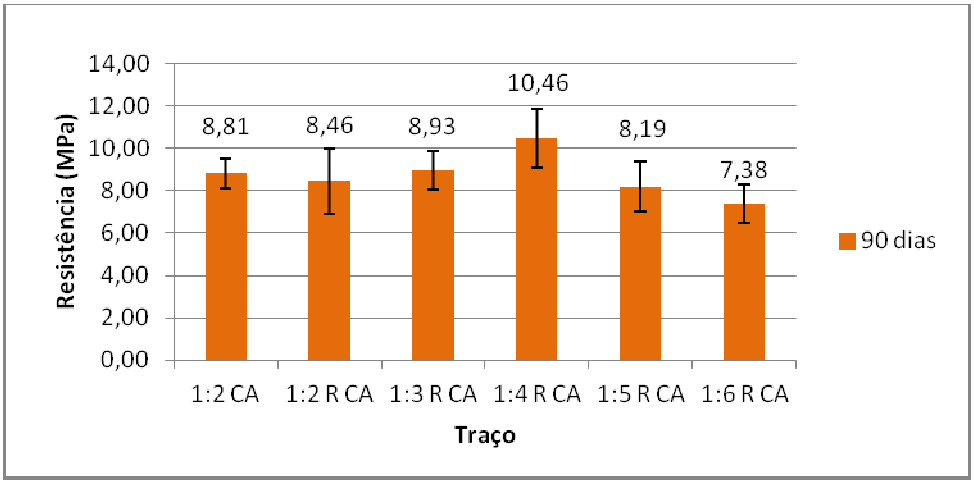


Tabela 9. Resultados ensaio de resistência à compressão – 90 dias

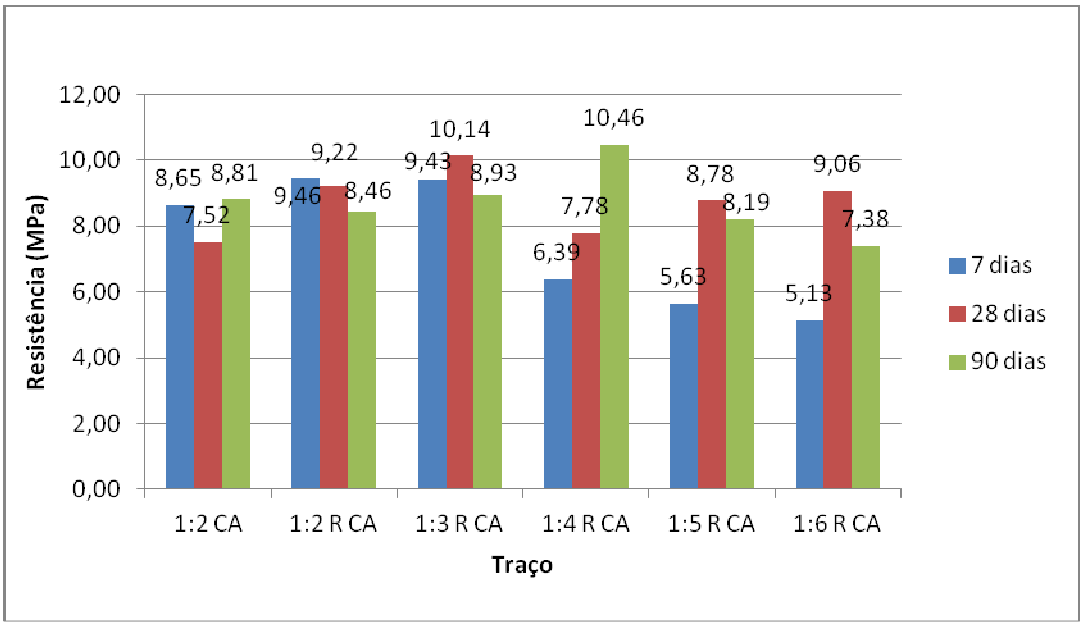
90 dias						
Corpo de prova	Traço					
	1:2 CA	1:2 R CA	1:3 R CA	1:4 R CA	1:5 R CA	1:6 R CA
1	8.81	7.05	8.28	11.10	8.11	6.70
2	10.04	8.46	10.57	12.34	6.60	6.76
3	8.99	9.69	8.99	10.93	7.70	6.44
4	8.28	6.17	8.46	10.22	8.17	7.86
5	8.64	10.04	8.11	10.04	8.33	7.70
6	8.11	9.34	9.16	8.11	10.22	8.80
Média	8.81	8.46	8.93	10.46	8.19	7.38
Desvio	0.69	1.55	0.90	1.41	1.17	0.90

Figura 20. Gráfico Resistência à compressão – 90 dias



O gráfico da figura 21 é um resumo dos resultados obtidos na segunda etapa, com as resistências para todos os traços em todas as idades.

Figura 21. Gráfico Resistência à compressão – Resumo segunda etapa



3.2.2 Ensaio de Absorção de água

Seguem as tabelas 10 e 11 e os gráficos das figuras 22 e 23 com os resultados aos sete e 28 dias, respectivamente.

Tabela 10. Resultados ensaio de absorção de água – 7 dias

7 dias						
Corpo de prova	Traço					
	1:2 CA	1:2 R CA	1:3 R CA	1:4 R CA	1:5 R CA	1:6 R CA
1	2.75	2.48	3.25	6.64	8.27	9.09
2	2.72	2.45	2.80	6.64	8.17	7.94
3	1.95	2.89	2.41	8.27	8.27	8.06
Média	2.47	2.61	2.82	7.18	8.24	8.36
Desvio	0.46	0.25	0.42	0.94	0.06	0.63

Figura 22. Gráfico Absorção de água – segunda etapa - 7 dias

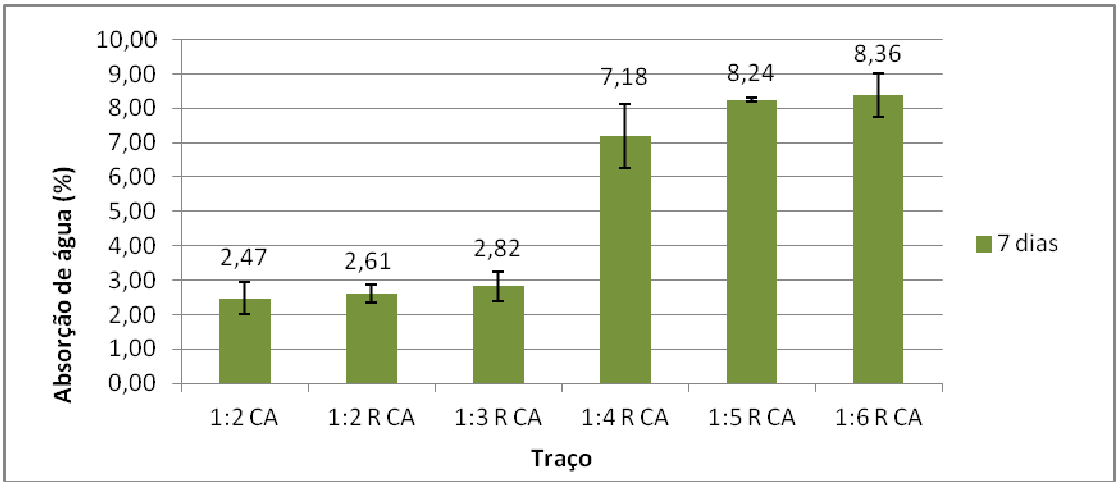
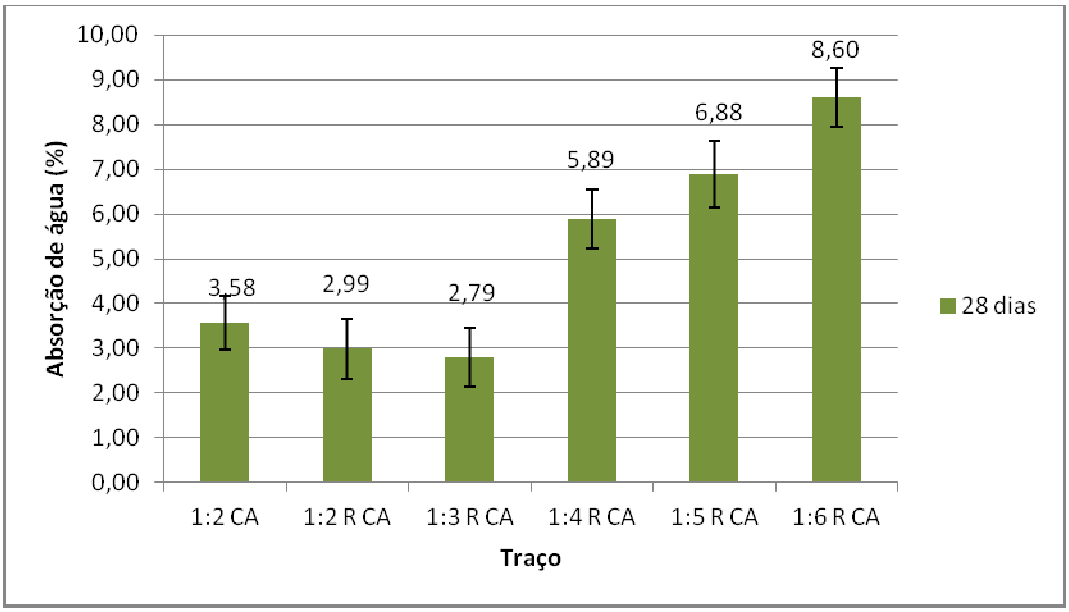


Tabela 11. Resultados ensaio de absorção de água – 28 dias

28 dias						
Corpo de prova	Traço					
	1:2 CA	1:2 R CA	1:3 R CA	1:4 R CA	1:5 R CA	1:6 R CA
1	3.08	3.70	3.15	6.64	6.30	7.87
2	4.23	2.38	3.19	5.49	7.72	9.13
3	3.42	2.88	2.04	5.53	6.61	8.80
Média	3.58	2.99	2.79	5.89	6.88	8.60
Desvio	0.59	0.67	0.65	0.65	0.75	0.65

Figura 23. Gráfico Absorção de água – segunda etapa - 28 dias



Analisando-se os resultados de resistência à compressão dos traços 1:2 e 1:2 R na maioria das idades com e sem o uso do aditivo, observou-se que a incorporação do resíduo promoveu uma tendência de ganho de resistência. E os resultados de absorção para os mesmos traços mostraram que essa incorporação não produziu uma mudança muito significativa no valor da absorção.

Pela NBR 9781: 2013, a resistência característica à compressão aos 28 dias de peças de concreto para pavimentação para tráfego de pedestre, veículos leves e comerciais de linha deve ser no mínimo 35 MPa. Os resultados obtidos foram bem abaixo dos exigidos por essa norma, porém o objetivo dessa pesquisa é analisar o efeito da incorporação do pó de brita nos pisos intertravados. Além disso, no quesito resistência, os pisos pesquisados poderiam ser usados em calçadas, para tráfego de pessoas. Nesse caso, um requisito importante do piso é sua resistência ao desgaste, resistência à abrasão, que nesta pesquisa não foi possível avaliar.

Todos os resultados de absorção sem o uso do aditivo ficaram acima do especificado pela NBR 9781: 2013. Segundo essa norma, o valor médio da absorção de água deve ser menor ou igual a 6%, não sendo admitido nenhum valor individual maior do que 7%.

Para diminuir essa grande absorção, usou-se um aditivo plastificante para concreto seco (Hagen DT Plus). Com o uso do aditivo, houve uma redução da resistência à compressão em todos os traços e idades. Também houve uma redução na absorção em todos os traços e todas as idades, sendo que para os traços 1:2 CA, 1:2 R CA e 1:3 R CA os valores ficaram abaixo do limite da norma NBR 9781: 2013. A redução da absorção foi mais expressiva para os traços mais ricos em cimento.

Conclusões

Com a incorporação do pó de brita nos pisos intertravados de concreto, observou-se uma tendência de ganho de resistência de cerca de 11%, sem uma grande variação da absorção de água.

Os resultados obtidos são promissores no sentido de dar uma destinação técnica e ambientalmente correta para esse resíduo, reaproveitando algo antes descartado sem uma perspectiva sustentável.

Em relação ao uso do aditivo, os resultados a princípio não confirmaram as vantagens relatadas na ficha técnica fornecida pelo fabricante. Como neste estudo utilizou-se um teor de

plastificante apenas de 1,5% em relação à massa do cimento, estes resultados não são conclusivos, sugerindo-se novos estudos com outros teores.

Referencias Bibliográficas

ABI-ACKEL, E. **Uso dos Resíduos da Construção Civil para a Produção de Pavimento Intertravado a Base de Concreto de Cimento Portland e Escória.** 2009. Dissertação (Mestrado em Construção Civil) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 11578: Cimento Portland composto – Especificação**. Rio de Janeiro, 1991.

_____ . **NBR 7211: Agregados para concreto – Especificação.** Rio de Janeiro, 2009.

_____ . **NBR 9781: Peças de concreto para pavimentação – especificação e métodos de ensaio.** Rio de Janeiro, 2013.

_____ . **NBR 9780: Peças de concreto para pavimentação – Determinação da resistência a compressão**. Rio de Janeiro, 1987.

_____ . **NBR 9781: Peças de concreto para pavimentação especificação.** Rio de Janeiro, 1987.

_____ . **NBR NM 52: Agregado miúdo - Determinação da massa específica e massa específica aparente.** Rio de Janeiro, 2009.

_____ . **NBR NM 53: Agregado graúdo - Determinação da massa específica, massa específica aparente e absorção de água.** Rio de Janeiro, 2009.

_____ . **NBR NM 45: Agregados - Determinação da massa unitária e do volume de vazios.** Rio de Janeiro, 2006.

_____ . **NBR NM 248: Agregados - Determinação da composição granulométrica.** Rio de Janeiro, 2003.

GENCEL, O.; OZEL, C. et al. **Properties of concrete paving blocks made with waste marble.** Journal of Cleaner Production, 2011.

HALLACK, Abdo. **Pavimento Intertravado: uma solução universal**. Revista Prisma, Dezembro 2001, pp 25-27.

INATITUTO BRASILEIRO DE CONCRETO - IBRACON. **Concreto: Ensino, Pesquisa e Realizações**. São Paulo, 2005.

PURIFICAÇÃO, E. **Estudo do uso de agregados reciclados de concreto e substituição do cimento por resíduo de polimento de porcelanato na produção de pisos intertravados de concreto.** 2009. Dissertação (Mestrado em Construção Civil) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2009.

TAVARES, C.; FRANCO, J. **Production of concrete paving blocks (CPB) utilising electroplating residues – Evaluation of mechanical and micro-structural properties.** The Canadian Journal of Chemical Engineering, 2012.

MODELANDO RESTRIÇÕES PRÁTICAS EM PROBLEMAS DE EMPACOTAMENTO

Aluna: Raínne Florisbelo Gonçalves*
Orientador: Thiago Alves de Queiroz**

RESUMO

Este trabalho investiga e formula, através de programação linear inteira, restrições de interesse prático, como critérios de empilhamento máximo de cada item, balanceamento de carga e critérios de estabilidade vertical encontradas em problemas de empacotamento. Essas restrições foram acopladas a um modelo linear inteiro previamente proposto para o problema da mochila ilimitada 2D. Codificados em linguagem C e com o auxílio do pacote de otimização CPLEX®, os modelos desenvolvidos apresentaram resultados satisfatórios, encontrando a solução ótima em um tempo de processamento aceitável.

Palavras-chave: Empilhamento Máximo, Balanceamento de Carga, Estabilidade Vertical, Problema da Mochila Ilimitada.

* Graduanda em Matemática Industrial
Departamento de Matemática
Universidade Federal de Goiás – Campus Catalão
Bolsista do PIBIC
e-mail: rainne.fg@gmail.com

** Professor na Universidade Federal de Goiás – Campus Catalão
Departamento de Matemática
Orientador do PIBIC
Doutor em Ciência da Computação
e-mail: th.al.qz@catalao.ufg.br

Revisado pelo orientador.

1 – INTRODUÇÃO

O problema da mochila (*Knapsack Problem*) pode ser exemplificado considerando uma pessoa que tem uma mochila de tamanho ou capacidade *b* e *n* diferentes itens a serem selecionados, sendo que o item *j* (*j* = 1, 2, ..., *n*) possui valor C_j e peso W_j. Essa pessoa precisa decidir se coloca ou não o item *j* na mochila sem exceder sua capacidade, mas obtendo o maior benefício possível (PIZZOLATO; GANDOLPHO, 2012).

Segundo Garey e Johnson (1979) o problema da mochila é *NP-Difícil*, o que significa que é pouco provável que exista um algoritmo de tempo polinomial que o resolva de forma ótima. Como comentado, o desafio é encher uma mochila sem ultrapassar um determinado limite de peso, otimizando o valor carregado. Mas, além do aspecto matemático, o problema em si pode ser usado para lidar com outros casos práticos incluindo o investimento de capital, carregamento de veículos e orçamento (GOLDBARG; LUNA, 2005).

Esse tipo de problema se encontra entre os problemas de empacotamento, presente no cotidiano das empresas principalmente em sua área de logística. Com o objetivo de obter o maior lucro possível, as empresas desejam encontrar a melhor maneira de empacotar seus itens dentro de caminhões, aviões, trens, visando atender restrições referentes à fragilidade, estabilidade e organização. Destaca-se que poucos trabalhos abordam e formulam essas restrições (JUNQUEIRA *et al*., 2012).

A solução do problema com restrições pode ser encontrada através de modelos de programação linear inteira (PLI), o qual é constituído por uma expressão linear, denominada função objetivo, e por um conjunto de expressões lineares, ou restrições, envolvendo as variáveis de decisão que são inteiras. Esse tipo de modelo representa matematicamente aquilo que se encontra na prática e poder ser adaptado de acordo com as mudanças no problema real.

Vale destacar que existem poucos trabalhos na literatura que modelam restrições do mundo real usando programação linear inteira. Alguns deles são Junqueira (2009), Queiroz e Miyazawa (2013) e Kalzuny e Shaw (2009). Um dos motivos é a dificuldade para modelar adequadamente as restrições, outro surge durante a resolução do problema, que contendo mais restrições, torna-se mais difícil de ser resolvido. Por isso, grande parte dos trabalhos não tratam restrições de interesse prático ou resolvem o problema com as restrições usando estratégias heurísticas.

O objetivo deste trabalho é estudar as restrições de empilhamento máximo de cada item, balanceamento de carga e critérios de estabilidade vertical de cada item, desenvolvendo equações em programação linear inteira para resolvê-las. Após serem formuladas, as restrições devem ser acopladas ao modelo de PLI desenvolvido para o problema da mochila

bidimensional ilimitada. As formulações das restrições são independentes do problema em questão. Com isso, podem ser facilmente estendidas para outros problemas de empacotamento e, assim, aumentar o horizonte de aplicações.

Cada restrição foi testada separadamente no problema da mochila. Para isto, foram usadas algumas das instâncias usadas por Birgin *et al.* (2010). Os resultados encontrados foram satisfatórios de forma que a solução ótima foi encontrada para várias instâncias em um tempo de processamento considerado aceitável para as aplicações práticas.

2 – O PROBLEMA DA MOCHILA ILIMITADA 2D

No problema da mochila bidimensional ilimitada deseja-se determinar como empacotar, em um recipiente 2D, um subconjunto de itens, dada uma lista com n tipos de itens, maximizando o valor total empacotado, sendo que cada item i posuui um valor vi. Para este caso, é possível empacotar ilimitadas cópias de cada item. É requerido que os itens não se sobreponham e devem respeitar as dimensões do recipiente.

A modelagem matemática deste problema parte da formulação de Beasley (1985), que desenvolveu um modelo de programação inteira 0-1 e um procedimento exato de busca em árvore para resolver tal problema. Junqueira (2009) também trabalhou com o modelo de Beasley (1985). Com isso, adaptou-se o modelo de Junqueira (2009), considerando-o com os *reduced raster points* de Scheithauer e Terno (1996). Estes permitem diminuir o número de variáveis e restrições do modelo com a possível diminuição no tempo computacional requerido. Segue o modelo para o problema da mochila em questão:

$$\text{Maximizar } \sum_{i=1}^{n} \sum_{p=0}^{L-li} \sum_{q=0}^{C-ci} vi * Xipq \qquad (1)$$

$$\text{Sujeito a: } \sum_{i=1}^{n} \sum_{p=0}^{L-li} \sum_{q=0}^{C-ci} Aipqst * Xipq \leq 1; \quad s = 0,..., L; t = 0,..., C \qquad (2)$$

$$Xipq \in \{0,1\}; \quad i = 1,..., n; p = 0,..., L; q = 0,..., C \qquad (3)$$

em que i é o índice para os tipos de itens; n é o número total de itens disponíveis; (L, C) representam a largura e comprimento, respectivamente, do recipiente e (li, ci) a largura e comprimento, respectivamente, do item i; vi é o valor do item i; p, s são os índices para as posições relacionadas à largura do recipiente (eixo x) em que os itens podem ser empacotados e q, t: índices para as posições relacionadas ao comprimento do recipiente (eixo y) em que os itens podem ser empacotados; $Aipqst$ é a função binária, que é igual a 1 se o item i, quando empacotado com seu canto inferior esquerdo na posição (p,q), não permite que outro item

qualquer ocupe a posição (*s*,*t*) dentro de *i*; caso contrário, é igual a 0 e X*ipq* é a variável de decisão que vale 1 se o item *i* estiver com seu canto inferior esquerdo na posição (*p*, *q*) e 0, caso contrário.

A função objetivo (1) visa maximizar o valor total empacotado dentro do recipiente. A utilização da função binária A*ipqst* permite a não sobreposição dos itens dentro do recipiente, conforme a restrição (2), indicando que cada ponto (*s, t*) do recipiente é coberto por no máximo um item *i* empacotado no ponto (*p, q*). Por fim, a restrição (3) diz que as variáveis são binárias. A Figura 1 representa o empacotamento de um item dentro do recipiente, que foi discretizado em uma malha de pontos.

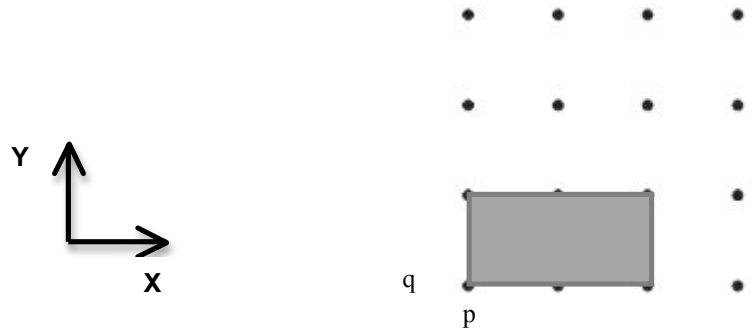


Figura 1. Malha de pontos com item (em cinza) empacotado com seu canto inferior esquerdo na posição (*p*,*q*).

Para considerar os *reduced raster points* no modelo (1) - (3), deve-se substituir $p = 0, ..., L$, por $p \in X'$ e $q = 0, ..., C$ por $q \in Y'$. Os conjuntos X' e Y' representam os *raster points* para a largura e o comprimento, respectivamente. Scheithauer e Terno (1996) define tais conjuntos como:

$$X' = \{<L - p> \mid p \in X\} \cup \{0\} \quad (4)$$

$$Y' = \{<C - q)> \mid q \in Y\} \cup \{0\} \quad (5)$$

sendo $<L - p> = \text{máx.}\{x \mid x \in X, x \leq L\text{-}p\}$ e $<C - q> = \text{máx.}\{y \mid y \in Y, y \leq C\text{-}q\}$. Um algoritmo para calcular estes conjuntos é apresentado em Queiroz *et al.* (2012). Também, não há garantias de sempre obter a solução ótima usando os *raster points* (BIRGIN *et al.*, 2010).

3 – RESTRIÇÕES PRÁTICAS

O planejamento e gerenciamento do transporte é uma atividade muito comum em diversas empresas, particularmente em indústrias que precisam atender a um conjunto de clientes fornecendo e/ou coletando diferentes tipos de produtos (RANCK; YANASSE, 2010).

Dessa forma, o estudo de restrições presentes na prática traz soluções que permitem obedecer às exigências e especificações de cada produto.

A partir da definição do problema e do modelo para sua resolução previamente propostos, pretende-se inserir restrições no mesmo abordando situações comumente encontradas na prática, como a rotação ortogonal dos itens, satisfazer critérios de empilhamento máximo de cada item, manter o balanceamento de carga e satisfazer critérios de estabilidade vertical para cada item.

3.1 – ROTAÇÃO ORTOGONAL DOS ITENS

Permitindo a rotação dos itens, conforme a Figura 2, o item rotacionado é considerado como um novo item e, assim, trata-se o problema como sendo de orientação fixa dos itens, sabendo que o item original e o correspondente rotacionado referem-se à mesma demanda, que neste caso é ilimitada.

Note que isto é possível pois o problema tratado é o da mochila que assume cópias ilimitadas para cada item. Essa restrição foi tratada, por exemplo, em Cintra *et al.* (2008) e Birgin *et al.* (2010).

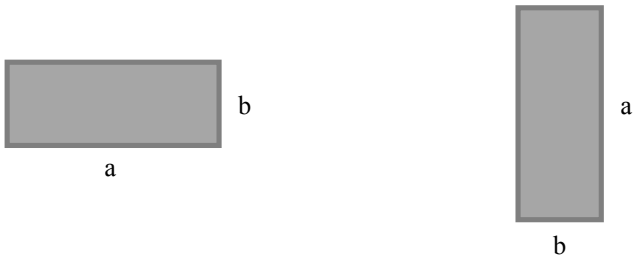


Figura 2. Possíveis orientações do item quando é permitida a rotação ortogonal.

3.2 – SATISFAZER CRITÉRIOS DE EMPILHAMENTO MÁXIMO DE CADA ITEM

Estabelecer um critério de empilhamento máximo para cada item evita que o mesmo sofra danos ou seja destruído devido a possíveis sobrecargas na pilha de items. De acordo com Junqueira *et al.* (2012), um item do tipo *i* deve ter um número máximo de itens colocados acima dele. Isto significa que a pressão total que tais itens exercem sobre o item *i* não pode exceder a pressão máxima que *i* suporta na sua superfície superior. Caso contrário o item *i* pode ser violado ou sofrer alguma deformação.

Note que qualquer ponto da face superior do item *i* suporta a mesma pressão admissível. Admite-se também que a pressão exercida por uma caixa do tipo *j* seja

uniformemente distribuída sobre sua face inferior. Observando a Figura 3, tem-se que itens colocados acima de um item exercem pressão sobre pontos da face superior deste item.

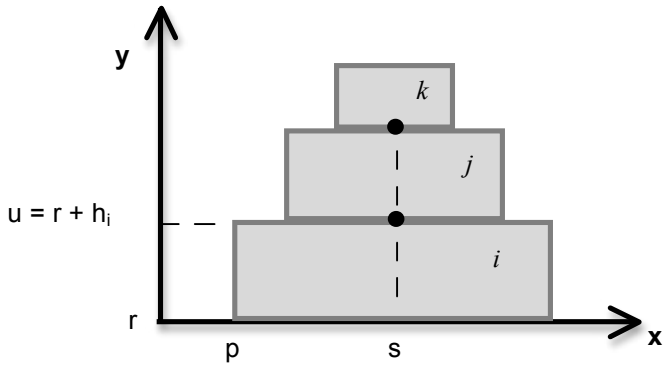


Figura 3. Itens empacotados sobre um item de referência

Esta restrição pode ser formulada da seguinte maneira, partindo do modelo apresentado em Junqueira *et al.* (2012):

$$\sum_{j=1}^{n} \sum_{\{p' \in X' | s-lj+1 \leq p' \leq s\}} \sum_{\{r' \in Y' | u+1 \leq r' \leq C-cj\}} Pj * Xjp'r' \leq \sum_{i=1}^{n} \sum_{\{p \in X' | s-li+1 \leq p \leq s\}} \sum_{\{r \in Y' | u-ci+1 \leq r \leq u\}} \sigma i * Xipr; \quad (6)$$

para todo $s \in X'$; $u \in Y'$.

tal que: *X'* é o conjunto de *raster points* na direção da largura; *Y'* é o conjunto de *raster points* na direção do comprimento; *Pj* é a pressão exercida pelo item *j*; σ_i é a pressão máxima admissível que pode ser suportada em qualquer ponto da face superior do item *i*.

Através dessa formulação é possível verificar, para cada ponto (*s, u*) do recipiente, se existe algum item do tipo *i* ocupando tal ponto. Se este for o caso, então, o lado direito da restrição será igual ao valor da pressão máxima admissível por *i*. O lado esquerdo da equação corresponde à soma da pressão exercida por todos os itens do tipo *j* empilhados acima da caixa do tipo *i*, que possuem contato, mesmo que indiretamente com *i*, como na Figura 3.

3.3 – BALANCEAMENTO DA CARGA

Controlar o balanceamento de carga tem como principal finalidade a segurança e maior eficiência durante o transporte das mercadorias. Por exemplo, se uma aeronave tem um carregamento inadequado, isso pode afetar sua eficiência em relação à velocidade, manobras, razão de subida e consumo de combustível (KALZUNY; SHAW, 2009).

O centro de massa (que coincidirá com o centro de gravidade) é o ponto onde todo o peso do objeto pode ser concentrado (HIBBELER, 2010). O objetivo é que o centro de gravidade do empacotamento final esteja em uma *região de segurança* dentro do recipiente.

Em alguns casos, esta região se resume ao ponto médio geométrico do recipiente.

A partir disso, tem-se a seguinte formulação adaptada de Queiroz e Miyazawa (2013):

$$\frac{\sum_{i=1}^{n}\sum_{\forall p \in X}\sum_{\forall r \in Y} mi\left(p+\frac{li}{2}\right)Xipq}{\sum_{i=1}^{n} mi} \geq Xstart \quad (7)$$

$$\frac{\sum_{i=1}^{n}\sum_{\forall p \in X}\sum_{\forall r \in Y} mi\left(p+\frac{li}{2}\right)Xipq}{\sum_{i=1}^{n} mi} \leq Xend \quad (8)$$

em que: *mi* representa a massa do item *i*; *Xstart* e *Xend* compreendem o intervalo, no eixo *x* – largura do recipiente, em que se deseja manter o centro de gravidade do empacotamento.

As equações (7) e (8) asseguram que o empacotamento final envolvendo os itens tenha sua coordenada *x* do centro de gravidade entre os valores de *Xstart* e *Xend*. Esta formulação refere-se à largura do recipiente. Para o comprimento, eixo *y*, a formulação ocorre de forma análoga, alterando apenas o que retrata de largura para comprimento e definindo um intervalo em relação ao eixo *y*: *Ystart* e *Yend*.

Conforme a Figura 4, considerando-se *Xstart*, *Xend*, *Ystart* e *Yend* iguais a 0,5, tem-se que o centro de gravidade do empacotamento resultante deve coincidir exatamente com o centro geométrico do recipiente. Entretanto, conforme esses valores são alterados, o centro de gravidade pode pertencer a uma região maior.

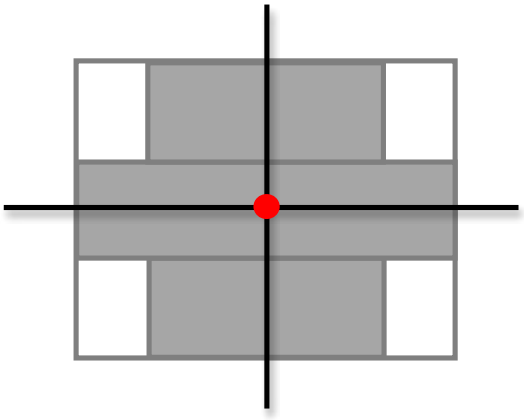


Figura 4. Representação do centro de gravidade para *Xstart*, *Xend*, *Ystart* e *Yend* iguais a 0,5.

3.4 – CRITÉRIOS DE ESTABILIDADE VERTICAL

A estabilidade vertical está relacionada à capacidade dos itens, em um carregamento, permanecerem parados mesmo com a atuação da aceleração da gravidade sobre seus corpos. Conforme a Figura 5, pode-se "mapear" o conjunto de pontos que um determinado item pode "oferecer" para suportar itens colocados imediatamente sobre sua face superior.

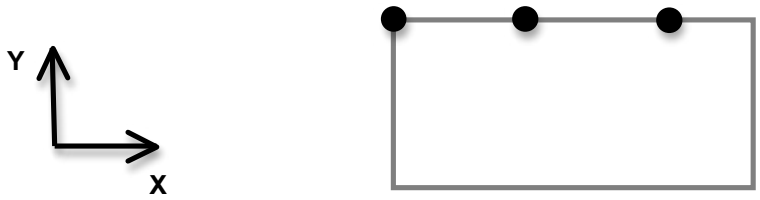


Figura 5. Mapeamento do conjunto de pontos da face superior do item.

Partindo de Junqueira (2009), isto conduz a seguinte restrição de estabilidade vertical:

$$\sum_{\{i=1,\ldots,n|r'-ci\geq 0\}} \sum_{\{p \in X'|p'-li+1\leq p\leq p'+lj-1\}} Lij * Xip(r' - ci) \geq \alpha * lj * Xjp'r' \quad (9)$$

; para todo $j = 1, \ldots, n$; $p' \in X'$; $r' \in Y'$.

em que, Lij = min (p + li, p' + lj) – max(p, p') define o ponto inicial que i suporta a face inferior de j; α é o parâmetro de estabilidade vertical, que varia de zero a um indicando o percentual de estabilidade vertical que se deseja para todos os itens. Se α for um, então os itens devem ter suas faces inferiores totalmente suportadas.

A equação (9) diz que toda caixa j, que não está diretamente suportada pelo solo, deve ter α(%) da área de sua face inferior suportada por caixas do tipo i imediatamente abaixo e em contato direto com j.

4 – TESTES COMPUTACIONAIS

Os testes foram realizados com algumas das instâncias também utilizadas por Birgin *et al.* (2010) e disponíveis em repositórios da Internet.

O modelo proposto para o problema da mochila e para as restrições foram codificados na linguagem C. Os testes foram executados considerando cada restrição separadamente. Os modelos de programação inteira foram resolvidos por meio do pacote ILOG® CPLEX® 12 Callable Library (IBM, 2009). Limitou-se o tempo de resolução do modelo em 3600 segundos para cada instância.

O computador usado tem processador Intel® Xeon® 2,40 GHz, memória de 8 GB e sistema operacional Linux.

4.1 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nas Tabelas de 1 a 4, apresentamos os resultados para os testes sem restrição, com a restrição de rotação ortogonal dos itens, empilhamento máximo e balanceamento de carga, respectivamente.

Em cada linha das tabelas, tem-se o nome da instância, a solução ótima encontrada e o tempo computacional gasto (em segundos) para a dada restrição sob consideração. Apenas na Tabela 1, para o caso sem restrições, os resultados foram comparados com os resultados obtidos pelos algoritmos heurísticos *Five-Block* e *L-Agorithm* de Birgin *et al.* (2010). Assim, a Tabela 1 apresenta também a solução encontrada por estes algoritmos e o respectivo tempo computacional em segundos. Para as demais restrições, não foi feita comparação com outros trabalhos, pois não foi encontrado na literatura resultados envolvendo tais relacionadas com o problema da mochila ilimitada na sua versão bidimensional.

Em alguns casos, a resolução das instâncias (marcadas com *) tornou-se inviável, pois o programa abortou durante a resolução por falta de memória, dada a extensão da instância, ou por atingir o limite de tempo de 3600 segundos sem alcançar qualquer solução viável.

Tabela 1: Resultados obtidos resolvendo apenas o modelo do problema da mochila em questão.

Instância	**Solução**	**Tempo (s)**	**Birgin *et al.* (2010)**			
			Five-block Algorithm		***L-Algorithm***	
			Solução	**Tempo (s)**	**Solução**	**Tempo (s)**
GCUT1	58 480	0,02	58 480	0,00	58 480	0,72
GCUT2	61 146	2,01	61 146	0,00	61 146	0,96
GCUT3	61 275	29,41	61 275	0,02	61 275	4,21
GCUT4	*	*	61 918	0,06	61 918	2,22
GCUT5	246 000	0,03	246 000	0,00	246 000	0,67
GCUT6	243 598	0,42	243 598	0,00	243 598	0,74
GCUT7	244 306	0,93	244 306	0,00	244 306	0,92
GCUT8	*	*	247 815	0,10	247 815	32,57
GCUT9	971 100	0,01	971 100	0,00	971 100	0,68
GCUT10	982 025	0,37	982 025	0,00	982 025	0,76
GCUT11	980 096	6,14	980 096	0,00	980 096	1,92
GCUT12	979 986	231,92	979 986	0,06	979 986	16,95
M1	15 073	4,51	15 054	0,00	15 073	1,13
M2	73 255	96,39	73 255	0,04	73 255	7,90
M3	147 386	1,21	147 386	0,00	147 386	1,10
M4	266 233	0,44	266 233	0,00	266 233	0,76
M5	579 883	0,88	579 883	0,00	579 883	1,08
MW1	3 882	0,81	3 882	0,00	3 882	1,22
MW2	24 950	8,84	24 950	0,01	24 950	6,17
MW3	37 068	1,26	37 068	0,00	37 068	1,01
MW4	59 576	6,19	59 576	0,00	59 576	1,07
MW5	189 924	0,74	189 924	0,00	189 924	0,94

Observando a Tabela 1, percebemos que, das 22 instâncias consideradas, o modelo proposto encontrou a solução ótima para 20 delas, sendo que para a instância M1 apresentou solução melhor que o *Five-Block Algorithm* de Birgin *et al.* (2010).

O tempo médio para resolução das instâncias foi de 25,34 segundos. Os algoritmos *Five-Block* e *L* alcançaram as soluções numa média de 0,29 e 8,09 segundos, respectivamente. Apesar do modelo não apresentar a mesma rapidez que os algoritmos heurísticos, algumas instâncias foram resolvidas, no pior caso, em 231,92 segundos. Este tempo de processamento é considerado aceitável para as aplicações práticas. Além disso, os algoritmos de Birgin *et al.* (2010) são heurísticas, portanto não garantem a solução ótima.

Tabela 2: Resultados considerando a restrição de rotação ortogonal dos itens.

Instância	Solução	Tempo (s)
GCUT1	58 480	0,29
GCUT2	*	*
GCUT3	*	*
GCUT4	*	*
GCUT5	246 000	6,25
GCUT6	243 598	21,89
GCUT7	*	*
GCUT8	*	*
GCUT9	971 100	1,31
GCUT10	982 025	11,45
GCUT11	*	*
GCUT12	*	*
M1	**15 572**	717,29
M2	*	*
M3	**148 686**	64,93
M4	**273 991**	499,53
M5	*	*
MW1	**3 916**	73,74
MW2	*	*
MW3	**40 323**	62,46
MW4	**64 824**	645,98
MW5	*	*

Considerando a rotação ortogonal dos itens, o modelo proposto encontrou solução para 11 das 22 instâncias consideradas, com média de tempo de processamento igual a 195,56

segundos. Esse aumento, comparado ao tempo da Tabela 1, ocorre naturalmente, pois ao rotacionar os itens, aumenta-se o número de variáveis e restrições no modelo, bem como o número de combinações para empacotar cada item.

Permitindo a rotação ortogonal dos itens, obteve-se soluções com valor maior e melhor ocupação do recipiente, o que foi observado para seis instâncias ao comparar com o caso sem rotação. Veja as instâncias em negrito na Tabela 2.

Pela Tabela 3 percebemos que o modelo proposto para a restrição de empilhamento máximo de cada item encontrou solução para 20 das 22 instâncias consideradas. As únicas instâncias sem solução foram GCUT4 e GCUT8 pela sua extensão. O mesmo aconteceu para os casos sem rotação e rotação ortogonal dos itens.

Tabela 3: Resultados obtidos considerando critérios de empilhamento máximo de cada item

Instância	Solução	Tempo (s)
GCUT1	56 460	0,03
GCUT2	60 536	26,96
GCUT3	61 036	364,27
GCUT4	*	*
GCUT5	246 000	0,23
GCUT6	238 998	4,47
GCUT7	242 567	24,85
GCUT8	*	*
GCUT9	971 100	0,10
GCUT10	982 025	2,98
GCUT11	980 096	73,46
GCUT12	979 986	2347,65
M1	15 024	15,04
M2	72 708	246,55
M3	142 817	23,63
M4	265 768	2,03
M5	612 436	4,04
MW1	3 882	4,22
MW2	24 950	48,47
MW3	37 068	9,78
MW4	59 576	6,98
MW5	189 924	3,95

Observa-se ainda na Tabela 3 que para oito instâncias, a solução encontrada apresenta valor menor que aquele presente na Tabela 1. Isso ocorre pelo fato da restrição de

empilhamento máximo restringir o tamanho da pilha de itens de acordo com a pressão máxima que cada item suporta acima dele. O tempo computacional gasto também aumentou, com o pior resultado para a instância GCUT12 consumindo quase 2.400 segundos. Por outro lado, 16 instâncias foram resolvidas em menos de um minuto, cada uma.

Vale comentar que para efeito dos testes computacionais, assumiu-se que a pressão admissível σ_i do item i é igual a sua área (largura *x* comprimento), enquanto que a pressão *Pj* exercida pelo item *j* corresponde ao seu peso (que é igual a sua área) distribuído sobre sua largura. Estes valores foram obtidos a partir de testes de calibração e permitiram melhores resultados (em valor de solução e tempo) durante a resolução das instâncias.

Na Tabela 4 são apresentados os resultados considerando o balanceamento de carga no modelo. Para os testes, assumiu-se que o centro de gravidade deveria ficar dentro da região delimitada por *Xstart*: 30% da largura do recipiente, *Xend*: 70% da largura do recipiente, *Ystart*: 30% do comprimento do recipiente e *Yend*: 70% do comprimente do recipiente.

Tabela 4: Resultados considerando o balanceamento da carga.

Instância	Solução	Tempo (s)
GCUT1	0	0,02
GCUT2	0	0,12
GCUT3	0	1,40
GCUT4	*	*
GCUT5	0	0,04
GCUT6	0	0,02
GCUT7	0	0,16
GCUT8	*	*
GCUT9	0	0,02
GCUT10	0	0,04
GCUT11	0	0,56
GCUT12	0	7,19
M1	15 073	8,83
M2	72 708	106,32
M3	147 386	1,69
M4	0	0,27
M5	612 436	1,37
MW1	3 882	1,14
MW2	24 950	12,99
MW3	37 068	1,33
MW4	59 576	2,15
MW5	189 924	1,25

Observando a Tabela 4, tem-se que apenas 9 das 22 instâncias consideradas foram resolvidas. Apenas para a instância M2 que houve diferença no valor da solução (valor pior) ao comparar com os dados da Tabela 1. Duas instâncias, GCUT4 e GCUT8, não foram resolvidas devido a grande extensão das mesmas. O tempo computacional foi relativamente baixo. No pior caso, igual a 106 segundos para obter uma solução (veja a instância M2). As instâncias que possuem valor de solução igual a zero são aqueles cujo modelo não conseguiu encontrar uma solução considerando os parâmetros usados para delimitar a região do centro de gravidade.

Em outras palavras, o uso dos *raster points* não garantem a obtenção da solução ótima. E, ao usá-los na restrição de balanceamento de carga, tem-se que não é possível empacotar um subconjunto de itens da instância de entrada de modo que o centro de gravidade do empacotamento resultante fique dentro da região informada.

Uma alternativa para contornar este problema é relaxar os valores dos parâmetros *Xstart*, *Xend*, *Ystart* e *Yend* de forma a aumentar o tamanho da região. Outra opção seria usar o conjunto de pontos de discretização de Herz (1971), porém mesmo assim não se garantiria a obtenção de uma solução, como já discutido por Queiroz e Miyazawa (2013).

No caso do critério de estabilidade vertical, os testes foram feitos considerando o parâmetro de estabilidade $\alpha = 1$, ou seja, os itens devem ter 100% de sua face inferior apoiada diretamente pela face superior de outros itens ou pelo chão do recipiente.

Infelizmente, com o uso dos *raster points*, não foi possível obter solução para qualquer das instâncias sobre consideração no caso da estabilidade vertical. Observe que na restrição de estabilidade vertical, equação (9), a primeira somatória requer que $r' - ci \geq 0$. Em outras palavras, o item j só poderá ser empacotado na coordenada (p', r') se existir algum item i com coordenada $(p, r' - ci)$, sendo ci o comprimento do item i. Observando as equações que definem os *raster points*, equações (4) e (5), tem-se que a operação de subtração não é definida sobre os *raster points*, isto é, $r' - ci$ nem sempre resultará em um *raster point*, ao contrário da operação $< r' - ci >$ que sempre retornará um.

Não obstante, a troca de $r' - ci$ por $< r' - ci >$ na equação (9) trará outra dificuldade. O ponto é que pela definição de *raster points*, os espaços vazios que eventualmente surgem no final do empacotamento podem ser jogados no meio do empacotamento, de forma que algumas posições possíveis para se empacotar um item podem ser descartadas (em especial, para evitar simetrias e, talvez, padrões repetidos). Com isso, pode haver a eliminação de soluções e, no caso da estabilidade, gerar empacotamentos com

itens flutuando no meio do recipiente, contrariando a ideia de empacotamento estável (itens apoiados diretamente sobre outros itens).

4 – CONCLUSÃO/COMENTÁRIOS FINAIS

Considerando o modelo previamente proposto para o problema da Mochila Ilimitada 2D, foram desenvolvidas formulações, mais precisamente, equações lineares em termos das variáveis do modelo para o problema da mochila, abordando as restrições de empilhamento máximo de cada item, balanceamento de carga e estabilidade vertical.

Nota-se que se trata de formulações válidas e viáveis, pois alcançou soluções ótimas em um tempo de processamento considerado aceitável, apesar de não ter outros trabalhos para realizar a devida comparação. Assim, os modelos apresentados permitem resolver, de maneira satisfatória o problema com as diversas restrições estudadas.

Em trabalhos futuros pretende-se combinar as restrições, além de variar a região onde o centro de gravidade do empacotamento resultante pode ficar na restrição de balanceamento de carga e o parâmetro α na restrição de estabilidade vertical. Outra direção aponta para o estudo de conjuntos de pontos que podem ser usados na malha de forma a se obter soluções quando se tem, por exemplo, a restrição de balanceamento de carga e estabilidade vertical.

Agradecimentos. Os autores agradecem o apoio financeiro recebido pelo CNPq.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEASLEY, J.E. Algorithms for unconstrained two-dimensional guillotine cutting. *Journal of the Operational Research Society*, 36(4):297-306, 1985.

BIRGIN, E.G.; LOBATO, R.D.; MORÁBITO, R. An effective recursive partitioning approach for the packing of identical rectangles in a rectangle. *Journal Research Society*, 61: 306-320, 2010.

CINTRA, G.F.; MIYAZAWA, F.K.; WAKABAYASHI, Y.; XAVIER, E. C. Algorithms for two-dimensional cutting stock and strip packing problems using dynamics programming and column generation. *European Journal of Operational Research*, 191:59-83, 2008.

GAREY, M. R.; JOHNSON, D. S. *Computer and Intractability: A Guide to the Theory of NP-Completeness*. San Francisco: Freeman, 1979.

GOLDBARG, M.C.; LUNA, H.P. *Otimização combinatória e programação linear: modelos e algoritmos*. 2ª ed. Elsevier - Campus, 2005.

HERZ, J.C. A recursive computational procedure for two-dimensional stock-cutting. *IBM Journal of Research Development*, 1: 462-469, 1972.

HIBBELER, R.C. *Statics and Mechanics of Materials*. 3ª ed. Prentice Hall, 2010.

IBM. ILOG® CPLEX® V12.1 – *User's Manual for CPLEX®*. IBM Corporation, 2009.

JUNQUEIRA, L. *Modelos de programação matemática para problemas de carregamento de caixas dentro de contêineres*. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2009.

JUNQUEIRA, L; MORABITO, R; YAMASHITA, D. S. Modelos de otimização para problemas de carregamento de contêineres com considerações de estabilidade e de empilhamento. *Pesquisa Operacional*, 30: 73-98, 2012.

KALZUNY, B. L.; SHAW, R. H. A. D. Optimal aircraft load balancing. *International Transactions in Operation Research*, 16(6): 767-787, 2009.

PIZZOLATO, N. D.; GANDOLPHO, A. A. *Técnicas de Otimização*. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

QUEIROZ, T. A.; MIYAZAWA, F. K. An Integer Programming Model for the Two-dimensional Strip Packing Problem with Multi-drop and Load Balancing Constraints. *International Journal of Production Economics: Special Issue on Cutting and Packing*, 2013, doi: 10.1016/j.ijpe.2013.04.032.

QUEIROZ, T. A.; MIYAZAWA, F. K.; WAKABAYASHI, Y.; XAVIER, E. C. Algorithms for 3D guillotine cutting problems: Unbounded knapsack, cutting stock and strip packing. *Computers & Operations Research,* 39 (2): 200-212, 2012.

RANCK, R. J.; YANASSE, H. H. O Problema Integrado de Carregamento e Roteamento de Veículos: uma revisão parcial dos trabalhos da literatura. *In: X Workshop dos Cursos de Computação*, São José dos Campos, 2010.

SCHEITHAUER, G.; TERNO, J. The G4-heuristic for the pallet loading problem. *Journal of the Operational Research Society*, 47: 511-522, 1996.

ANÁLISE DA ANGULAÇÃO E TORQUE DE BRÁQUETES AUTOLIGADOS E CONVENCIONAIS

Geane Cristina Siqueira (Orientada); Marcos Augusto Lenza (Orientador);

André Luiz de Melo Drumond;Maurício Guilherme Lenza

Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás

Endereço eletrônico (gii2_siqueira@hotmail.com; marcoslenza@gmail.com)

RESUMO

Introdução: Diferentemente dos bráquetes pioneiros da técnica Edgewise onde havia a necessidade de várias dobras no arco ortodôntico para um correto posicionamento dentário, esses materiais já se apresentam com as características de torque e angulação adequadas para o posicionamento dentário. **Objetivos:** Avaliar as características de angulação e torque quanto à prescrição descrita pelo fabricante em sistemas de bráquetes autoligados e convencionais. **Metodologia:** A amostra foi composta por 120 bráquetes ortodônticos metálicos convencionais: Roth Max Morelli, Premium Orthometric e Kirium Abzil/3M e 120 bráquetes autoligados: SLI Morelli, OrthoClip SLB Orthometric e Portia Abzil/3M, todos com canaleta com dimensão de 0.022" e prescrição Roth, correspondentes aos dentes incisivo central, incisivo lateral, canino, primeiro pré-molar e segundo pré-molar, superiores e inferiores. As mensurações da angulação e do torque foram realizadas somente por um examinador, utilizando um Perfilômetro Starrett-Sigma® modelo VB 400, o qual apresentava um módulo para mensuração digital Quadra Check 200, do Laboratório de Metrologia da Empresa Abzil/3M (São José do Rio Preto, SP, Brasil) **Resultados:** Todos os bráquetes apresentaram valores de angulação e toque diferentes da prescrição original de Roth. Não se observou predomínio de um sistema em relação ao outro quando comparados sistemas convencionais e autoligados. **Conclusões:** Embora exista diferença entre os valores encontrados nos bráquetes analisados em relação à prescrição original, essa se mostrou pequena, tendo pouca influência na prática clínica.

Palavras-chave: bráquetes autoligados; tratamento ortodôntico; torque.

REVISADO PELO ORIENTADOR

INTRODUÇÃO

O tratamento com o aparelho ortodôntico fixo tem como objetivo inicial promover o alinhamento e nivelamento da coroa e da raiz dos dentes por meio dos bráquetes, os quais transmitem a força realizada pelo fio para o dente, de maneira a produzir o movimento ortodôntico (VELLINI-FERREIRA, 2008).

Introduzidos por Angle na Técnica Edgewise (arco de canto), os bráquetes ortodônticos permitiram um maior controle da força aplicada, embora se necessitava incorporar dobras nos fios retangulares, nos três planos do espaço, a fim de se obter uma oclusão ideal (ANDREWS, 1976). Essa necessidade diminuiu bastante a partir da criação da técnica Straight-Wire por Andrews, na qual utiliza-se bráquetes pré-ajustados, com angulação (inclinação médio-distal) e torque (inclinação vestíbulo-lingual) inseridos na arquitetura física dos bráquetes. Nesta filosofia de tratamento, os resultados eram mais consistentes, com consequente diminuição no tempo das consultas, e ainda, tratamentos mais rápidos, pois diminuíram as dobras nos fios (ANDREWS, 1989; ANDREWS, 1976).

Tendo como ponto de partida o desenho e a prescrição do aparelho Straight-Wire original, alguns autores alteraram os valores de determinadas características dos bráquetes. Dentre estes, destaca-se o trabalho de Roth (1987), que na busca de soluções a partir de sua experiência clínica, apresentou um único conjunto de bráquetes para terapia de casos com e sem extrações. A partir de então, esta prescrição tem sido largamente empregada pelos ortodontistas de todo o mundo.

A evolução nos materiais e as pesquisas clínicas levaram ao desenvolvimento de um tipo de bráquete que dispensa a ligadura elástica ou amarrilho metálico, possuindo um sistema integrado à sua estrutura física, próprio, de apreensão do fio, o bráquete autoligado. A principal característica ressaltada e apontada como vantagem recai sobre o fato de que, ao dispensar a necessidade de ligadura, eliminam o contato do material de amarração com o fio e possibilitam a redução do atrito durante o alinhamento e nivelamento, e também no momento do fechamento dos espaços (DAMON, 1998). Embora o sistema de ligação influencie pouco na expressão da angulação, é exatamente o contrário quando se relaciona à expressão do torque (GICK et al., 2012).

Mesmo que a expressão da angulação e torque da expressão dependa de outros fatores, independente do tipo de bráquete, se convencional ou autoligado, esses materiais devem possuir precisão em relação aos valores prescritos, com alta qualidade de acabamento superficial e com menor desvio-padrão possível entre as peças. Pesquisadores como Streva et al. (2011), Cornejo (2005), Bóbbo (2006), Gomes Filho (2007) e Zanesco (2008) realizaram estudos referentes à confiabilidade da precisão do torque em bráquetes pré-ajustados, onde

compararam diversas marcas de bráquetes comercializadas no Brasil, mostrando que cada uma delas, com maior ou menor grau de significância estatística, estavam em desacordo com os valores da prescrição da técnica por eles pesquisados.

Embora existam vários estudos que avaliem essas características nos bráquetes, há poucas pesquisas que realizam essa avaliação em bráquetes autoligados. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar as características de angulação e torque quanto à prescrição original de Roth em sistemas de bráquetes autoligados e convencionais.

METODOLOGIA

A amostra consistiu de 240 bráquetes metálicos de aço inoxidável (120 autoligados e 120 convencionais) provenientes de três diferentes marcas comerciais. Todos os bráquetes serão da prescrição Roth (TABELA 1), correspondentes aos incisivos centrais, laterais, caninos, primeiro e segundo pré-molares superiores e inferiores, direitos e esquerdos.

Tabela 1 - Sistemas de bráquetes utilizados no estudo.

MARCA COMERCIAL	FABRICANTE	CARACTERÍSTICAS
Portia	Abzil/3M	Metálico, autoligado passivo
SLI Morelli	Morelli	Metálico, autoligado ativo
OrthoClip – SLB	Orthometric	Metálico, autoligado ativo
Kirium	Abzil/3M	Metálico, convencional
Roth Max	Morelli	Metálico, convencional
Premium	Orthometric	Metálico, convencional

As mensurações da angulação e da inclinação foram realizadas somente por um examinador, em um equipamento denominado Perfilômetro ou Projetor de Perfil, da marca Starrett-Sigma® modelo VB 400, acoplado a um equipamento para mensuração digital denominado Quadra Check 200, do Laboratório de Metrologia da Empresa Abzil/3M (São José do Rio Preto, SP, Brasil). De acordo com o fabricante do Perfilômetro, este equipamento destina-se à verificação de peças pequenas, principalmente as de formato complexo por permitir a projeção ampliada da peça no gabarito.

Este gabarito possui duas linhas perpendiculares, que são utilizadas como referência nas medições. Ao colocar a peça que será medida sobre a mesa que pode ser manipulada para enquadrar a imagem, obtemos na tela uma imagem aumentada. Esta mesa possui uma placa

de vidro em sua área central que permite que a peça seja iluminada por baixo (luz diascópica) e por cima (luz episcópica) simultaneamente. O tamanho original da peça pode ser ampliado 5, 10, 20, 50 ou 100 vezes por meio de lentes objetivas intercambiáveis, o que permite a verificação de detalhes da peça em vários tamanhos. O projetor de perfil permite também a medição de ângulos, pois sua tela é rotativa e graduada de 1º a 360º em toda a sua volta. A leitura se faz em um indicador digital como já dito anteriormente denominado Quadra Check 200. A margem de erro do equipamento se aproxima de 1 minuto em 360 graus, sendo que a sua aferição é realizada a cada 12 meses.

RESULTADOS

Os resultados das análises da angulação e do torque presentes nos bráquetes são apresentados nas tabelas 2-5.

Tabela 2 - Valores de angulação encontrados nos bráquetes da arcada superior.

Bráquetes		11		12		13		14		15	
		Média (°)	DP	Média (°)	DP	Média (°)	DP	Média (°)	DP	Média (°)	DP
Prescrição Roth		5*	-	9*	-	13*	-	0*	-	0*	-
Portia	Abzil/3M	5,10	0,64	9,81	0,67	11,56	0,14	0,80	0,59	0,78	0,13
SLI Morelli	Morelli	5,13	0,87	9,02	0,88	9,03	0,86	0,90	0,32	0,67	0,29
OrthoClip	Orthometric	5,40	0,13	9,31	0,57	10,76	0,18	0,23	0,67	0,38	0,57
Kirium	Abzil/3M	5,35	0,09	9,42	0,18	11,27	0,52	0,12	0,75	0,59	0,29
Roth Max	Morelli	5,61	0,22	9,16	0,29	12,34	0,27	0,30	0,62	0,13	0,82
Premium	Orthometric	5,14	0,13	9,76	0,22	11,54	0,88	0,25	0,33	0,26	0,74

*Valor exato para a angulação segundo a prescrição de Roth.

Na tabela 2, verificou-se a maioria dos bráquetes para arcada superior apresentaram valores de angulação próximos do prescrito por Roth. As exceções se restringiram aos bráquetes para canino, sendo que o SLI Morelli apresentou valor médio de 9,03° e os demais próximos a 11°. Não foi observada predominância de um tipo de bráquete em relação aos outros, devido à grande variabilidade dos resultados.

Tabela 3 - Valores de angulação encontrados nos bráquetes da arcada inferior.

Bráquetes		41		42		43		44		45	
		Média (°)	DP	Média (°)	DP	Média (°)	DP	Média (°)	DP	Média (°)	DP
Prescrição Roth		2*	-	2*	-	7*	-	-1*	-	-1*	-
Portia	Abzil/3M	0,63	0,30	0,70	0,23	5,38	0,12	2,41	0,53	2,19	0,16
SLI Morelli	Morelli	0,21	0,69	0,34	0,32	7,42	0,35	0,19	0,74	0,28	0,71
OrthoClip	Orthometric	1,83	0,63	2,13	0,85	7,21	0,69	-1,33	0,31	-1,48	0,44
Kirium	Abzil/3M	0,89	0,12	0,30	0,56	5,47	0,17	2,73	0,12	2,34	0,51
Roth Max	Morelli	0,10	0,66	0,92	0,07	7,33	0,10	0,28	0,41	0,23	0,71
Premium	Orthometric	0,68	0,24	0,39	0,22	5,71	0,27	0,83	0,13	0,89	0,11

*Valor exato para a angulação segundo a prescrição de Roth.

Quanto à angulação dos bráquetes para dentes inferiores, observou-se variações para todos os dentes em relação à prescrição original (Tabela 3).

Tabela 4 - Valores de torque encontrados nos bráquetes da arcada superior.

Bráquetes		11		12		13		14		15	
		Média (°)	DP	Média (°)	DP	Média (°)	DP	Média (°)	DP	Média (°)	DP
Prescrição Roth		12*	-	8*	-	-2*	-	-7*	-	-7*	-
Portia	Abzil/3M	12,13	0,63	8,11	0,73	-2,45	0,09	-7,33	0,67	-7,02	0,29
SLI Morelli	Morelli	12,88	0,15	8,57	0,34	-2,23	0,13	-7,54	0,28	-7,31	0,36
OrthoClip	Orthometric	12,34	0,45	8,19	0,78	-2,14	0,88	-7,87	0,64	-7,42	0,55
Kirium	Abzil/3M	12,75	0,10	8,23	0,15	-2,70	0,25	-7,13	0,90	-7,09	0,20
Roth Max	Morelli	12,31	0,90	8,02	0,20	-2,73	0,21	-7,03	0,80	-7,15	0,23
Premium	Orthometric	12,29	0,31	8,32	0,69	-2,29	0,54	-7,14	0,47	-7,19	0,48

*Valor exato para o torque segundo a prescrição de Roth.

Em relação aos valores de torque dos bráquetes para dentes superiores e inferiores, enquanto para os bráquetes superiores apresentaram valores aproximados à prescrição original, para a arcada inferior observou-se novamente grande variabilidade entre as marcas, restrita aos bráquetes para incisivos com os modelos Portia, Kirium e SLI Morelli apresentando valores próximos de 0° (Tabela 4-5).

Tabela 5 - Valores de torque encontrados nos bráquetes da arcada inferior.

Bráquetes		41		42		43		44		45	
		Média (°)	DP	Média (°)	DP	Média (°)	DP	Média (°)	DP	Média (°)	DP
Prescrição Roth		-1*	-	-1*	-	-11*	-	-17*	-	-22*	-
Portia	Abzil/3M	-0,10	0,32	-0,21	0,23	-11,13	0,87	-17,52	0,96	-22,37	0,42
SLI Morelli	Morelli	-0,40	0,23	0,21	0,35	-11,40	0,40	-17,10	0,89	-21,92	0,79
OrthoClip	Orthometric	-0,80	0,09	-1,22	0,19	-11,53	0,42	-17,28	0,93	-22,40	0,68
Kirium	Abzil/3M	-0,14	0,44	-0,24	0,09	-11,22	0,50	-17,31	1,09	-21,79	0,02
Roth Max	Morelli	-0,90	0,05	-0,89	0,11	-11,90	0,10	-16,90	0,70	-21,68	0,27
Premium	Orthometric	-1,64	0,11	-1,33	0,21	-11,69	0,08	-17,23	0,32	-22,80	0,98

*Valor exato para o torque segundo a prescrição de Roth.

DISCUSSÃO

As inclinações e as angulações executadas durante um tratamento são de fundamental importância no posicionamento dos dentes de acordo com as necessidades do caso planejado (THIENSEN et al., 2003). As angulações são importantes no paralelismo das raízes, no aumento do comprimento do arco, no estabelecimento de unidade de ancoragem posterior por meio da angulação distal dos seus componentes e no posicionamento artístico dos dentes (HOLDAWAY, 1952). Já as inclinações axiais dos dentes são importantes no estabelecimento das guias anterior e de caninos, no controle dos dentes anteriores nas mecânicas de retração e nos tratamentos compensatórios de más oclusões de origem esquelética (THIENSEN et al., 2003).

Diante das especificidades para cada situação clínica torna-se extremamente importante a precisão e fidedignidade dos acessórios quanto à sua prescrição. Em uma análise geral, os resultados desse estudo indicam que não há precisão em nenhum dos bráquetes ortodônticos avaliados, tanto para a angulação quanto para o torque. Os trabalhos de Cornejo (2005), Streva et al. (2011), Bóbbo (2006), Gomes-Filho (2007) e Zanesco (2008), mesmo utilizando acessórios diferentes, de marcas diferentes e técnicas diferentes, obtiveram conclusões semelhantes, acerca de uma falta de padrão e precisão na fabricação entre os diferentes fabricantes, o que vem corroborar com os resultados obtidos.

Na comparação entre as marcas comerciais não houve um comportamento inferior ou superior de uma única marca em relação às outras em todos os bráquetes avaliados. Embora

esses resultados nos alarde, na realidade demonstram que podemos esperar uma variação do valor proposto pelos fabricantes e esta variação já é esperada pelas indústrias, que seguem a Norma DIN, em que uma diferença de até ±1º é considerada aceitável (ISO, 2010). Analisando as tabelas, as diferenças encontradas ficaram no intervalo de 1º, para mais ou para menos da prescrição do fabricante. Considerando que algumas indústrias alteraram os valores de inclinação e angulação para alguns dentes, mesmo assim as comparações ficaram dentro da margem de erro esperada.

Alguns fatores contribuem para a variação na expressão do torque nos dispositivos pré-ajustados. Entre as variáveis relacionadas estão: (1) a folga do fio em virtude da diferença da dimensão dos arcos nas canaletas dos bráquetes; (2) irregularidades no processo de construção dos bráquetes que impossibilitam o encaixe apropriado; (3) diferenças na rigidez do fio inserido na canaleta do bráquete; (4) variações entre valores reais de torque prescrito nos bráquetes, e (5) formas de amarração dos arcos (GIOKA; ELIADES, 2004). Em relação aos resultados deste estudo, mesmo que algum bráquete tenha passado da diferença de 1°, existe uma folga entre a canaleta do bráquete e o fio que traria alterações na expressão efetiva do torque. O torque efetivo poderia ser expresso matematicamente subtraindo do torque inserido no bráquete e o ângulo de folga existente entre a canaleta e o fio. Assim, quando fosse inserido um fio 0,021” x 0,025” numa canaleta de 0,022” x 0,025” e o torque prescrito é de 7° com uma folga de 2,9°, o torque real seria de 4,1° e não de 7°, conforme estaria expresso no bráquete. Destaca-se ainda que, a folga aumenta quando o fio é menor que a canaleta, assim seriam necessários fios que preenchessem totalmente a canaleta para poder obter o torque expresso nos bráquetes (CASASSA, 2002).

Quanto à comparação dos bráquetes autoligados e convencionais, não pode-se afirmar que um sistema foi superior ao outro devido a grande variabilidade dos resultados. Um dos fatores que influenciam na expressão do torque (força no sentido vestíbulo-lingual que o dente sente) é o sistema de ligação (GICK et al., 2012). Devido à maior capacidade de expressão do torque por parte dos bráquetes autoligados ativos frente aos bráquetes autoligados passivos e convencionais, as variações nos valores encontrados nos sistemas SLI Morelli e OrthoClip podem ter maior significância clínica, mesmo considerando a margem de erro.

A predominância de valores maiores de inclinação e angulação maiores que os da prescrição de Roth nos mostra, de certa forma, favorável para suprir a deficiência clínica dos bráquetes (GIOKA; ELIADES, 2004). Outro aspecto verificado foi a alteração dos valores de angulação e torque nos bráquetes comercializados em relação à prescrição original,

especialmente dos caninos, onde a prescrição original apresenta uma angulação de 13° e a maioria das marcar apresentaram valores menores (em média 9° ou 11°). Essa diferença pode ser encarada como uma alteração benéfica para a posição do canino uma vez que a angulação de 13° resulta na necessidade maior de ancoragem posterior durante a mecânica de retração, pois as raízes com inclinação distal oferecem maior resistência ao movimento de corpo desse dente (BARBOSA, 2000).

No geral, as variações encontradas trazem pequenas implicações diretas no cotidiano clínico do ortodontista que opta pela mecânica pré-ajustada, a não ser que se utilize fios de calibre muito próximo ao tamanho da canaleta.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados podemos concluir que:

- Todos os bráquetes avaliados apresentaram alterações para angulação e torque quando comparados com a prescrição original de Roth;
- Diante da grande variabilidade de resultados, não houve predomínio de um sistema sobre os outros quando comparados sistemas de bráquetes autoligados e convencionais;
- Embora todos os bráquetes tenham apresentado diferença, essa se mostrou com pequena implicação clínica.

REFERÊNCIAS

ANDREWS, L. **Straight Wire: the concept and appliance**. San Diego: LA Well, 1989.

ANDREWS, L. The Straight Wire Appliance: Explained and Compared. **J Clin Orthod**, v. 10, n. 3, p. 174-95. 1976.

BARBOSA, J. A. Desenvolvimento de um braquete versátil para os caninos, na técnica straight-wire. **R Dental Press Ortodon Ortop Facial**, v.5, n.2, p. 42-46. 2000.

BÓBBO, M. **Avaliação do Torque dos bráquetes de incisivos da prescrição MBT**. 2006. 91f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Cidade de São Paulo. São Paulo, 2006.

CASASSA, A.A. Es el torque establecido en el arco recto suficiente? **Rev Soc Odontol Plata**, v. 25, n. 30, p. 29-33. 2002.

CORNEJO, M.I.B. **Avaliação do torque dos bráquetes de pré molares na técnica MBT**. 2005. 119f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Cidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

DAMON, D.H. The Damon low-friction bracket: a biologically compatible straight-wire system. **J Clin Orthod**, v. 32, n. 11, p. 670-80. 1998.

GICK, M.R.; NÓBREGA, C.; BENETTI, J. et al. Estudo comparativo do movimento de torque induzido pelos sistemas autoligantes e convencionais. **Orthodon Sci Practice**, v. 5, n. 17, p. 37-46. 2012.

GIOKA, C.; ELIADES, T. Materials-induced variation in the torque expression of preadjusted appliances. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 125, n. 3, p. 323-328. 2004.

GOMES FILHO, W.V. **Avaliação do torque dos bráquetes dos incisivos superiores e inferiores da terapia bioprogressiva de Ricketts**. 2007. 133f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Cidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

HOLDAWAY, R. Bracket angulation as applied to the edgewise appliance. **Angle Orthod,** v.22, n.4, p.227-236. 1952.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARTIZATION. ISO 27020 dentistry – brackets and tubes for use in orthodontics. [apostila] 11p. 2010. Disponível em: www.iso.org.

ROTH, R.H. The Straight wire appliance 17 years later. **J Clin Orthod**, v. 21, n. 9, p. 632-42. 1987.

STREVA, A.M.; COTRIM-FERREIRA, F.A.; GARIB, D.G. et al. Are torque values of preadjusted brackets precise? **J Appl Oral Sci**, v. 19, n. 4, p. 313-117. 2011.

THIENSEN, G.; REGO, M.V.N.N.; MENEZES, L.M. et al. A importância da incorporação do controle de torque no tratamento ortodôntico. **R Clin Dental Press,** v. 2, n. 4, p. 65-79. 2003.

VELLINI-FERREIRA, F. **Ortodontia:** diagnóstico e planejamento clínico. 8ª ed. São Paulo: Artes Médicas, 2008.

ZANESCO, A. **Estudo comparativo das angulações e torques de bráquetes de diferentes marcas comerciais**. 2008. 95f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Metodista de São Paulo, São Bernardo do Campo, 2008.

NÍVEIS DE TREONINA DIGESTÍVEL PARA PINTOS DE CORTE FÊMEAS NA FASE PRÉ-INICIAL

Rejane Mery do Amor Divino Castro[1]*; José Henrique Stringhini[2]; Letícia Melo Oliveira[1]; Eduardo Miranda de Oliveira[3]; Bruno Moreira dos Santos[3]

[1]Graduandoem Medicina Veterinária EVZ/UFG (*orientando),
e-mail: rejanemadcastro@hotmail.com; leticiamelooliveira@hotmail.com
[2]Docente no Departamento de Produção Animal, EVZ/UFG (orientador),
e-mail: henrique@vet.ufg.br
[3]Pós-graduando em Ciência Animal EVZ/UFG,
e-mail:eduardozootec@gmail.com; brunovet2007@hotmail.com

RESUMO: Objetivou-se avaliar níveis de treonina digestível para frangos de corte fêmeas na fase pré-inicial. Foi conduzido um experimentocom 200 pintos, Cobb 500, com peso médio inicial de 41,83g, alimentados durante a fase pré-inicialcom níveis crescentes de treonina digestível (800; 900; 1000; 1100 mg/kg ração). O delineamento foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 5 repetições, totalizando 20 parcelas com 10 aves cada.Avaliou-se o desempenho das aves nos períodos de 1, 7, 14, 21 dias de idade, coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca e o balanço de nitrogênio na fase pré-inicial. A análise estatísticafoi realizada por intermédio do Software R. Os dados foram submetidos à análise de variância, foi adotado o teste de Tukey (5% de probabilidade) para comparação das médias e posteriormente feita análise de regressão polinomial para indicação dos níveis recomendados.

Palavras-chave: avicultura, fase pré-inicial, treonina digestível, desempenho, metabolizabilidade, proteína ideal

INTRODUÇÃO

De acordo com SANTAROSA (2010), a ave enfrenta alguns desafios nos primeiros dias de vida, sendo estes imunológicos e nutricionais. Sabe-se que neste período ocorre o maior crescimento da ave, podendo chegar aos sete dias com o triplo do peso inicial.Atrasosde crescimento nesta fase poderão comprometer o desempenho do frango até o abate, já a ave não recupera o que deixou de ganhar na fase pré-inicial. Sendo assim, é necessário oferecer bom suporte nutricional na fase pré-inicial.

Há alguns anos as dietas para aves eram formuladas com base na proteína bruta, e isso resultava em excesso de aminoácidos exigidos pelos animais. Com a disponibilidade de aminoácidos sintéticos no mercado e sua viabilidade econômica, as dietas passaram a ser formuladas com base em aminoácidos essenciais, contendo menor nível protéico e com nível de aminoácido mais próximo às necessidades das aves,resultando em diminuição da poluição ambiental devido a menor excreção de nitrogênio (ROSTAGNO et al., 2011).

A exigência de proteína tem sido substituída pelo conceito de proteína ideal que permite mais precisão e substitui a exigência do nível protéico mínimo por aminoácidos. O

Revisado pelo orientador

equilíbrio entre lisina, metionina + cistina, treonina e outros, economiza nutrientes e energia durante o crescimento e a mantença (PENZ & VIEIRA, 1998; SUIDA, 2001).

A proteína e os aminoácidos influenciam diretamente o desempenho zootécnico e o custo da formulação das rações, representando cerca de 40 a 45% do custo total da ração (SAKOMURA & SILVA, 1998). Assim o uso do conceito de proteína ideal na formulação de rações preconiza a redução dos níveis protéicos da dieta, e isso reduz os custos com alimentação.

A treonina é o terceiro aminoácido essencial para aves, sendo importante para a síntese de mucina, uma glicoproteína que tem como função proteger o epitélio intestinal contra injúrias (STAR et. al. 2012) é um componente relevante no desenvolvimento da pena, participando em 4 a 5% da proteína bruta da mesma (DUARTE, 2009). Também possui papel essencial como precursor de glicina que é um aminoácido fundamental para a síntese de ácido úrico, principal via de eliminação do nitrogênio nas aves (BAKER et al., 1972).

Deficiência em treonina nas rações para frangos de corte pode diminuir a eficiência de utilização da metionina + cistina e da lisina. De acordo com ATENCIO et al. (2004) a relação treonina: lisina ideal é de 67% de 1 a 20 dias de idade. Segundo ROSTAGNO et al. (2011) a relação ideal é de 65% para a fase de 1 a 21 dias de idade.

Para a maioria dos aminoácidos, existe variação na exigência estabelecida de treonina, e os principais fatores responsáveis por esta variação são a idade da ave e o nível de proteína bruta da dieta (BERNARDINO,2008).Embora as exigências de lisina e de aminoácidos sulfurados tenham sido amplamente avaliadas, são escassas maiores informações sobre a relação ideal entre treonina e lisina digestível para as diversas formas de avaliação de desempenho (BERRES et al. 2007).

Objetivou-se com este trabalho, avaliarníveis de treonina digestível para pintos de corte fêmeas na fase pré-inicial.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamentode Produção Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia. Foram utilizados 200 pintos de um dia de idade, fêmeas, Cobb 500, com peso médio inicial de 41,83g ± 0,48g. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, constituindo quatrotratamentos (800; 900; 1000; 1100 mg/kg de treonina digestível na ração) e cinco repetições, totalizando 20 parcelas com 10 aves cada.As dietas foram isonutritivas e

isoenergéticas à base de milho e farelode soja (Tabela 1) atendendo as exigências nutricionais de acordo com as tabelas brasileiras (ROSTAGNO et al., 2011).

Tabela 1. Composição percentual da ração experimental para frangos de 1 a 7 dias de idade

Ingredientes	Ração 800mg/kg	Ração 900mg/kg	Ração 1000mg/kg	Ração 1100mg/kg
Milho	58,861	58,861	58,861	58,861
Farelo de soja	35,172	35,172	35,172	35,172
Fosfato Bicálcico	1,924	1,924	1,924	1,924
Amido	1,000	0,812	0,710	0,608
Calcário	0,813	0,813	0,813	0,813
Óleo de soja	0,679	0,679	0,679	0,679
Sal comum	0,449	0,449	0,449	0,449
L-Lisina	0,409	0,409	0,409	0,409
Dl-metionina	0,376	0,376	0,376	0,376
L-treonina	0,090	0,188	0,290	0,392
Vitamina*	0,100	0,100	0,100	0,100
Mineral**	0,050	0,050	0,050	0,050
Exigências nutricionais				
Cálcio	0,920	0,920	0,920	0,920
Energia metabolizável	2,950	2,950	2,950	2,950
Fósforo disponível	0,470	0,470	0,470	0,470
Lisina digestível	1,326	1,326	1,326	1,326
Metionina + cistina digestível	0,954	0,954	0,954	0,954
Metionina digestível	0,670	0,670	0,670	0,670
Proteina Bruta	21,800	21,800	21,800	21,800
Sódio	0,220	0,220	0,220	0,220
Treonina digestível	0,862	0,900	1,000	1,100

*Premix vitaminínico contendo: Vit. A, 10.000.000 U.I; Vit. D3, 2.000.000 U.I; Vit. E, 30.000 U.I; Vit. B1, 2,0 g; Vit. B2, 6,0 g; Vit. B6, 4,0 g; Vit. B12, 0,015 g; Ác. Pantotênico, 12,0 g; Biotina, 0,1 g; Vit. K3, 3,0 g; Ác. fólico (Folic acid), 1,0 g; Ác. Nicotínico, 50,0 g; Selênio, 250,0 mg; Excipiente q.s.p., 1000 g.
**Premix mineral contendo: Ferro, 100,0 g; Cobalto, 2,0 g; Cobre, 20,0 g; Manganês, 160 g; Zinco 100 g; Iodo, 2,0 g; Excipiente q.s.p., 500g.

Os pintos foram criados até 21 dias em baterias aquecidas de aço galvanizado equipadas com comedouros e bebedouros lineares e bandejas metálicas para retirada das excretas.Foram utilizadas lâmpadas incandescentes de 60W para cada andar até aproximadamente 14 dias de idade para aquecimento das aves. A água e a ração foram oferecidas à vontade durante todo o período de criação e o programa de luz foi de 24 horas de luz. O monitoramento da temperatura ambiente foi realizado duas vezes ao dia (8h e 17 h). As

variáveis de desempenho zootécnico avaliadas nos períodos acumulados 1, 7, 14 e 21 dias de idade foram:

- Peso das aves: as parcelas com 10 aves foram pesadas semanalmente, para obtenção do peso médio da ave. O ganho de peso foi calculado, descontando-se o peso inicial dos pintos ao alojamento.
- Consumo de ração: o consumo de ração foi obtido a partir da quantidade de ração oferecida durante a semana subtraindo-se a sobra no final de cada semana e ao final da fase inicial de criação. Para o cálculo do consumo de ração foi considerado o número de aves mortas na semana.
- Conversão alimentar: o cálculo de conversão alimentar foi feito com base no consumo médio de ração e o ganho de peso médio das aves ao final de cada semana.
- Índice de viabilidade criatória: calculada para as diferentes repetições pela subtração de 100 do percentual do valor da mortalidade encontrado.

Realizou-se um ensaio metabólico de quatro a sete dias de idade, pelo método da colheita total de excretas. As excretas foram recolhidas duas vezes ao dia (8h e 17h), acondicionadas em sacos plásticos, identificadas por repetição e armazenadas em freezer. Ao final de cada período experimental foi determinada a quantidade de ração consumida, bem como a quantidade total das excretas produzidas.Ao término do período experimental, as excretas foram reunidas por repetição, descongeladas, pesadas, homogeneizadas e uma amostra de 10% foi retirada e pesada, sendo colocada em estufa de ventilação forçada, à temperatura de 65^{o}C, por 72 horas, a fim de se proceder a pré-secagem. Posteriormente, as amostras foram expostas ao ar para que haja equilíbrio com a temperatura e umidade ambiente. Em seguida foram pesadas, moídas e acondicionadas em recipientes para as análises laboratoriais.Foram determinados a metabolizabilidade dos nutrientessegundo SILVA & QUEIROZ (2002).

A análise estatística foi realizada por intermédio do Software R (THE R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2010). Os dados foram submetidos à análise de variância, foi adotado o teste de Tukey (5% de probabilidade) para comparação das médias e posteriormente feita análise de regressão polinomial para indicação dos níveis recomendados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito (P>0,05) dos níveis de treonina digestível das dietas nos parâmetros de desempenho avaliados (Tabela 2). Observou-se que as aves arraçoadas com níveis de treonina digestível na fase pré-inicial não favoreceram o desempenho das mesmas, e,

FERNANDEZ et al. (1994), afirma que a exigência de treonina para mantença é alta em relação aos demais aminoácidos em função de seu grande conteúdo nas secreções intestinais endógenas e por esse motivo a treonina ser mais importante nas fases mais avançadas.

Tabela 2 - Desempenho de pintos de corte fêmeas aos sete,14 e 21 dias de idade alimentados com níveis de treonina digestível

Níveis de treonina digestível (mg/kg)	Peso médio (g)	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar (kg/kg)	Viabilidade (%)
1 a 7 dias de idade					
800	158,24	116,52	136,08	1,17	100,00
900	160,58	118,42	135,90	1,15	100,00
1000	158,76	117,10	140,11	1,20	99,71
1100	161,24	119,46	127,27	1,09	97,43
Valor de P	0,961	0,969	0,438	0,122	0,108
¹C.V (%)	6,48	8,84	9,18	6,08	1,82
1 a 14 dias de idade					
800	401,50	359,78	492,18	1,38	99,86
900	401,80	359,64	493,58	1,37	100,00
1000	400,38	358,72	506,57	1,42	98,86
1100	420,08	378,30	501,86	1,35	96,57
Valor de P	0,507	0,502	0,834	0,521	0,163
¹C.V (%)	5,79	6,43	5,73	5,03	2,57
1 a 21 dias de idade					
800	665,95	624,40	836,42	1,40	99,24
900	654,84	612,68	847,58	1,38	100,00
1000	660,55	618,89	868,62	1,41	98,57
1100	670,04	628,19	876,99	1,37	95,71
Valor de P	0,877	0,868	0,592	0,826	0,134
¹C.V (%)	4,45	4,73	6,02	5,75	2,90

*Médias seguidas de letras distintas não diferem entre si na coluna pelo teste F.
¹CV: coeficiente de variação (%)

Concordando com o trabalho em questão, AGUILAR et al. (2012) avaliaram quatro níveis de treoninadigestível (800; 900; 1000; 1100 mg/kg) na fase pré-inicial e concluíram que os níveis de treonina não contribuíram para o desempenho das aves. Porém estes resultados discordam de ATENCIO et al. (2004) que ao estimarem níveis de treonina para frangos de corte (684; 731; 777; 824; 870 mg/kg) machos na fase 1 a 20 dias de idade sugerem o nível 777mg/kg de treonina digestível para o ganho de peso e o consumo de ração, sendo a relação ideal de lisina: treonina de 67%.LIMA NETO (2010) avaliou níveis de treonina digestível (631; 710; 789; 868; 947mg/kg) para pintos de corte machos na fase pré-inicial, estabelece que o nível 0,815mg/kg de treonina digestível proporciona melhora no desempenho das aves.

Os níveis de treonina estudados na fase pré-inicial não refletiram no desempenho das aves de 14 e 21 dias de idade, P>0,05 (Tabela 2). SOARES et al. (1999) forneceram seis níveis de treonina (670; 710; 750; 790; 830; 870 mg/kg) para machos e fêmeas no período de 22 a 42 dias de idade, concluíram que os níveis estudados não influenciaram no consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar, sugerindo que níveis de 670mg/kg de treonina (menor nível estudado) são suficientes para maximizar o desempenho dos frangos. DUARTE et al. (2012) ao trabalharem com cinco níveis de treonina (5904;6441; 6977; 7514; 8051; 8588 mg/kg) na dieta de frangos de corte macho durante 22 a 42 dias de idade, obtiveram resultados semelhantes, não observando efeito dos níveis de treonina sobre o consumo de ração, ganho de peso e viabilidade, exceto para conversão alimentar na qual o nível 7514mg/kg foi melhor quando comparado com o nível de 5904mg/kg.

Os resultados de metabolizabilidade dos nutrientes na fase pré-inicial estão apresentados na (Tabela 3).

Tabela3. Metabolizabilidade de nutrientes de dietas contendo níveis crescentes de treonina digestível para frangos no período de 4 a 7 dias de idade.

Níveis de treonina (mg/kg)	CMMS (%)	BN(%)	CMN(%)	RMS	RN
800	69,81a	17,23	63,94	1,24	40,21
900	67,56ab	16,22	60,81	1,34	44,50
1000	68,32ab	16,59	61,79	1,22	41,64
1100	65,12b	14,69	57,19	1,47	48,33
Valor de P	0,04	ns	ns	ns	ns
CV (%)	3,57	13,02	6,32	0,22	13,29

CMMS: coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca; BN: balanço de nitrogênio;
CMN: coeficiente de metabolizabilidade do nitrogênio; RMS: retenção de matéria seca em gramas retida por quilo de ganho de peso; RN: retenção de nitrogênio na matéria seca em gramas retida por quilo de ganho de peso;
Médias seguidas de letras minúsculas na coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey (P<0,05).
Equação para CMMS: $0,008035 – 1,33192x^2$ $R^2=0,77$

Não houve diferença (P>0,05) para balanço de nitrogênio,coeficiente de metabolizabilidade do nitrogênio,retenção de matéria seca e a retenção de nitrogênio, no entanto foi encontrado melhor coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca para o nível de 800mg/kg de treonina digestível na ração.

Na análise de regressão verificou-se efeito linear ($y=0,008035 – 1,33192x^2$ $R^2=0,77$) para o coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca mostrando que o aumento dos níveis de treonina digestível provoca efeito negativo na variável acima mencionada.

Estes resultados divergem dos encontradospor TANURE et al. (2012)ao avaliarem níveis de treonina digestível (800; 900; 1000; 1100 mg/kg) para frangos de corte machos na primeira semana de vida recomendaram o nível de 1000mg/kg de treonina digestívelcom a finalidade de melhorar o coeficiente de metabolizabilidade dos nutrientes.

CONCLUSÃO

A suplementação de treonina digestível na fase pré-inicial não favorece o desempenho e a metabolizabilidade dos nutrientes das aves.

Sendo assim recomenda-se o uso do menor nível de treonina (800 mg/kg), já que este atende as exigências dos pintos de corte fêmeas na fase pré-inicial, e, consequentemente não aumenta o custo da ração.

REFERÊNCIAS

AGUILAR, S.L.; STRINGHINI, J.H.; TANURE, C. B. et al. Desempenho e digestibilidade de diferentes níveis de treonina em frangos de corte produzidos por matrizes de diferentes idades. In: **Conpeex** 2012- Congresso de ensino, pesquisa e extensão - UFG, 2012, Goiânia. Conpeex 2012 - Congresso de ensino, pesquisa e extensão - UFG, 2012.

ATENCIO, A.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S. et al. Exigências de treonina para frangos de corte machos nas fases de 1 a 20, 24 a 38 e 44 a 56 dias de idade. **RevistaBrasileira de Zootecnia**. v. 33, n. 4, p. 880-893, 2004.

BAKER, D.H., TERRILL, M.H., KLEISS, A.J. Nutritional evidence concerning formation of glycine from threonine in the chick. **Journal of Animal Science**, v.34, n.4, p. 582–586, 1972.

BERNARDINO, V.M.P. **Diferentes relações treonina: lisina em dietas para pintos de corte, suplementadas com glicina: desempenho e atividade enzimática.** Viçosa: UFV, 2008. 55f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

BERRES, J.; VIEIRA, S.L.; CONEGLIAN, J.L.B.; OLMOS, A.R.; FREIRAS, D.M.; BORTOLINI, T.C.K.; SILVA, G.X. Respostas de frangos de corte a aumentos graduais na relação entre treonina e lisina. **Ciência Rural**, v.37, n.2, p.510-517, 2007.

DUARTE, K.F. **Critérios de avaliação das exigências em treonina, triptofano, valina e isoleucina para frangos de corte de 22 a 42 dias de idade**. Jaboticabal: UNESP, 2009. 138f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

DUARTE, K.F.; JUNQUEIRA, O.M.; FILARDI, R.S. et al. Exigências em treonina para frangos de corte de 22 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 41, n. 1, p. 72-79, 2012.

FERNANDEZ, S.R. et al. Limiting order of amino acid in corn and soyben meal cereal for growth of the chick. **PoultryScience**, Champaing, v.73, p.1887-1896, 1994.

LIMA NETO, R.C. **Níveis de treonina, glicina+serina e suas relações para pintos de corte.** Areia: UFPB, 2010. 107f. Tese (Doutorado em Zootecnia) –Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2010.

MACK, S.; BERCOVICI, D.; DE GROOTE, G. et al. Ideal amino acid profile and dietary lysine specifications for broiler chickens of 20 to 40 days of age. **British Poultry Science**, London, v. 40, p.257-265, 1999.

PENZ Jr., A.M., VIEIRA, S.L. Nutrição na primeira semana. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas. **Anais...**, Campinas: FACTA, p. 121-139, 1998.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV, 252p. 2011.

SAKOMURA, N.K.; SILVA, R. **Conceitos aplicáveis à nutrição de não ruminantes**. Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG, v.22, p.125-146, 1998.

SANTAROSA, J. **Desempenho de pintos oriundo de ovos leves e pesados alimentados com diferentes tipos de ração pré-inicial.**Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010. 85f. Dissertação (Mestre em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2010.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análise dos Alimentos (Métodos químicos e biológicos). 3ª ed., Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 235p, 2002.

SOARES, R.T.R.N.; ABINO, F.T.; ROSTAGNO, H.S. et al. Exigência de Treonina para Frangos de Corte no Período de 22 a 42 Dias de Idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 28, n. 1, p. 127-131, 1999.

STAR, L.; ROVERS, M.; CORRENT, E.; KLIS, J.D. Threonine requirement of broiler chickens during subclinical intestinal *Clostridium* infection. **Poultry Science**, Paris, v. 91, p. 643-652, 2012.

SUIDA, D.I. Proteína ideal, energia líquida e modelagem. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 2001, Santa Maria, **Anais...** Santa Maria, 2001

TANURE, C.B.G.S; AGUILAR, S.L; OLIVEIRA, E.M; SANTOS, B.M; JARDIM, M.M; STRINGHINI, J.H. Levels of digestible threonine in pre-starter diets for chicks from different breeder ages. In: WORLD´S POULTRY SCIENCE JOURNAL, Salvador. **Anais...**, Salvador – Bahia, 2012.

THE R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A Language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2010. 1706p. Disponível em: <http://cran.r-project.org/doc/manuals/refman.pdf>. Acesso em: 02 de junho de 2013.

Avaliação química e biológica de polissacarídeos isolados de *Boletus edulis.*

Renan Akio Motoshima[1], Elaine Rosechrer Carbonero[2]

Departamento de Química, Universidade Federal de Goiás, Campus Catalão, CEP 75704-020 Catalão, GO, Brasil.

([1]email: renanakio@uol.com.br; [2]email: elainecarbonero@gmail.com)

1. RESUMO

Os basiodiomas de *B. edulis,* após deslipidificação foram submetidos, sucessivamente, a extrações aquosas e alcalinas (KOH 1 e 30%) a 100ºC por ~6h, sendo os extratos polissacarídeos obtidos separados dos materiais residuais por centrifugação. Os polissacarídeos foram recuperados dos extratos aquosos por precipitação com EtOH (3:1; v/v), sendo o precipitado etanólico dialisado e liofilizado (HW), enquanto os extratos alcalinos foram neutralizados, dialisados e liofilizados (K1 e K30, respectivamente). Com a finalidade de purificação, as frações HW, K1 e K30 foram submetidas a processos de purificação por congelamento e degelo, precipitação com solução de Fehling e diálises em membranas. As frações polissacarídicas obtidas foram caracterizadas através de análises de composição monossacarídica, metilação, CG-EM, RMN-^{13}C e HPSEC-MALLS. A partir do extrato aquoso (HW) foi isolada uma β-glucana contendo uma cadeia principal constituída por β-Glc*p* ligadas (1→3), as quais apresentam-se parcialmente substituídas em O-6 por terminais não redutores de β-Glc*p* e uma fucomanogalactana contendo uma cadeia principal formada por α-D-Gal*p* (1→6) ligadas, parcialmente ramificadas em O-2, principalmente, pelo dissacarídeo 3-*O*-D-manopiranosil-L-fucopiranosil ou por α-D-Man*p* e α-L-Fuc*p*. Ao contrário do extrato aquoso, os alcalinos apresentaram altos percentuais de glicogênio, sendo este removido por tratamento com amilase. Adicionais procedimentos de fracionamento foram realizados para as subfrações provenientes de K1, resultando uma fração purificada (SPTAME) composta por manose, galactose e glucose, principalmente. De acordo com os resultados obtidos, os basidiomas de *B. edulis* apresentaram vários tipos de polissacarídeos os quais devem ter sua estrutura fina determinada, tendo em vista a aplicação terapêutica destes polímeros.

PALAVRAS-CHAVE: *Boletus edulis,* caracterização estrutural, polissacarídeos.

2. INTRODUÇÃO

Os cogumelos representam uma fonte importante e ainda pouco explorada de potentes produtos farmacológicos. As estimativas recentes do número de fungos (Ascomicetos, basidiomicetos e zigomicetos) variam de 500.000 a 9,9 milhões de espécies, das quais cerca de 80.000 espécies foram identificadas. O número de basidiomicetos é estimado em 140.000, dos quais apenas cerca de 10% são conhecidas. Dessas 14.000 espécies que conhecemos atualmente, mais de duas mil espécies são comestíveis, e cerca de 700 são conhecidas por possuírem importantes propriedades farmacológicas (CHANG, 1999; WASSER; WEIS, 1999; RESHETNIKOV; WASSER; TAN, 2001). Cabe ressaltar que, este baixo número de espécies biologicamente ativas conhecidas, provavelmente, é devido à carência de estudos que comprovam o potencial destes organismos (WASSER; WEIS, 1999; WASSER, 2011).

O interesse pelos cogumelos, por terem propriedades nutricionais e medicinais, aumentou a partir da década de 1970, com pesquisas sobre os seus efeitos terapêuticos, realizadas principalmente no Japão, China, França e Estados Unidos. São considerados alimentos funcionais e são reconhecidos pelo seu valor nutricional e pelos benefícios que proporcionam à saúde. Por possuir atributos medicinais e nutricionais, eles fazem parte do grupo dos nutracêuticos, ou seja, alimentos que apresentam diversas propriedades farmacológicas, podendo ser consumidos como suplementos dietéticos, tanto para prevenção, como para o tratamento de várias doenças. A utilização mundial de cogumelos como alimento e complemento nutricional têm se desenvolvido em grandes proporções, com perspectivas reais de aumento, fazendo do cultivo desses fungos uma alternativa economicamente viável em todo o mundo (CHANG, 2005).

Dentre as inúmeras ações reportadas, cabe ressaltar a atividade hipoglicemiante, antiinflamatória, antimicrobiana, imunomodulatória, antiviral e principalmente antitumoral (SMITH; ROWAN; SULLIVAN, 2002; LINDEQUIST, NIEDERMEYER, JÜLICH, 2005; MORADALI et al., 2007; ZHANG et al., 2007). Em meio a vários trabalhos que relatam a produção de metabólitos fúngicos, muitos se referem a extratos de polissacarídeos testados quanto às suas propriedades biológicas (WASSER; WEIS, 1999), e entre estes, poucos realizam a purificação e caracterização da estrutura química dessas moléculas.

Diante do exposto, o conhecimento da estrutura desses polissacarídeos se torna imprescindível quando se deseja aplicá-los para fins terapêuticos. Autores sugerem que a estrutura, massa molecular, bem como a conformação das moléculas são decisivos para

alcançar um potencial efeito biológico (MORADALI et al., 2007; KOMURA et al., 2010), justificando a necessidade de se estudar a química fina desses polissacarídeos.

Dentre estes polímeros, pode-se destacar glucanas, heterogalactanas, fucoxilomananas, entre outros. Estes polissacarídeos podem apresentar as mais variadas estruturas, como por exemplo, serem lineares ou ramificadas, apresentar grupos metil, entre outras características (ZHANG et al., 2007; WASSER, 2011).

Estruturas que têm despertado interesse medicinal, devido as suas variadas atividades biológicas, são as glucanas que apresentam uma cadeia principal de β-glucose com ligações (1→3), substituídas em O-6 por terminais não redutores de β-Glc*p*, sendo variável o grau de substituição (ZHANG et al., 2007)

Dentre os heteropolissacarídeos mais comuns em basidiomicetos estão as heterogalactanas, sendo a maioria formada por uma cadeia principal de α-D-Gal*p*-(1→6) as quais se encontram parcialmente substituídas em O-2 por diferentes substituintes, como os terminais não redutores de α-L-fucose, α- ou β-D-manose, β-D-galactose e o dissacarídeo 3-*O*-α-D-manopiranosil-α-L-fucopiranosil, principalmente. Além da substituição em O-2, alguns destes polímeros podem conter grupos metil ligados ao C-3 das unidades de galactose da cadeia principal. De acordo com as cadeias laterais e a proporção destes substituintes, estes são denominados de fucogalactanas, glucogalactanas, manogalactanas, manofucogalactanas, fucomanogalactanas, entre outros a maioria é formada por uma cadeia principal de α-D-Gal*p*-(1→6) contendo diferentes substituintes, principalmente fucose e/ou manose (WASSER, 2002; ZHANG et al., 2007).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Material Biológico

Os basidiomas (= corpo de frutificação) de *Boletus edulis* (peso seco = 307,8 g) foram coletados em 2009, na cidade de Rennes, França, pelo Dr. Fábio Rogério Rosado (Universidade Estadual de Maringá).

3.2. Obtenção dos Polissacarídeos por Extrações Aquosas e Alcalinas

Os basidiomas de *B. edulis* (307,8 g) foram previamente deslipidificados com etanol (EtOH), sob refluxo, durante 6 horas na temperatura de ~60°C (3 x). Com a finalidade de obter os carboidratos, os basidiomas deslipidificados (120 g) foram extraídos, sucessivamente, com água destilada a 100ºC por 6 h (7 x) e KOH (1 e 30%) a 100ºC por ~6h (6 x e 2 x, respectivamente), sendo os extratos obtidos separados dos materiais residuais por filtração. Os polissacarídeos foram recuperados dos extratos aquosos por precipitação com EtOH (3:1; v/v), sendo o precipitado etanólico, após separação por centrifugação (3000 r.p.m., 20 min, 25°C), dialisado e liofilizado (fração HW), enquanto os extratos alcalinos foram neutralizados, dialisados e liofilizados (frações K1 e K30, respectivamente) (Figura 1).

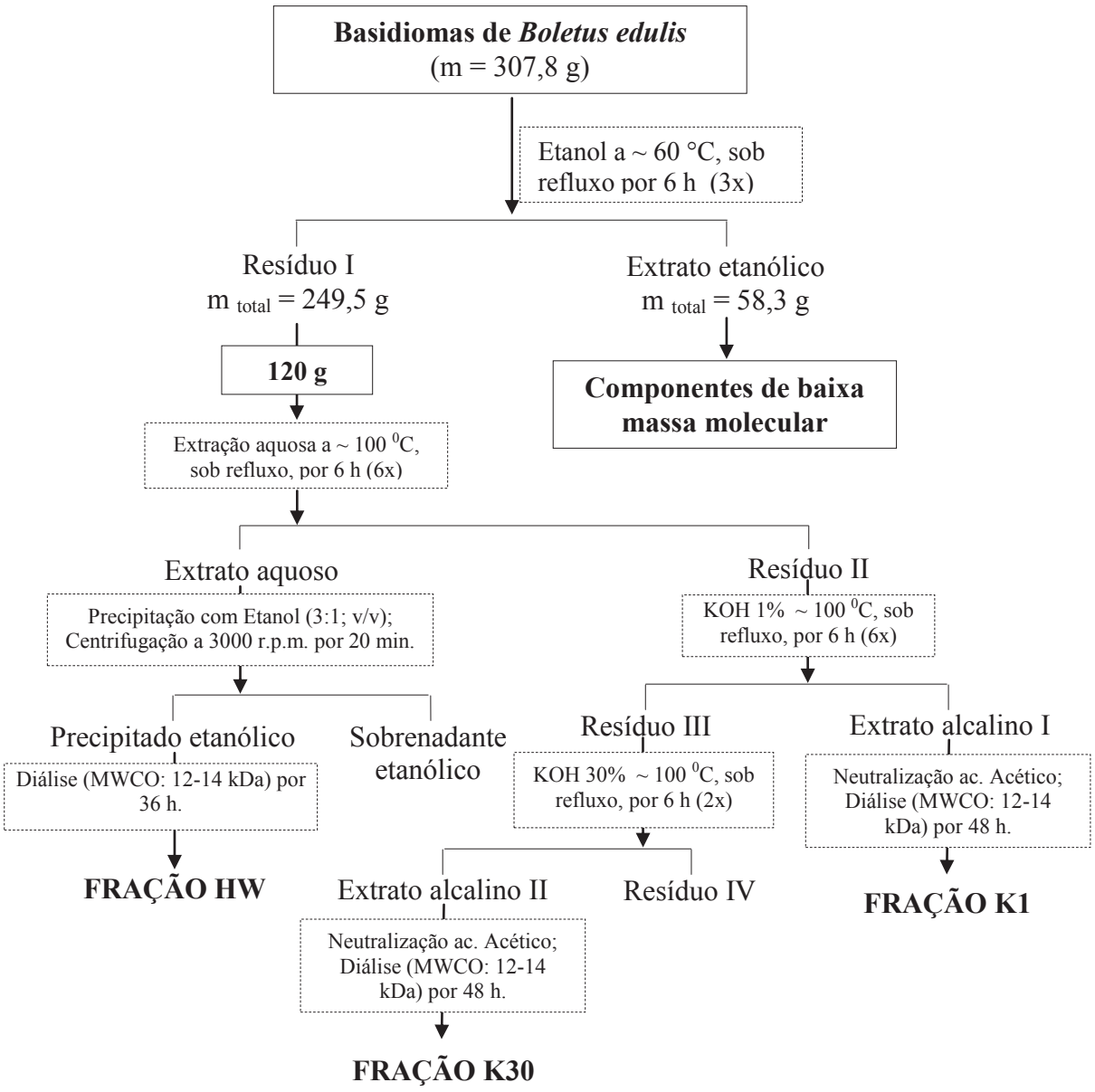


Figura 1- Esquema de extração dos polissacarídeos obtidos dos basidiomas de *Boletus edulis*, por extrações aquosas e alcalinas.

3.3. Purificação dos Polissacarídeos

A purificação dos polissacarídeos, obtidos por extrações aquosas e alcalinas, foram realizadas através de processos por congelamento e descongelamento, precipitação com solução de Fehling, tratamento com amilase e diálise em membranas.

3.3.1. Separação dos Polissacarídeos por Congelamento e Degelo

Os polissacarídeos obtidos através das extrações aquosas (HW) e alcalinas (K1 e K30) foram submetidos, primeiramente, ao processo de purificação por congelamento e degelo. As frações HW, K1 e K30 foram previamente solubilizadas em água destilada e submetidas ao processo de congelamento e posterior degelo na temperatura ambiente. Os precipitados insolúveis em água fria (IHW, IK1 e IK30, respectivamente) foram separados dos demais componentes solúveis (SHW, SK1 e SK30, respectivamente) por centrifugação (3000 r.p.m., 20 min, 25°C). Esse processo de purificação foi repetido diversas vezes até que os sobrenadantes não apresentassem materiais insolúveis em água fria.

3.3.2. Purificação dos Polissacarídeos por Diálise

As frações SHW, SK1 e PF_2-MESHW foram submetidas a diálises em membranas (Spectra/Por®) com diferentes limites de exclusão (MWCO: 100, 500 e 1000 kDa para a fração PF_2-MESHW; MWCO: 1000 kDa para as frações SHW e SK1) (Figuras 2 e 11). A diálise, contra água destilada, foi realizada através de um processo fechado, sendo o material a ser dialisado mantido sob refrigeração. O processo foi repetido diversas vezes, até que a fração eluída (= água de diálise) não apresentasse coloração (CARBONERO, 2005).

3.3.3. Purificação por Precipitação com Solução de Fehling

As frações MESHW, IK1 e STAME (Figuras 2 e 11) foram submetidas ao processo de precipitação com solução de Fehling (JONES; STOODLEY, 1965). Esta solução consiste em duas soluções (A e B), sendo a solução A composta por tartarato de sódio e potássio e hidróxido de potássio (173,0 g + 125,0 g / H_2O q.s.p. 500 mL, respectivamente), enquanto B consiste de sulfato de cobre 5.H_2O ($CuSO_4$) (55,7 g / H_2O q.s.p. 500 mL).

As frações submetidas a este procedimento foram solubilizadas primeiramente na solução A, seguida da adição de igual volume da solução B. Após intensa agitação, o material foi mantido sob refrigeração por 12 horas. Decorrido o tempo, o complexo cúprico insolúvel foi separado por centrifugação e descomplexado com resina trocadora de íons (forma catiônica).

3.3.4. Purificação por Degradação Enzimática

A subfração MESK1, obtida após eluição da fração SK1 em membrana de diálise de MWCO de 1000 kDa, foi submetida a degradação com amilase salivar por ~ 24 horas. Decorrido o tempo, foi adicionado ácido tricloroacético (TCA), resultando em um sobrenadante (STAME) e um precipitado (PTAME), os quais foram dialisados (MWCO: 12-14 kDa) e liofilizados.

3.4. Análise Estrutural dos Polissacarídeos

3.4.1. Composição Monossacarídica

As frações obtidas (1-2 mg) foram hidrolisadas com 0,5 mL de TFA 1 M (ácido trifluoracético), "*overnight*" (12-15 h), ou TFA 2 M durante 8 horas, seguida por evaporação até secura. Os materiais hidrolisados foram, então, reduzidos com $NaBH_4$ (pH 9,0-10,0) e acetilados com uma mistura de anidrido acético (Ac_2O) e piridina (1:1, v/v; 1 mL) em temperatura ambiente por 12 horas (WOLFROM; THOMPSON, 1963 a,b). Os acetatos de alditol foram extraídos com $CHCl_3$ (1 mL), e a piridina residual presente na fração clorofórmica foi removida por complexação com sulfato de cobre 5%. Após a completa remoção da piridina, o $CHCl_3$ foi evaporado e os derivados acetilados foram analisados por cromatografia líquido-gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM) e identificados pelo tempo de retenção e perfil dos fragmentos de massa.

3.4.2. Metilação

A fração PF2-MESHW foi metilada pelo método de Ciucanu e Kerek (1984). Para a metilação, uma alíquota desta fração (10 mg) foi solubilizada em 1 mL de dimetilsulfóxido (Me_2SO). Após a solubilização, foi adicionado 1 mL de iodeto de metila (CH_3I) e,

aproximadamente, 1 mg de hidróxido de sódio (NaOH), sendo a mistura reacional submetida a agitação vigorosa por 30 min. Após um período de repouso (~12 horas), a amostra foi neutralizada com HOAc, dialisada exaustivamente contra água corrente e liofilizada, sendo o processo novamente repetido no material liofilizado. Terminado o segundo ciclo de metilação, foi realizada a extração dos produtos per-*O*-metilados com $CHCl_3$, que, após evaporação do $CHCl_3$, foram submetidos à hidrólise ácida total.

A hidrólise total do polissacarídeo metilado foi realizada com 1 mL de solução de ácido fórmico 45% a 100 ºC por 9 horas e 30 minutos. Após o período necessário para hidrólise, o ácido foi evaporado e o material residual foi reduzido com borohidreto de sódio deuterado (NaB^2H_4), e acetilado como citado anteriormente (item 3.4.1). Os derivados metilados foram analisados na forma de acetatos de alditóis parcialmente metilados por CG-EM e identificados pelo tempo de retenção e perfil dos fragmentos de massa.

3.4.3. Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM)

As análises cromatográficas em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa foram realizadas em cromatógrafo gasoso Varian, modelo 3800, acoplado a espectrômetro de massa Saturn 2000R (GC-MS) utilizando coluna DB-225. Durante a injeção da amostra a temperatura foi de 50ºC sendo então programada para aumentar 40ºC. min^{-1} até atingir a temperatura constante de 220ºC (para análise de alditol acetato) ou 215ºC (para análise de alditol acetato parcialmente metilado). Hélio foi usado como gás de arraste, a um fluxo de 1,0 $ml.min^{-1}$.

3.4.4. Determinação da homogeneidade

As análises de homogeneidade das amostras foram realizadas em HPSEC-MALLS (Cromatografia de exclusão estérica acoplada à detecção por índice de refração e espalhamento de luz), que utiliza um cromatógrafo líquido de alta eficiência, modelo WATERS 2410, acoplado a um detector de índice de refração conectado em série com um detector de espalhamento de luz (modelo 64 DAWN DSP, Wyatt Technologies Corporation, EUA).

3.4.5. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram realizados em espectrômetro BRUKER, modelo Avance-DRX-400 (Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular - UFPR) e Avance III 400 (Departamento de Química - UFSCar).

As análises foram realizadas a 70ºC, com as amostras de polissacarídeos (~ 40 mg), solubilizadas em óxido de deutério (D_2O) ou dimetilsulfóxido deuterado (Me_2SO-d_6). Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm (δ), de acordo com os padrões internos tetrametilsilano (TMS; $\delta_{C/H} = 0,0$) ou acetona (TMS; $\delta_C = 30,2$) para as amostras solúveis em D_2O e ao sinal de ^{13}C do Me_2SO-d_6 em $\delta = 39,7$, para as amostras solúveis no mesmo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Análise Química dos Polissacarídeos do Extrato Aquoso (HW)

Conforme descrito anteriormente (Materiais e Métodos), o cogumelo, após deslipidificação, foi submetido a extrações aquosas, resultando em um extrato denominado extrato aquoso, o qual foi submetido à precipitação com etanol em excesso (3:1; v/v) (Figura 1) para a obtenção dos polissacarídeos (fração HW; 16,4 g). Esta fração bruta apresentou ser constituída, principalmente, por fucose (8,5%), manose (21,0%), galactose (25,7%) e glucose (39,7%) (analisados como acetatos de alditóis em CG-EM) (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição monossacarídica e rendimento das frações obtidas do extrato aquoso a quente de *Boletus edulis*.

FRAÇÕES	Rendimento (g%) [a]	Composição monossacarídica (mol %)b						
		Rha [c]	Fuc [c]	Ara [c]	Xyl [c]	Man [c]	Gal [c]	Glc [c]
HW	11,5	2,1	8,5	-	3,0	21,0	25,7	39,7
IHW	1,7	25,7	-	-	-	28,2	14,5	31,6
SHW	9,8	-	4,8	-	2,1	21,2	20,7	51,2
MRSHW	1,9	0,5	4,9	0,9	4,6	23,6	15,6	49,9
MESHW	5,7	-	6,9	-	-	20,9	20,7	51,5
SF-MESHW	1,1	0,4	5,4	0,7	3,1	18,6	15,4	56,4
PF-MESHW	0,8	-	12,7	0,5	3,8	23,3	52,8	6,9
CR-PF2ME	0,4	-	7,6	-	4,0	28,9	50,8	8,7
CE-PF2ME	0,01	-	11,4	2,2	1,1	16,0	53,5	15,8
QE-PF2ME	0,1	-	11,2	-	1,0	20,6	60,4	6,8

[a] Rendimento calculado em relação ao peso seco (142,73 g)
[b] Analisado em GC-MS após hidrólise ácida total, redução ($NaBH_4$) e acetilação.
[c] Rha: ramnose; Fuc: fucose; Ara: arabinose; Xyl: xilose; Man: manose; Gal: galactose e Glc: glucose.

Com a finalidade de purificação, a fração HW foi submetida a diversas técnicas de fracionamento, as quais estão ilustradas na Figura 2. Como primeira etapa de purificação este material foi submetido à precipitação por congelamento e degelo, resultando em uma fração solúvel (SHW; 14,05 g) e uma insolúvel em água fria (IHW; 2,35 g) (Figura 2).

A fração SHW apresentou fucose (4,8%), xilose (2,1%), manose (21,2%), galactose (20,7%) e glucose (51,2%) como monossacarídeos, enquanto que a fração IHW foi composta por ramnose (25,7%), manose (28,2%), galactose (14,5%) e glucose (31,6%) (Tabela 1).

A fração SHW apresentou-se heterogênea quando analisada por HPSEC (Figura 4A), sendo submetida à diálise em membrana com limite de exclusão de 1000 kDa (sistema fechado). Este processo originou uma fração retida e outra eluída, denominadas MRSHW e MESHW, respectivamente (Figura 2). Estas frações mostraram-se similares quanto à composição monossacarídica (Tabela 1), porém seus espectros de RMN-^{13}C apresentaram-se distintos (Figuras 5 e 6, respectivamente).

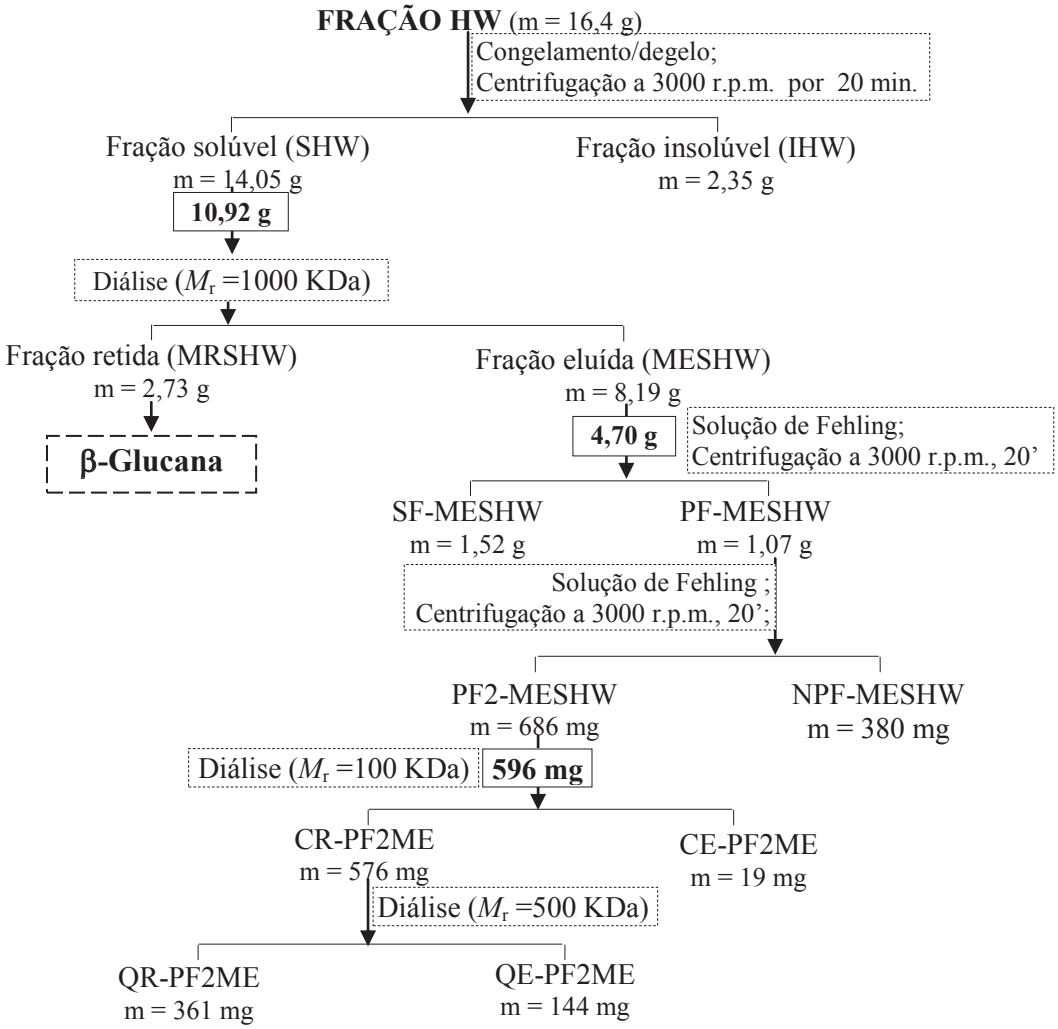


Figura 2- Esquema de extração dos polissacarídeos obtidos dos basidiomas de *Boletus edulis*, por extrações aquosas.

A partir da fração retida (MRSHW) foi isolada e caracterizada, em estudos anteriores, uma β-glucana ramificada com cadeia principal ligada (1→3), sendo a cada três unidades da cadeia principal substituídas em O-6 por terminais não redutores de β-D-Glc*p* (Figura 3).

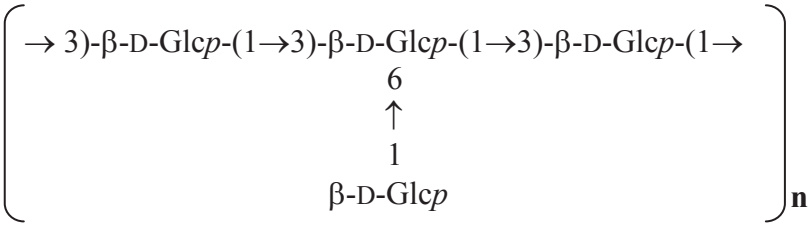


Figura 3 - Esquema da estrutura da β-glucana isolada de *B. edulis*

Apesar de apresentar uma composição monossacarídica similar à fração MRSHW, a partir da fração eluída (MESHW) foi isolada uma heterogalactana, porém devido à heterogeneidade desta fração, observada por HPSEC-MALLS (Figura 4B), foram necessários adicionais processos de purificação. Primeiramente, a mesma foi tratada com solução de Fehling, separando-a em uma porção solúvel (SF-MESHW; 1,52 g) e outra insolúvel (fração PF-MESHW; 1,07 g) nesta solução (Figura 2). Como pode ser observado por HPSEC-MALLS (Figura 4C e D, respectivamente) e CG-EM (Tabela 1), as frações SF-MESHW e PF-MESHW apresentaram-se distintas tanto no seu perfil de eluição quanto na composição monossacarídica, mostrando que esta etapa foi eficiente no fracionamento.

Este tratamento foi repetido para a fração PF-MESHW para garantir melhor separação por esse procedimento, resultando na fração PF2-MESHW (686 mg) (Figura 2). Apesar disso, quando analisada por HPSEC-MALLS (Figura 4D), esta fração ainda apresentava-se heterogênea, portanto a mesma foi submetida à diálises, sequenciais, em membranas com limites de exclusão de 100 e 500 kDa, resultando em frações retidas (CR-PF2ME, 576 mg; QR-PF2ME, 361 mg, respectivamente) e eluídas (CE-PF2ME, 19 mg; QE-PF2ME, 144 mg, respectivamente).

Estas frações mostraram-se similares a fração de origem (PF2-MESHW) através das análises de RMN de ^{13}C (Figuras 7 e 8) e composição monossacarídica (Tabela 1), sugerindo que elas podem apresentar o mesmo polissacarídeo, mas com diferentes massas molares, como evidenciado por HPSEC-MALLS (Figura 4F, G e H). Sendo assim, as análises adicionais de caracterização estrutural estão sendo realizadas apenas para a fração nativa

(PF2-MESHW). No entanto, as demais frações serão purificadas para a determinação da massa molar destas moléculas.

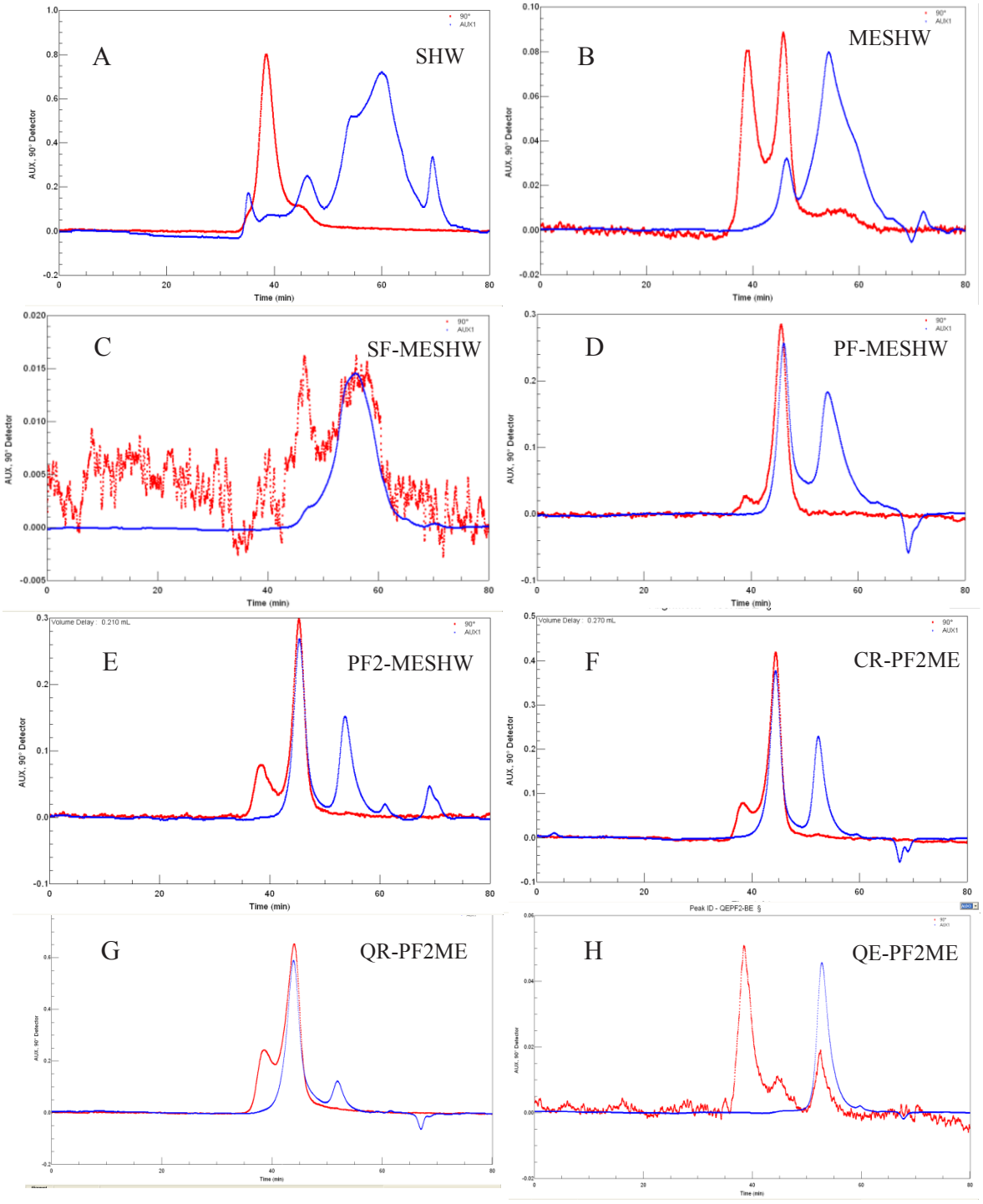


Figura 4 - Perfis de eluição, por HPSEC-MALLS, das frações SHW (A), MESHW (B), SF-MESHW (C), PF-MESHW (D), PF2-MESHW (E), CR-PF2ME (F), QR-PF2ME (G), QE-PF2ME (H).

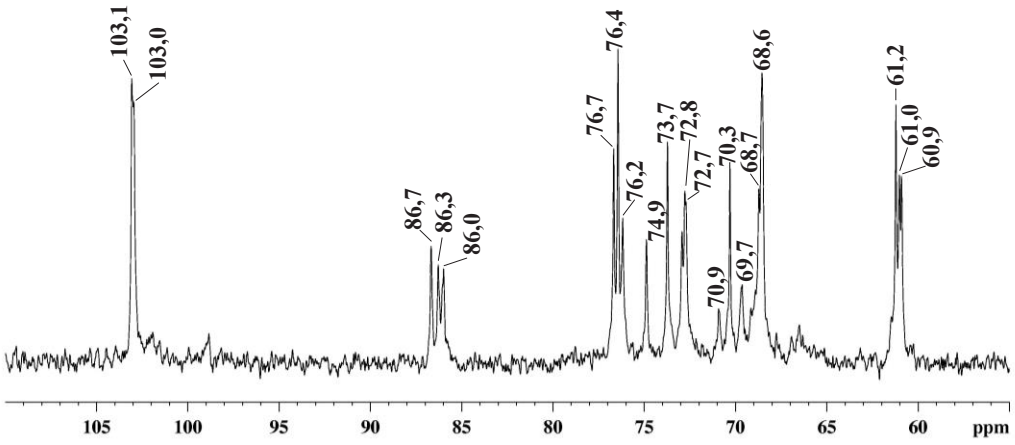


Figura 5- Espectro de RMN-^{13}C da fração MRSHW obtida do corpo de frutificação de *B. edulis,* em Me_2SO-d_6 a 70°C.

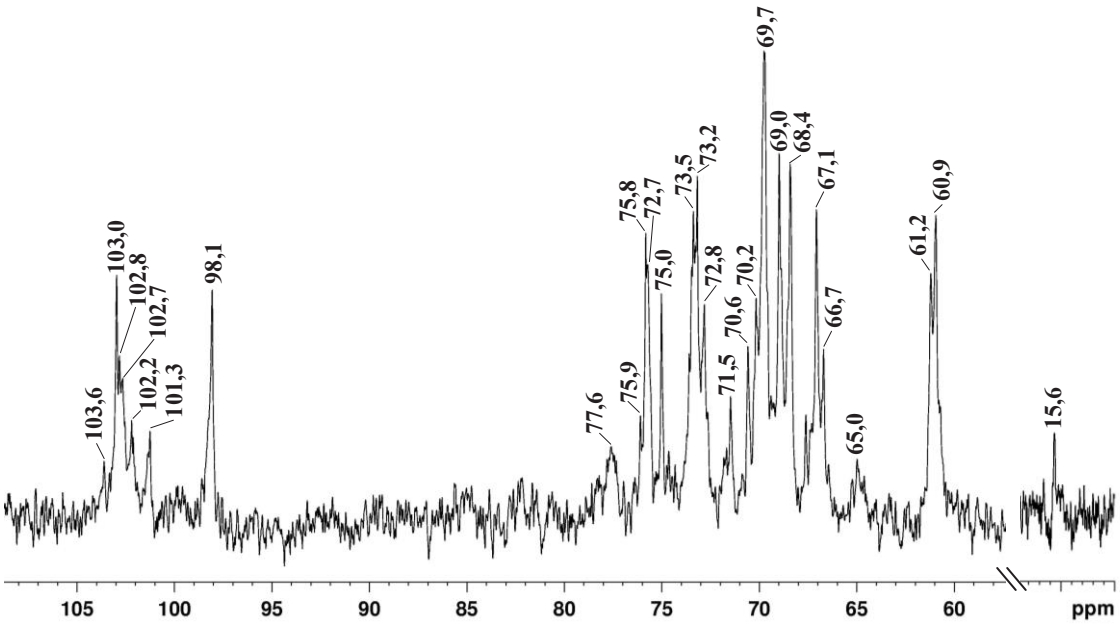


Figura 6- Espectro de RMN-^{13}C da fração MESHW obtida do corpo de frutificação de *B. edulis,* em D_2O a 70°C.

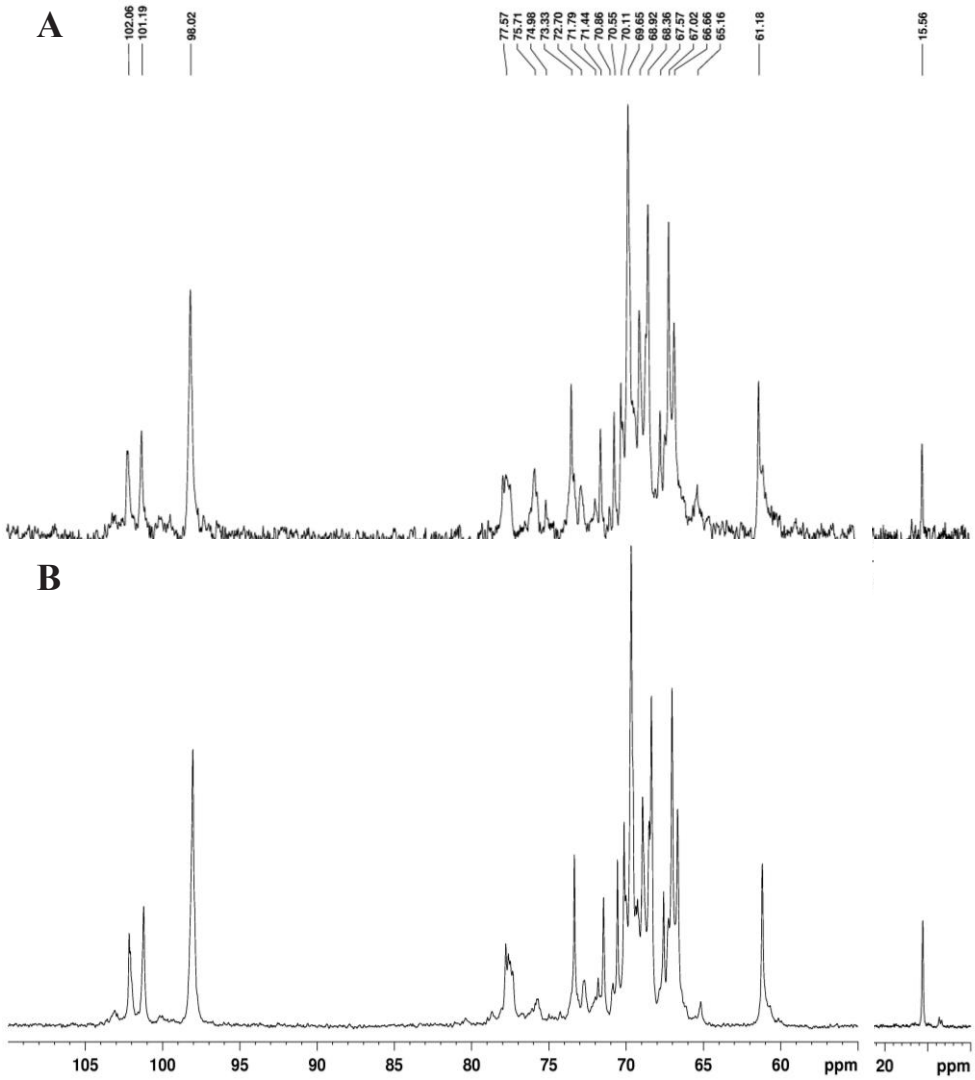
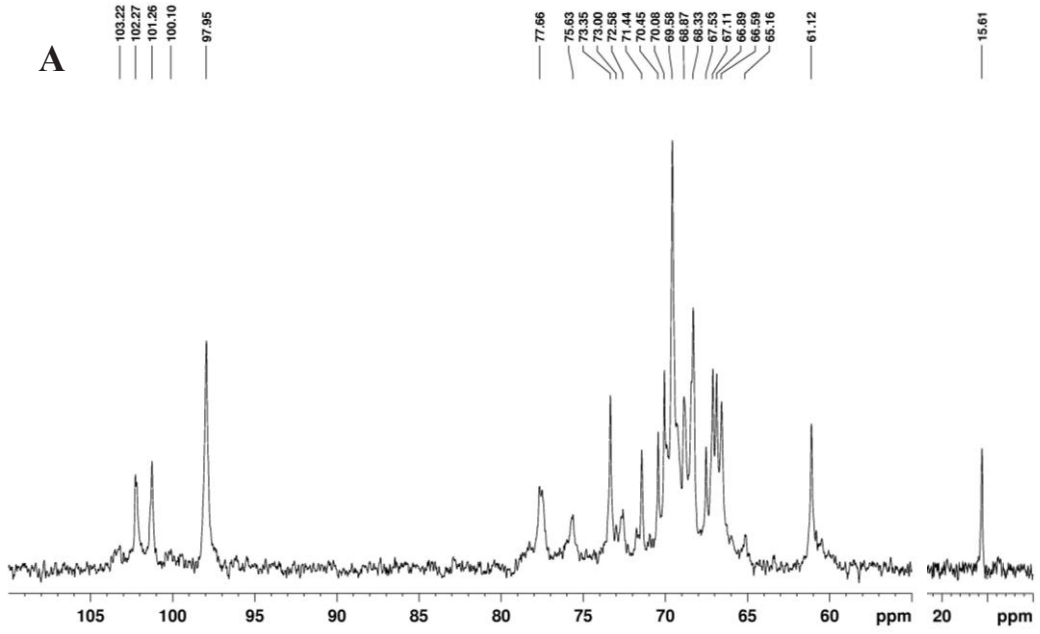


Figura 7- Espectros de RMN-^{13}C das frações PF-MESHW (A) e PF2-MESHW (B), em D_2O a 70°C.



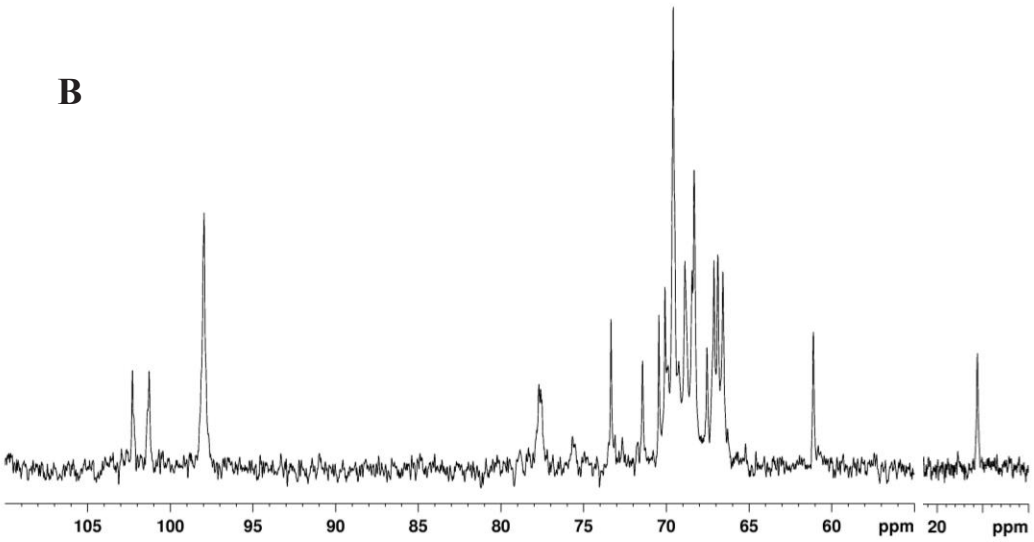


Figura 8- Espectros de RMN-^{13}C das frações QR-PF2ME (A) e QE-PF2ME (B), em D_2O a 50°C.

Os espectros de RMN-^{13}C deste heteropolissacarídeo (Figuras 7 e 8) apresentaram sinais na região anomérica (C-1) correspondentes aos terminais não redutores de α-D-Man*p* (δ 102,1), as unidades de Fuc*p* 3-*O*-substituídas (δ 101,3) e as unidades de α-D-Gal*p* 2,6-di-*O*- e 6-*O*-substituída (δ 98,0) da cadeia principal. Os sinais de C-6 substituídos em δ 67,3 e 66,7 sugerem a presença da ligação glicosídica do tipo (1→6). Esta foi confirmada por inversão dos correspondentes sinais na análise RMN de ^{13}C-DEPT (Figura 9). Os sinais observados em δ 77,7 e 77,6 referem-se ao C-2 das unidades de α-D-Gal*p* 2,6-di-*O*-substituídas, confirmando a substituição em O-2, e ao C-3 substituído das unidades de Fuc*p*. Sinais em δ 15,6 confirmam a presença do grupo –$\underline{CH_3}$ das unidades de Fuc*p*.

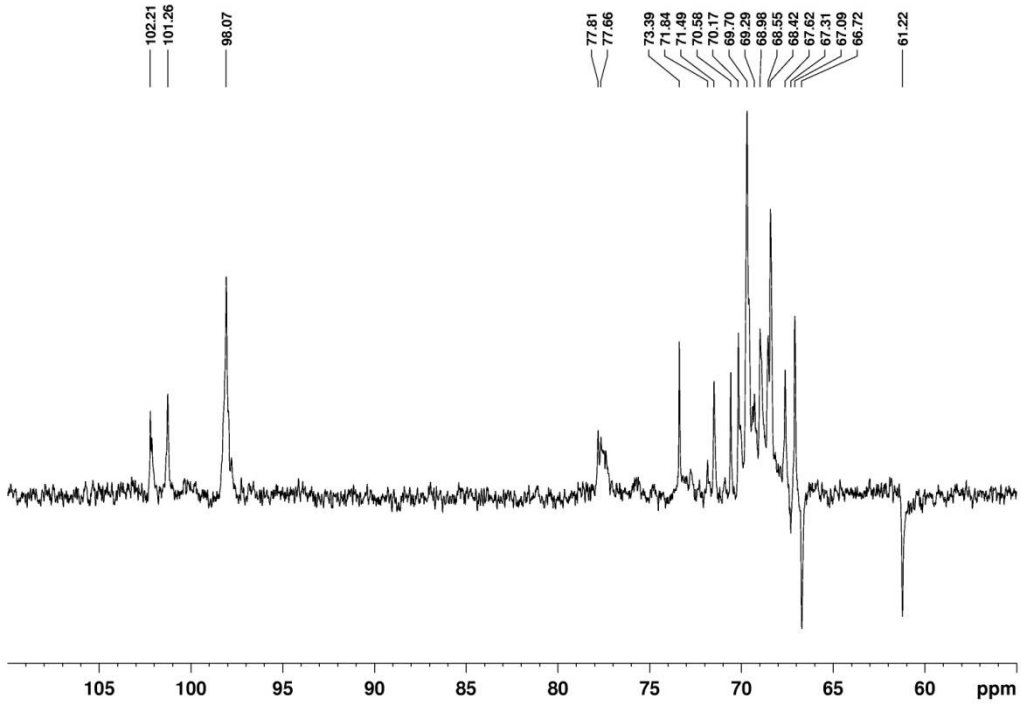


Figura 9- Espectro de RMN-^{13}C-DEPT da fração PF2-MESHW, em D_2O a 70°C.

Os dados obtidos por metilação desta fração estão de acordo com os observados por RMN de ^{13}C (Figura 7B), sugerindo a presença de um polissacarídeo com cadeia principal composta por unidades de galactose unidas por ligações glicosídicas do tipo (1→6) (2,3,4-Me_3Gal), as quais podem apresentar-se substituídas em O-2 (3,4-Me_2Gal), principalmente, por cadeias laterais constituídas pelo dissacarídeo 3-*O*-manopiranosil-L-fucopiranosil ou por terminais não redutores de manose (2,3,4,6-Me_4Man) e fucose (2,3,4-Me_3-Fuc), principalmente (Tabela 2).

Tabela 2 - Análise por metilação da heterogalactana (fração PF2-MESHW) isolada dos basidiomas de *B.edulis*.

Acetatos de alditóis parcialmente *O*-metilados [a]	**T_R** [b]	**mol %**	**Tipo de Ligação** [c]
2,3,4 Me_3 Fuc	7.700	5,5	Fuc*p* (1→
2,3,4,6 Me_4Man	9.054	15,5	Man*p* (1→
2,4 Me_3 Fuc	9.299	8,6	→3) Fuc*p* (1→
2,3,4,6 Me_4Gal	9.656	2,7	Gal*p* (1→
2,3,4 Me_3Gal	14.696	40,2	→6) Gal*p* (1→
3,4 Me_2Gal	21.194	27,5	→2,6) Gal*p* (1→

[a] Analisado em CG-EM (coluna DB 225) após metilação, hidrólise ácida total (ácido fórmico 45% por 9 h e 30 min.), redução (NaB^2H_4) e acetilação.
[b] Tempo de retenção (min.)
[c] Baseado nos derivados acetilados parcialmente *O*-metilado

Os resultados observados corroboram para uma fucomanogalactana ramificada com uma cadeia principal composta por unidades de α-D-Gal*p* (1→6)-ligadas (A), sendo parte destas unidades substituídas em O-2, principalmente, pelo dissacarídeo 3-*O*-D-manopiranosil-L-fucopiranosil (E) ou por terminais não redutores de α-D-Man*p* (B) e α-L-Fuc*p* (C), e em menor proporção com α-D-Gal*p* (D) (Figura 10).

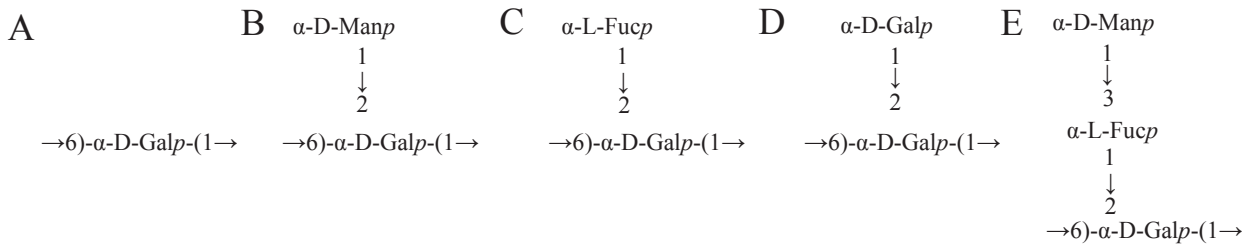


Figura 10 – Esquema das possíveis estruturas da fucomanogalactana de *Boletus edulis*.

Heterogalactanas contendo a mesma cadeia principal têm sido comumente isoladas dos basidiomicetos. No entanto, estruturas similares à encontrada neste trabalho têm sido descrita apenas em *Laetiporus sulphureus* (ALQUINI et al., 2004).

4.2. Análise Química dos Polissacarídeos dos Extratos Alcalinos (K1 e K30)

Os extratos alcalinos obtidos (K1 e K30) foram, primeiramente, submetidos ao processo de congelamento e degelo, resultando em frações solúveis (SK1 e SK30) e insolúveis em água fria (IK1 e IK30). Estas frações mostraram-se distintas quanto às composições monossacarídicas, sendo a fração insolúvel IK1 composta, principalmente, por manose, galactose e glucose, e as solúveis (SK1 e SK30) por glucose (83,7% e 95,8%, respectivamente) (Tabela 3).

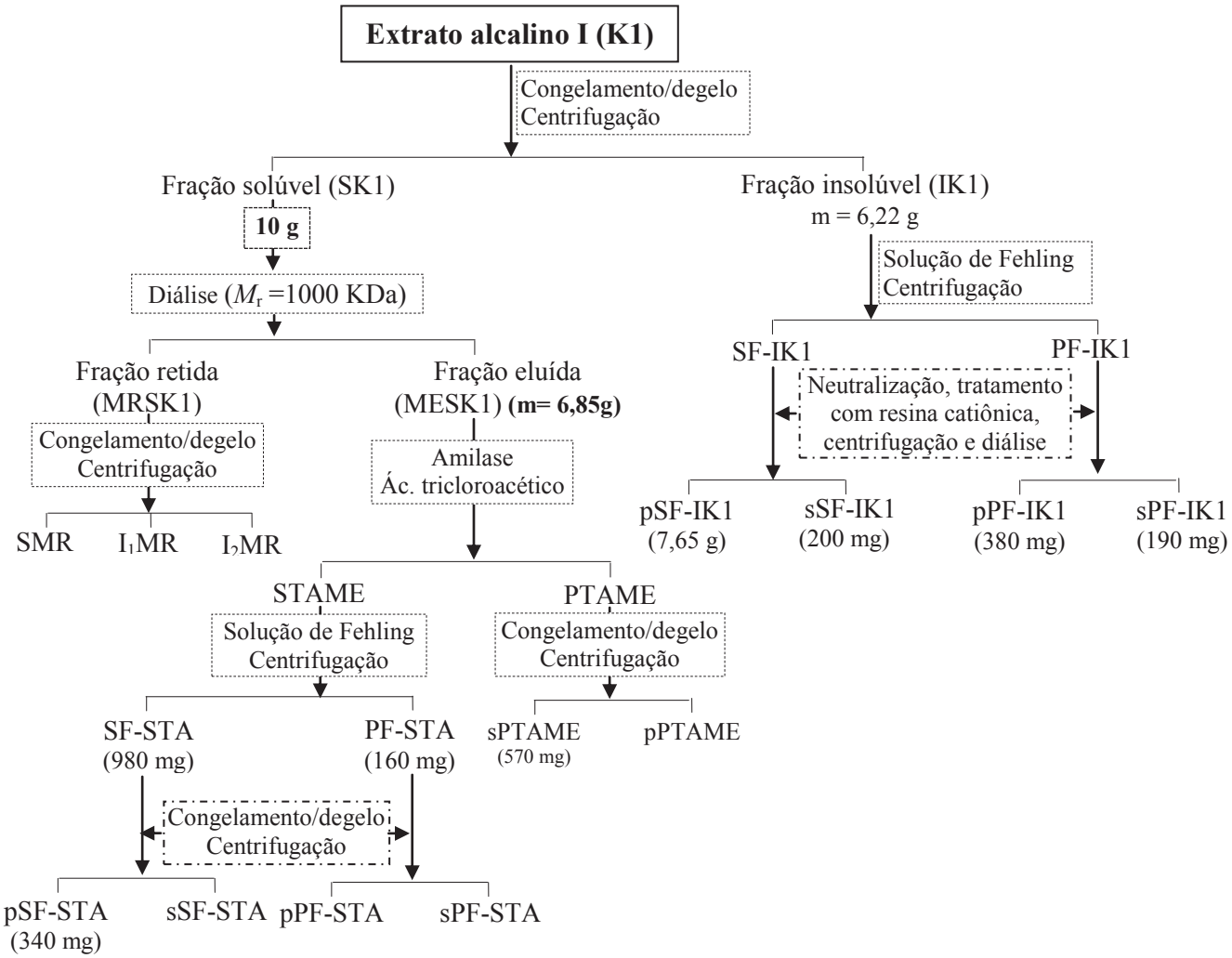


Figura 11- Esquema de extração dos polissacarídeos obtidos dos basidiomas de *Boletus edulis*, por extrações alcalinas.

Com a finalidade de purificação, a fração SK1 foi submetida à diálise em membranas com MWCO de 1000 kDa, resultando em uma fração retida (MRSK1) e outra eluída (MESK1) (Figura 11), as quais se apresentaram similares a fração de origem quanto a composição monossacarídica (Tabela 3). Esta similaridade também foi observada nos espectros de RMN-^{13}C das frações SK1 e MESK1 (Figura 12 e 13), os quais foram similares ao do glicogênio, sendo este removido por degradação enzimática (amilase) seguida por adição de ácido tricloroacético. A fração solúvel (STAME) e a insolúvel (PTAME) resultante deste procedimento foram compostas principalmente por manose, galactose e glucose (Tabela 3). Cabe ressaltar que esta etapa foi eficiente na remoção do glicogênio, pois é possível observar a diminuição dos seus sinais no espectro de RMN-^{13}C da fração STAME (Figura 14).

Tabela 3 – Composição monossacarídica das frações obtidas do extrato alcalino de *Boletus edulis*.

Frações	Monossacarídeos (mol %)				
	Fuc [b]	Xyl [b]	Man [b]	Gal [b]	Glc [b]
K1		3,2	18,6	13,2	65,0
SK		2,7	7,2	6,4	83,7
PK	2,8	8,2	24,6	10,6	46,8
MESK		1,0	8,2	8,0	82,8
MRSK		2,6	8,3	3,6	85,5
sMRSK		3,1	11,7	0,5	84,7
pMRSK		4,6	11,4	3,8	80,2
STAME	3,6	3,9	13,8	13,1	65,4
PFSTA	11,9	1,8	14,0	51,0	21,3
SFSTA	2,7	6,7	12,1	12,3	63,1
SPTAME			10,1	16,8	66,4
pSFPK	3,0	2,5	10,9	10,7	61,7
pPFPK	5,7	6,7	31,2	18,7	29,9
SK30 [a]	0,3	0,7	1,3	0,35	95,8

[a] Apresentou 1,54 % de arabinose
[b] Rha: ramnose; Fuc: fucose; Ara: arabinose; Xyl: xilose; Man: manose; Gal: galactose e Glc: glucose.

Devido à presença dos monossacarídeos fucose, manose e galactose nas frações STAME e IK1, estas foram submetidas à precipitação com solução de Fehling, resultando em complexos cúpricos solúveis (SF-STA e SF-IK1) e insolúveis (PF-STA e PF-IK1). Como podem ser observados na Tabela 3, os percentuais destes monossacarídeos aumentaram nas frações PF-STA e PF-IK1, sugerindo a presença de heterogalactanas nestas frações.

Cabe ressaltar que durante o fracionamento da fração SK1 foi necessário refazer o processo de congelamento/degelo para algumas subfrações (MRSK1, SF-STA, PF-STA e PTAME) devido à perda de solubilidade de água (Figura 11).

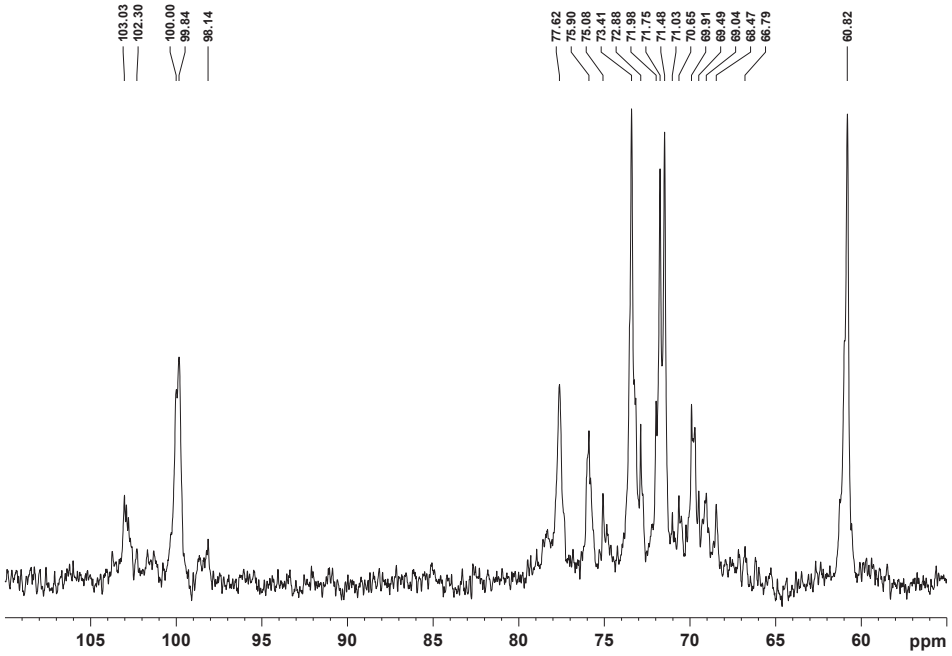


Figura 12 – RMN-^{13}C da fração SK1-Be, em D_2O a 70°C.

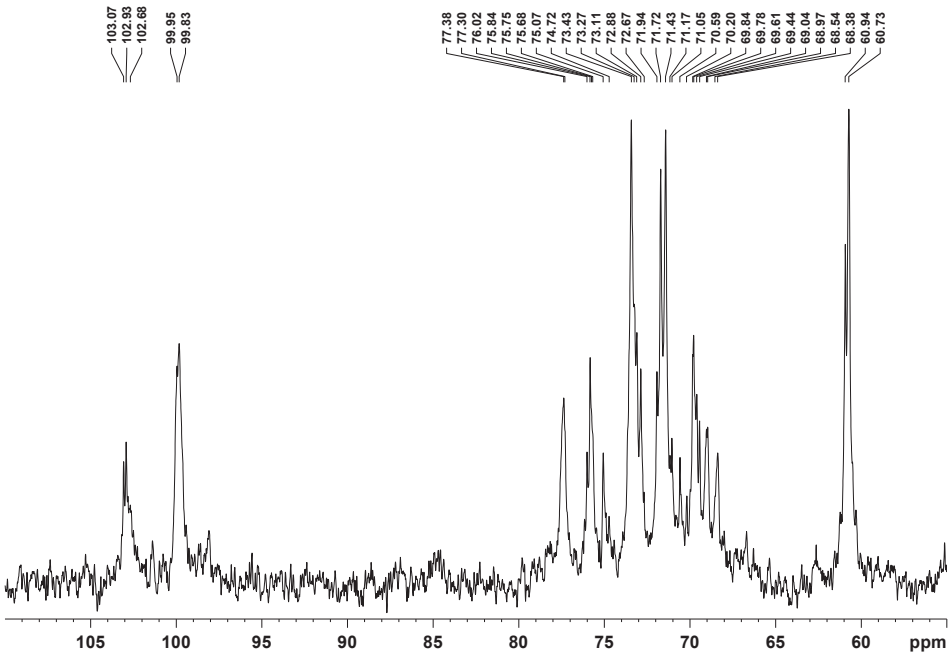


Figura 13 – RMN-^{13}C da fração MESK-Be, em D_2O a 50°C.

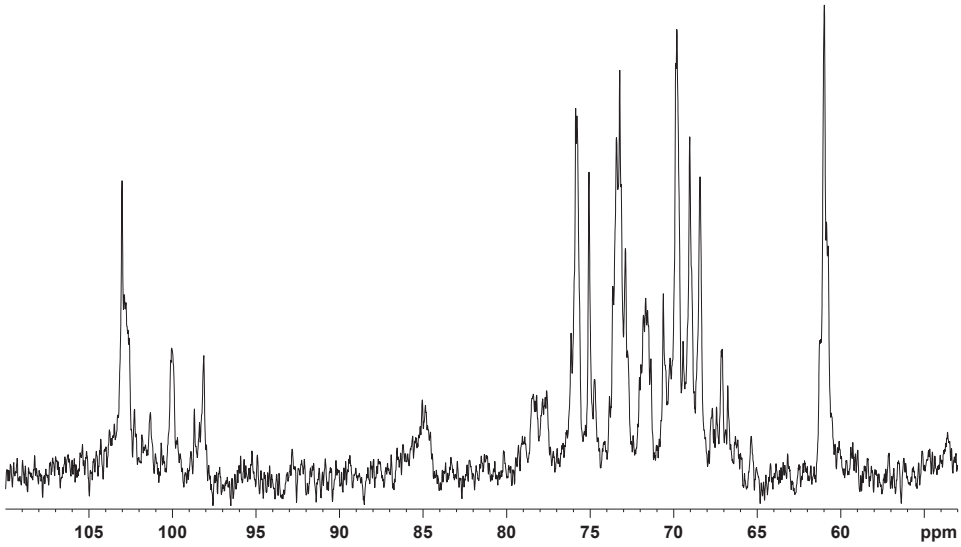


Figura 14 – RMN-^{13}C da fração STAME-Be, em D_2O a 70°C.

5. CONCLUSÃO

A partir dos basidiomas de *B. edulis* foram isoladas uma β-glucana contendo uma cadeia principal constituída por β-Glc*p* ligadas (1→3), as quais apresentaram-se parcialmente substituídas em O-6 por terminais não redutores de β-Glc*p* e uma fucomanogalactana contendo uma cadeia principal formada por α-D-Gal*p* (1→6) ligadas, parcialmente ramificadas em O-2, principalmente, pelo dissacarídeo 3-*O*-D-manopiranosil-L-fucopiranosil ou por α-D-Man*p* e α-L-Fuc*p*.

Levando em consideração as propriedades medicinais destes basidiomicetos e aos efeitos biológicos atribuídos a esta classe de polímeros, as moléculas isoladas neste trabalho podem apresentar-se como bons candidatos a serem avaliados quanto ao seu potencial biológico, especialmente em relação aos efeitos antitumoral, imunomodulatório, antinociceptivo e/ou anti-inflamatório.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Além da β-glucana e da fucomanogalactana isolada, outras frações foram purificadas e estão sendo caracterizadas estruturalmente.

Cabe ressaltar que foi necessário extrair novamente os polissacarídeos deste fungo, porém o procedimento adotado foi modificado devido à dificuldade de purificação do extrato aquoso, principalmente, em relação à fração contendo a heterogalactana a qual apresentou baixos percentuais de uma xilomanana.

7. REFERÊNCIAS

ALQUINI, G.; CARBONERO, E. R.; ROSADO, F. R.; COSENTINO, C.; IACOMINI, M. Polysaccharides from the fruit bodies of the basidiomycete *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr. **FEMS Microbiology Letters**, v. 230, p. 47-52, 2004.

CARBONERO, E.R. Polissacarídeos de fungos liquenizados contendo diferentes fotobiontes. Curitiba, Programa de Pós-Graduação em ciências Biológicas – UFPR, 2005. Tese de doutorado, 120 p.

CHANG, S. T. Global impact of edible and medicinal mushroom human welfare in the 21st century: nongreen revolution. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 1, p. 1- 8, 1999.

CHANG, S. T. The development of the mushroom industry in China, with a note on possibilities for Africa. **Acta Edulis Fungi**, v. 12, p. 3-19, 2005.

CIUCANU, I.; KEREK, F. A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates. **Carbohydrate Research**, v. 131, p. 209-217, 1984.

JONES, J. K. N.; STOODLEY, R. J. Fractionation using copper complexes. **Methods in Carbohydrate Chemistry**, v. 5, p. 36-38, 1965.

KOMURA, D. L., CARBONERO, E.R., GRACHER, A. H. P., BAGGIO, C. H., FREITAS, C. S., MARCON, R., SANTOS, A. R. S., GORIN, P. A. J., IACOMINI, M. Structure of *Agaricus* spp. fucogalactans and their anti-inflammatory and antinociceptive properties. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 6192-6199, 2010.

LINDEQUIST, U.; NIEDERMEYER, T. H. J.; JÜLICH, W. The Pharmacological potential of mushrooms. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine,** v. 2 (3), p. 285-299, 2005.

MORADALI, M. F.; MOSTAFAVI, H.; GHODS, S.; HEDJAROUDE, G. A. Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). **International Immunopharmacology**, v. 7, p. 701-724, 2007.

RESHETNIKOV, S. V.; WASSER, S. P.; TAN, K. K. Higher Basidiomycota as a source of antitumor and immunostimulating polysaccharides. **International Journal** of **Medicinal Mushrooms**, v. 3, p. 361-394, 2001.

SMITH, J. E.; ROWAN, N. J.; SULLIVAN, R. Medicinal mushrooms: a rapidly developing area of biotechnology for cancer therapy and other bioactivities. **Biotechnology Lett**ers, v. 24, p. 1938-1845, 2002.

WASSER, S. P. Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. **Applied Microbiology and Biotechnology,** v. 89, p. 1323-1332, 2011.

WASSER, S. P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 60, p. 258-274, 2002.

WASSER, S. P.; WEIS, A. Therapeutic effects of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. **Critical Reviews in Immunology**, v. 19, p. 65-96, 1999.

WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Acetylation. **Methods in Carbohydrate Chemistry,** v. 2, p. 211-215, 1963b.

WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Reduction with sodium borohydride. **Methods in Carbohydrate Chemistry**, v. 2, p. 65-67, 1963a.

ZHANG, M.; CUI, S. W.; CHEUNG, P. C. K.; WANG, Q. Antitumor polysaccharide from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. **Food Science and Technology**, v. 18, p. 4-19, 2007.

TIPAGEM FENOTÍPICA POR ANTIBIOGRAMA TRADICIONAL E ANTIBIOGRAMA QUANTITATIVO EM ISOLADOS DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTES À OXACILINA

Soares, R.S[1].; Kobayashi, C.C.B.A[2].; Vieira, J.D.G.[2]; Sadoyama, G[1].

1-Departamento de Ciências Biológicas - Campus Catalão - UFG

2- Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública - IPTSP - UFG.

e-mail: renan_souza37@hotmail.com.br

Orientado: Renan de Souza Soares

Orientador: Geraldo Sadoyama Leal

Universidade Federal de Goiás *Campus* Catalão, Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório Microbiologia e Bioquímica, Av. Dr. Lamartine Pinto de Avelar, 1120, Setor Universitário, Cep: 75704-020,Brasil

renan_souza37@hotmail.com (orientado), gsadoyama@yahoo.com.br (orientador)

Revisado pelo orientador

Resumo: O *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina/oxacilina (MRSA) é um importante patógeno causador de infecções relacionadas à assistência à saúde e na comunidade. O estudo verificou a taxa de multirresistência e resistência associada entre antimicrobianos pelo MRSA, além de analisar seu perfil clonal por meio do antibiograma tradicional e quantitativo. As amostras estocadas no Laboratório de Bacteriologia Médica, Ambiental e Biotecnologia/IPTSP foram recuperadas e os testes de resistência antimicrobiana foram realizados de acordo com Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). A resistência associada a uma droga foi calculada na presença e ausência de resistência a outra droga analisada. Verificou-se que a maioria dos isolados de MRSA apresentou perfil de multirresistência. Foi verificada resistência associada entre os antimicrobianos ciprofloxacina (RR: 2,0), tetraciclina (RR:1,9), sulfametoxazol-trimetoprim (RR: 2,0) e eritromicina (RR: 2,0) com oxacilina. Grupos heterogêneos de amostras foram identificados na análise de similaridade devido às diferenças entre a discriminação dos tipos de MRSA utilizando-se o método de tipagem por antibiograma quantitativo e tradicional (perfil de resistência). A metodologia tradicional permitiu discriminar cinco tipos diferentes de MRSA, enquanto a quantitativa permitiu a descriminação de sete tipos. Este último possui poder discriminatório maior, entretanto constitui uma técnica laboriosa, uma vez que os discos padronizados não são comercializados e necessitam ser confeccionados.

Palavras-chave: MRSA, antibiograma, resistência associada, multirresistência.

1 INTRODUÇÃO

A relevância do *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina/oxacilina (MRSA) como agente causador de infecções relacionadas à assistência à saúde e na comunidade é amplamente reconhecido. Estudos demonstram que as infecções promovidas por MRSA ocasionam grande impacto clínico, pois limitam as opções de tratamento das infecções, provocando aumento da taxa de morbimortalidade, aumento da necessidade de utilização de antimicrobianos de amplo espectro ou mais tóxicos, além de prorrogar o período de internação de pacientes (AN et al., 2013; KUMAR et al., 2012; PAN et al., 2013; RODRIGUES et al., 2013; SHENOY et al., 2013).

Micro-organismos multirresistentes são aqueles resistentes a três ou mais antimicrobianos, podendo os mesmos pertencer a classes relacionadas (resistência cruzada) ou de classes não relacionadas (resistência associada). Esses isolados surgem e são selecionados devido a diferentes fatores, sendo o principal deles as condutas terapêuticas empíricas e inadequadas por parte da população (QUEIROZ et al., 2012). As infecções causadas por MRSA são verdadeiras barreiras clínicas, uma vez que apresentam alta capacidade de desenvolvimento de resistência devido à maior adaptação sob pressão seletiva do uso intenso de antimicrobianos (KOBAYASHI; SADOYAMA; VIEIRA, 2009).

A introdução e consequente transmissão de MRSA em unidades hospitalares estão associadas de forma significante a rotina hospitalar, principalmente a demasiada utilização de antimicrobianos e a falta de higienização das mãos (KIM et al., 2013). O uso inapropriado de antimicrobianos caracteriza-se por ser um fator de risco para a seleção de micro-organismos multirresistentes e a falta de higienização das mãos dos profissionais da saúde está ligada a transmissão destas cepas no ambiente. Portanto, medidas de prevenção de programas institucionais de controle de infecção e vigilância têm-se mostrado eficientes para a diminuição na incidência de infecções causadas por cepas bacterianas resistentes (KIM et al., 2013; JAIN et al., 2011; JOHNSON et al., 2012).

A resistência antimicrobiana em MRSA é essencialmente mediada pela expressão de uma proteína de ligação a penicilina modificada (PBP-2a) codificada pelo gene *mecA*, ausente em cepas sensíveis (BOSGELMEZ-TINAZ et al., 2006). A identificação do gene *mecA* em cepas bacterianas de *S. aureus* a partir de dados obtidos pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é considerada "gold standard" para detecção de MRSA (GHOSHAL et al., 2004). No entanto esta técnica molecular não é acessível à maioria dos laboratórios de microbiologia clínica. O Clinical and Laboratory Standards Institute recomenda a utilização

de técnicas fenotípicas como a disco-difusão ou microdiluição para determinação de resistência a oxacilina. Quando da utilização de técnica de disco difusão, dever-se-á utilizar discos de 30 µg de cefoxitina, pois este correlaciona melhor com a presença do gene *mecA* (CLSI, 2012a).

A utilização de análises epidemiológicas para avaliar o fenótipo MRSA caracteriza uma das metodologias mais utilizadas nos laboratórios de microbiologia clínica, uma vez que este possui um custo de implantação e manutenção menor quando comparado com as técnicas moleculares (BOSGELMEZ-TINAZ et al., 2006). A identificação do perfil de suscetibilidade de MRSA representa uma maneira de minimizar a problemática associada a estes micro-organismos, além de auxiliar no uso racional de antimicrobianos, diminuindo sua utilização indiscriminada e a terapia empírica.

2 OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo verificar a taxa de resistência das amostras MRSA e resistência associada a outros antimicrobianos, assim como determinar o perfil clonal das amostras MRSA por antibiograma tradicional e antibiograma quantitativo.

3 METODOLOGIA

Um total de 60 amostras de *S. aureus* resistentes a oxacilina (MRSA) isoladas no período de agosto/2008 a julho de 2009, congeladas e estocadas no Laboratório de Bacteriologia Médica, Ambiental e Biotecnologia/IPTSP, foram escolhidas de forma aleatória, sendo que desse total recuperou-se 27 amostras que foram subcultivadas em Agar nutriente para submissão aos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos.

3.1 Técnica de Suscetibilidade aos Antimicrobianos

3.1.1 Antibiograma Tradicional

As amostras foram cultivadas em caldo TSB a 35ºC por 4 a 6 horas e diluídas em solução salina até atingir turvação correspondente ao tubo 0,5 da escala MacFarland (1-2.10^8 UFC/mL) e semeadas com swab na superfície do meio (CLSI, 2012a). Foram utilizados os seguintes discos de antimicrobianos: oxacilina, tetraciclina, sulfametoxazol-trimetoprim,

ciprofloxacina, ceftazidima, imipenem, rifampicina, eritromicina, linezolida, cefoxitina e gentamicina. A suscetibilidade será verificada após 18 horas a 24 horas de incubação a 35ºC. A determinação do halo de inibição foi feita manualmente utilizando um paquímetro. Foi utilizado como controle a *S. aureus* ATCC® 25923. O perfil de suscetibilidade foi determinado de acordo com os critérios do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012b).

3.1.2 Teste de Microdiluição em Caldo

Para determinação da suscetibilidade/resistência à vancomicina, uma suspensão bacteriana padronizada na escala de Mc Farland 0,5 (1 a 2 x 10^8 UFC/mL), foi diluída 1\100 em caldo Müeller Hinton para obter um inoculo de 1 a 2 x 10^6 UFC/mL. Cerca de 50 µL da suspensão foi adicionada a uma microplaca contendo a vancomicina diluída em concentrações seriadas de 0,125 µg/ml a 512 µg/mL. A concentração final do inoculo foi de 5 x 10^5 UFC \mL (5 x 10^4 UFC /poço). Cada placa conteve um poço de controle de crescimento (contendo 50 µL de caldo e 50 µL de suspensão bacteriana), para avaliar a viabilidade do microrganismo a ser testado e um poço negativo (não inoculado, contendo apenas antimicrobiano diluído). As microplacas foram incubadas a 35 ± 1°C durante 24 horas completas em aerobiose. A concentração inibitória mínica (MIC), correspondente à menor concentração de um agente antimicrobiano que impede o crescimento visível de um microrganismo nos poços de microdiluição foi detectada a olho nu de acordo com os critérios de interpretação da MIC do antimicrobiano vancomicina descrito no documento M100-S22 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012b).

3.1.3 Antibiograma Quantitativo

Utilizou-se discos de papel de filtro impregnados com oxacilina (PALAZZO; REHDER; DARINI, 2007), vancomicina, gentamicina, cefoxitina e ciprofloxacina em concentrações seriadas de 0,250 a 256µg/mL. Todos os testes foram realizados em duplicata. A análise de similaridade foi feita utilizando os diâmetros dos halos de inibição dos discos com antimicrobianos testados. A distância Euclidiana como coeficiente de similaridade foi feita utilizando o programa de SPSS Statistics 20.0, sendo também construído um dendograma de similaridade por análise de "cluster", segundo a fórmula: Ejk =√ Σn 4 (Xij - Xik)2; i = 1 , j e k = microrganismos, Xij e Xik = diferenças dos valores dos halos de um

microrganismo (i) a outros (j e K). Dois isolados foram considerados similares quando a distância Euclideana entre ambos for menor que o valor do "cutoff", o qual corresponderá ao coeficiente de similaridade maior ou igual que a apresentada pelas amostras controle de *S. aureus* ATCC® 25923.

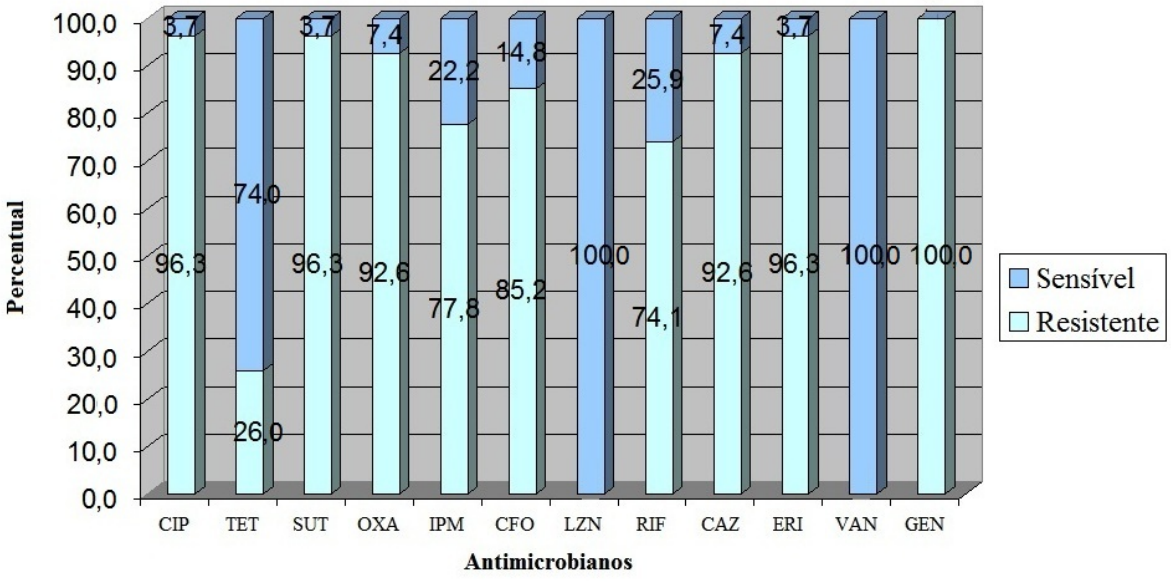
3.1.4 Determinação da resistência associada entre os antimicrobianos

A resistência antimicrobiana a uma droga foi calculada na presença e ausência de resistência a outra droga analisada para cada espécie. A análise da resistência associada foi feita com a ajuda de tabelas de contingência do tipo 2x2 no programa Epi Info versão 7.1.0.6, sendo a resistência a um determinado antimicrobiano comparada com a resistência ou sensibilidade aos outros antimicrobianos. A resistência cruzada será definida como a resistência aumentada a dois ou mais antimicrobianos dentro da mesma classe; resistência associada corresponderá à resistência aumentada a duas ou mais drogas de diferentes classes. A multirresistência será considerada quando as amostras apresentarem resistência igual ou maior que três antimicrobianos de classes diferentes (KOBAYASHI; SADOYAMA; VIEIRA, 2009).

4 RESULTADOS

A taxa de resistência das amostras de *S. aureus* analisadas (Gráfico 1) foi mais elevada para gentamicina (100%), sulfametoxazol-trimetoprim (96,3%), eritromicina (96,3%), ciprofloxacina (96,3%), oxacilina (92,6%), ceftazidima (92,6%), cefoxitina (85,2%), imipenem (77,8%) e rifampicina (74,1%). Valores de resistência menores que 30% foram observados apenas para a tetraciclina (24,0%), sendo todas as amostras suscetíveis a linezolida e vancomicina.

Gráfico 1 - Percentual de resistência/sensibilidade



CIP: ciprofloxacina, TET: tetraciclina, SUT: sulfametoxazol-trimetoprim, OXA: oxacilina, IPM: imipenem, CFO: cefoxitina, LZN: linezolida, RIF: rifampicina, CAZ: ceftazidina, ERI: eritromicina, VAN: vancomicina, GEN: gentamicina.

Isolados de MRSA obtiveram uma associação ≥ 1,9 entre os antimicrobianos ciprofloxacina, tetraciclina, sulfametoxazol-trimetoprim e eritromicina. Sendo todos esses micro-organismos considerados multirresistentes. Verificou-se, também, uma associação clara entre imipenem e cefoxitina (RR: 3,0) e entre a cefoxitina e rifampicina (RR: 3,3), como exposto na Tabela 1. Todos os isolados que apresentaram resistência a cefoxitina apresentaram resistência associada a ciprofloxacina, sulfametoxazol-trimetoprim, oxacilina, eritromicina e resistência cruzada com ceftazidina. Foi observado que duas amostras foram sensíveis tanto a oxacilina quanto cefoxitina e outras duas foram resistentes a oxacilina e sensíveis a cefoxitina, portanto o risco relativo entre a oxacilina e cefoxitina não foi calculado, uma vez que não foi identificada nenhuma amostra sensível a oxacilina resistente a cefoxitina.

Tabela 1 – Resistência associada em isolados de *Staphylococcus aureus*

		Resistência antimicrobiana na ausência e presença de outras drogas e risco relativo de resistência																	
		CIP		TET		SUT		OXA		IPM		CFO		RIF		CAZ		ERI	
Antimicrobianos		%	RR	%	RR	%	RR	%	RR	%	RR	%	RR	%	RR	%	RR	%	RR
CIP	R = 26	100	NA	23,1	0,2	100	NA	96,2	NA	87,8	NA	88,5	NA	76,9	NA	96,2	NA	100	NA
	S = 1	0		100		0		0		0		0		0		0		0	
TET	R = 7	85,7	0,9	100	NA	85,7	0,9	85,7	0,9	95,7	1,1	85,7	1,0	71,4	1,0	85,7	0,9	85,7	0,9
	S = 20	100		0		100		95		75		85		75		95		100	
SUT	R = 26	100	NA	23,1	0,23	100	NA	96,2	NA	80,8	NA	88,5	NA	76,9	NA	96,2	NA	81,3	NA
	S = 1	0		100		0		0		0		0		0		0		0	
OXA	R = 25	100	2,0	95	1,9	100	2,0	100	NA	84	NA	92	NA	76	1,5	100	NA	100	2,0
	S = 2	50		50		50		0		0		0		50		0		50	
IPM	R = 21	100	1,2	28,6	1,7	100	1,2	100	1,5	100	NA	100	3,0	81,0	1,6	100	1,5	100	1,2
	S = 6	83,3		16,7		83,3		66,7		0		33,3		50		66,7		83,3	
CFO	R = 23	100	1,3	26,1	1,0	100	1,3	100	2,0	91,3	NA	100	NA	82,6	3,3	100	2,0	100	1,3
	S = 4	75		25		75		50		0		0		25		50		75	
RIF	R = 20	100	1,2	25	0,9	100	1,2	95	1,1	85	1,6	95	1,7	100	NA	95	1,1	100	1,2
	S = 7	85,7		28,6		85,7		85,7		57,1		57,1		0		85,7		85,7	
CAZ	R = 25	100	2,0	24	0,5	100	2,0	100	NA	84	NA	92	NA	76	1,5	100	NA	100	2,0
	S = 2	50		50		50		0		0		0		50		0		50	
ERI	R = 26	100	NA	23,1	0,2	100	NA	96,2	NA	80,8	NA	88,5	NA	76,9	NA	96,2	NA	100	NA
	S = 1	0		100		0		0		0		0		0		0		0	

CIP: ciprofloxacina, TET: tetraciclina, SUT: sulfametoxazol-trimetoprim, OXA: oxacilina, IPM: imipemen, CFO: cefoxitina, RIF: rifampicina, CAZ: ceftazidina, ERI: eritromicina, R: número de isolados resistentes, S: número de isolados sensíveis, NA: não aplicável, RR: risco relativo.

Os 27 isolados clínicos foram separados entre sete padrões de perfis de resistência designados numericamente de 1 a 7, divisão esta, obtida a partir de antibiogramas tradicionais, como apresentado na Figura 1. A partir desta técnica foram discriminados cinco tipos diferentes de MRSA. Os perfis predominantes foram o perfil 1 (n=12; 44,4%) e o perfil 3 (n=6; 22,2%), os perfis menos prevalentes foram os perfis 6 e 7 (n=1; 3,7%). A resistência a gentamicina é um elo comum a todos os perfis, representando, portanto, a resistência antimicrobiana mais comum entre os perfis, seguido da ciprofloxacina e eritromicina, que por sua vez mostraram-se ausentes apenas no perfil 7.

Conforme mostrado na Figura 1, os agrupamentos (clusters) são evidenciados e delimitados por uma linha em negrito na horizontal, sendo os mesmos distinguidos por marcações alfabéticas de A a J. O cluster J refere-se ao *S. aureus* ATCC® 25923 utilizado no estudo para obter o valor do "cutoff", limite adotado como padrão mínimo de similaridade. O antibiograma quantitativo permitiu a discriminação de sete diferentes tipos de MRSA. O cluster A possui 19 isolados, os quais possuem um perfil de resistência bastante heterogêneo (perfis 1, 3 e 5) que diferenciam-se pela resistência/sensibilidade a tetraciclina e rifampicina. Os clusters B, C, D, E, F, G, H e I compreendem apenas uma amostra cada, incluindo perfis de resistência diversificados (perfis 1, 2, 4, 5, 6, 7). Apesar de possuírem o mesmo fenótipo de resistência, as amostras 331 e 114, além das amostras 317 e 549, não pertencem ao mesmo cluster.

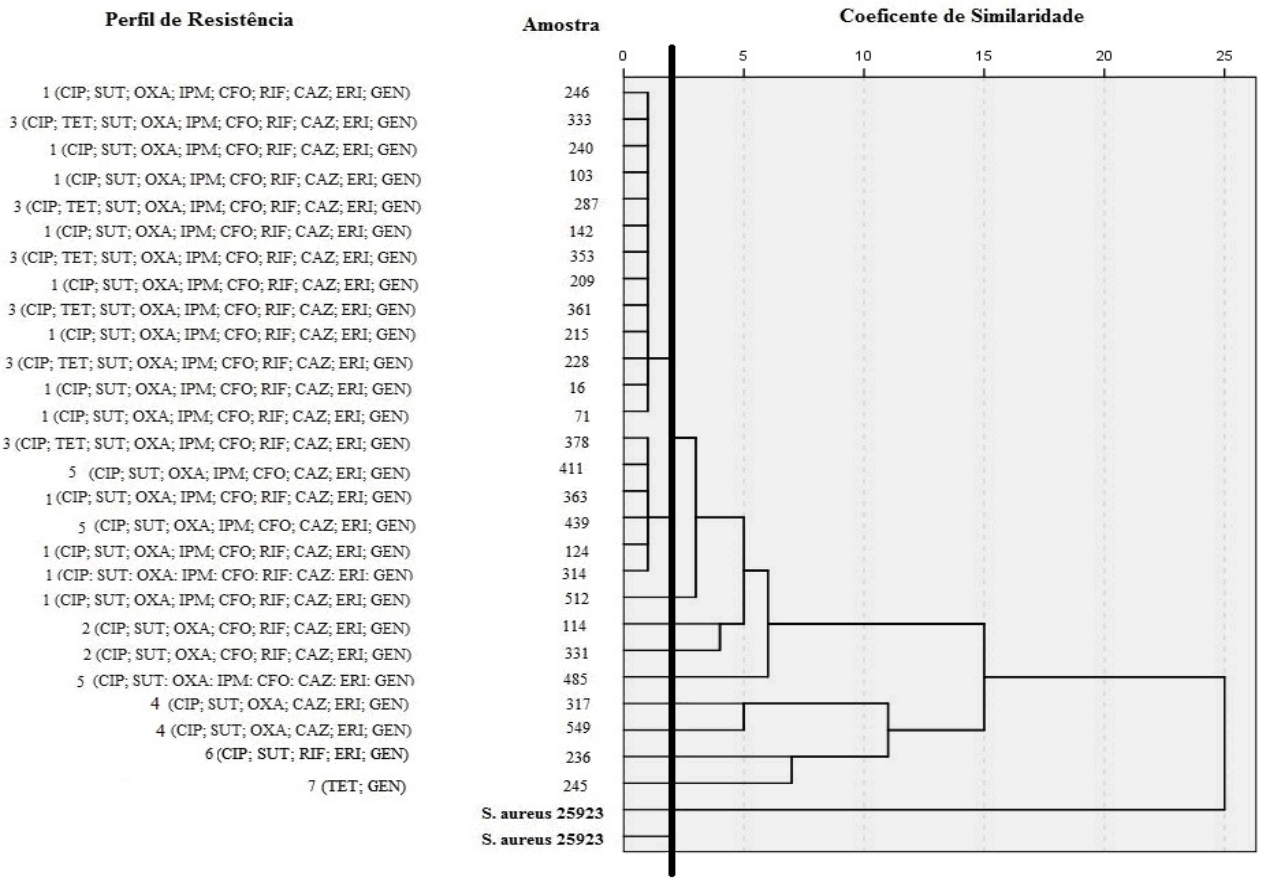


Figura 1. Perfil de resistência*(esquerda) e agrupamento de amostras de MRSA (direita). A linha em negrito na horizontal delimita o "cutoff" adotado como padrão mínimo de similaridade entre os possíveis grupos, os separando em clusters A-J.
*CIP: ciprofloxacina, TET: tetraciclina, SUT: sulfametoxazol-trimetoprim, OXA: oxacilina, IPM: imipenem, CFO: cefoxitina, LZN: linezolida, RIF: rifampicina, CAZ: ceftazidina, ERI: eritromicina, VAN: vancomicina, GEN: gentamicina.

5 DISCUSSÃO

O perfil de resistência/suscetibilidade das amostras condiz com os resultados obtidos por Teixeira (2011) que identificou como igualmente portador de resistência a rifampicina (57,1%), eritromicina (100%), ciprofloxacina (98,2%) e gentamicina (92,8%) grande parte das amostras de MRSA isoladas em um hospital público de ensino. Leão et al. (2007) também identificaram alta taxa de resistência a sulfametoxazol-trimetoprim (68,7%) em isolados de hemoculturas. Esses resultados demonstram a multirresistência apresentada pelas cepas bacterianas que circulam nos ambientes hospitalares, uma vez que as mesmas exibem resistência a maioria dos antimicrobianos testados. Nenhuma amostra de MRSA foi identificada como resistente a linezolida e vancomicina na presente pesquisa ou nos outros trabalhos citados. A linezolida é uma oxazolidinona que inibe a síntese protéica bacteriana. Por possuir um mecanismo de ação diferenciado caracteriza-se como um excelente agente

antimicrobiano contra MRSA e MSSA (LUNA et al., 2010; NICHOL et al., 2013), fato evidenciado pelos resultados deste estudo. An e colaboradores (2013), ao analisarem a eficácia da linezolida, argumentam que a mesma possui ótima atividade contra bactérias Gram-positivas, incluindo MRSA e VRSA, além de possuir vantagens clínicas significativas quando comparada a antibioticoterapia utilizando vancomicina. Contudo, a mesma possui um custo adicional em comparação com a vancomicina (DE COCK et al.,2009).

Examinando o desempenho de vários antimicrobianos contra *S. aureus* isolados de hospitais, Kim et al. (2004) confirmaram que as cepas de MRSA possuíam uma menor resistência à rifampicina (18,0%) e sulfametoxazol-trimetoprim (8,9%). No entanto, estes resultados contradizem os obtidos na presente pesquisa, em que os isolados de MRSA obtiveram taxa mínima $\geq$ 76% para os mesmos antimicrobianos testados. Essa diferença demonstra como os perfis de resistência das cepas bacterianas circulantes não são similares nas diferentes instituições de saúde ou mesmo dentro de unidades distintas de uma mesma instituição, pois esse perfil sofre influência dos antimicrobianos utilizados nos ambientes de tratamento e, consequentemente, dos pacientes alvos do atendimento, por isso a vigilância epidemiológica é importante para a manutenção da terapêutica apropriada.

Dentre as metodologias disponíveis para análise de MRSA em rotinas laboratoriais a PCR é uma técnica padrão que permite estudos bacterianos através da utilização de "primers" específicos. Enquanto a técnica de PCR fundamenta-se na detecção do gene *mecA* presente em MRSA, as técnicas fenotípicas possuem a finalidade de confirmar a ação da PBP2a, proteína responsável pela resistência em MRSA. Como muitos laboratórios não conseguem arcar com os custos de implantação, manutenção ou pessoal especializado exigido pelas técnicas moleculares, a padronização de técnicas fenotípicas se sobressai como a metodologia mais empregada em rotinas clínicas, uma vez que possui custo baixo além de também permitirem averiguar o perfil clonal de cepas (GHOSHAL et al., 2004).

S. aureus gene *mecA*-positivas podem perder o gene *mecA* durante a estocagem em condições de refrigeração, estando esta perda relacionada com o tempo de armazenamento da amostra em baixas temperaturas (GRIETHUYSEN et al., 2005). Este fenômeno pode confirmar o resultado da fenotipagem de quatro cepas bacterianas analisadas. Em duas amostras foi verificada a reversão do fenótipo em MSSA, pois apresentaram perfil de sensibilidade a oxacilina e cefoxitina, sendo esta última um forte indutor do gene *mecA* (BOSGELMEZ-TINAZ et al., 2006), entretanto foram classificadas como MRSA antes da estocagem. Outras duas amostras, apesar de exibirem o perfil de resistência a oxacilina, também foram sensíveis a cefoxitina. A resistência destas amostras está relacionada com a

hiper produção de ß–lactamases, enzimas capazes de promover resistência a antimicrobianos ß–lactâmicos sem qualquer influência da PBP-2a (SAVI; COL; ONOFRE, 2009).

Na tipagem epidemiológica das amostras MRSA, a utilização do antibiograma quantitativo, ou seja, a verificação do comportamento bacteriano perante a aplicação de vários discos de um mesmo antimicrobiano em diferentes concentrações, permite um acúmulo de dados maior que o antibiograma tradicional, podendo estes dados serem utilizados na construção de uma matriz de similaridade pelo método hierárquico de análise de agrupamentos (ALBUQUERQUE, 2005). Essa associação entre a determinação das zonas de inibição e a análise de clusters aumenta a capacidade discriminatória da tipagem por antibiograma (SLOOS et al., 2000). Contudo, os resultados da presente pesquisa exibiram grupos heterogêneos de amostras, evidenciando diferenças entre a discriminação dos tipos de MRSA utilizando-se o método de tipagem por antibiograma quantitativo e perfil de resistência. A quantidade de antimicrobianos testados em cada método pode ter motivado essa diferença, pois, apesar do antibiograma quantitativo produzir um número maior de dados a partir de um único antimicrobiano, foram utilizados cinco antimicrobianos nesta técnica, enquanto que no antibiograma tradicional as cepas foram testadas para 12 antimicrobianos. A limitação da utilização do antibiograma quantitativo está na dificuldade de confecção dos discos em diferentes concentrações, uma vez que estes não são comercializados. Do ponto de vista técnico, o aumento do número de antimicrobianos testados no antibiograma quantitativo poderia aumentar o poder de discriminação da técnica.

Epidemiologicamente, uma das limitações deste trabalho foi a não utilização de uma técnica genotípica, como a PFGE, para comparar os resultados obtidos pela fenotipagem (antibiograma tradicional e quantitativo), a fim de verificar qual destas duas técnicas correlacionaria melhor com o PFGE.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo identificou diversas cepas de *S. aureus* resistentes a um grande número de antimicrobianos, sendo todas as amostras sensíveis a vancomicina e linezolida. Estes resultados destacam a complexidade dos problemas promovidos pela multirresistência e resistência associada, evidenciando-se a importância da conduta dos profissionais da saúde e da utilização racional de antimicrobianos perante a problemática. Epidemiologicamente ressalta-se a necessidade do acompanhamento do perfil de resistência, a fim de fundamentar a escolha correta do antimicrobiano a ser utilizado em tratamentos de infecção/colonização e

auxiliar na implementação de medidas de controle de infecção tanto a nível hospitalar quanto comunitário.

Verificou-se resultados diferentes entre as duas técnicas fenotípicas adotadas no estudo, todavia, apesar dos dados obtidos a partir do antibiograma quantitativo gerarem grupos com diferentes perfis de resistência, esta técnica permite um poder discriminatório de tipos de MRSA maior que o antibiograma tradicional. Essa técnica também se diferencia da metodologia tradicional por ser mais trabalhosa, empecilho que limita sua utilização em rotinas laboratoriais.

7 REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, M. A. Estabilidade em análise de agrupamento (cluster analysis). 2005. 62f. Dissertação (Mestrado em Biometria) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Física e Matemática, Recife, 2005.

AN, M. M. et al. Linezolid versus vancomycin for meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection: a meta-analysis of randomised controlled trials. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 41, p. 426 – 433, 2013

BOSGELMEZ-TINAZ, G. et al. Evaluation of different methods to detect oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus* and their clinical laboratory utility. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 25, p. 410 - 412, 2006.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard—eleventh edition. NCCLS document M02-A11**, v. 32, n.1, p.1-76, 2012a.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty second informational supplement M100-S22**, v. 32, n. 3, p. 1-118, 2012b.

DE COCK, E. et al. Cost-effectiveness of linezolid vs vancomycin in suspected methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nosocomial pneumonia in Germany. **Infection,** v. 37, n. 2, p. 123-132, 2009.

GHOSHAL, U. et al. A comparative evaluation of phenotypic and molecular methods for the detection of oxacillin resistance in coagulase-negative staphylococci. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v.10, n.2, p.86-9, 2004.

GRIETHUYSEN, A. et al. Loss of the *mecA* gene during storage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. **J Clin Microbiol,** v. 43, n. 3, p. 1361–1365, 2005.

JAIN, R. et al. Veterans Affairs initiative to prevent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. **The New England Journal of Medicine,** v. 364, p. 1419-1449, 2011.

JOHNSON, A. P. et al. Mandatory surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteraemia in England: the first 10 years. **J Antimicrob Chemother**, v. 67, n. 4, p. 802–809, 2012.

KIM, H. B. et al. *In vitro* activities of 28 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolated from tertiary-care hospitals in Korea: a nationwide survey. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.48, n.4, p. 1124-1127, 2004.

KIM, Y. C. et al. Trend of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) bacteremia in an institution with a high rate of MRSA after the reinforcement of antibiotic stewardship and hand hygiene. **American Journal of Infection Control**, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655313001053>. Acesso em: 14 maio 2013.

KOBAYASHI, C. C. B. A; SADOYAMA, G.; VIEIRA, J. D. G. Determinação da resistência antimicrobiana associada em isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas eruginosa* em um hospital público de Goiânia, Estado de Goiás, **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 4, p. 404–4010, 2009.

KUMAR, G. L. S. S. et al. Antimicrobial susceptibility of methicillin resistance *Staphylococcus aureus* to various antibiotics with special reference to pristinamycin. **IJPRBS**, v. 1, n. 5, p. 351-358, 2012.

LEÃO, L. S. N. O. et a. Fenotipagem de bactérias isoladas em hemoculturas de pacientes críticos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical,** v**.** 40, n. 5, p. 537-540, 2007

LUNA, C. M. et al. Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America**. Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.14, n.2, p. 119-127, 2010.

NICHOL, K. A. et al. Changing epidemiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Canada. **J Antimicrob Chemother,** v. 68, n. 1, p.47–55, 2013.

PALAZZO, I. C.; REHDER, A.; DARINI, A. L. C. Quantitative disk diffusion as a convenient method for determining minimum inhibitory concentrations of oxacillin for staphylococci strains. **J Microbiol Methods**, v.71, n.3, p.186-90, 2007.

PAN, A. et al. A survey of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* controlnstrategies in Italy. **Infection**, 2013. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007/s15010-013-0454-7 >. Acesso em: 14 maio 2013.

QUEIROZ, G. M. et al. Multirresistência microbiana e opções terapêuticas disponíveis, **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 10, n. 2, p. 132-138, 2012.

RODRIGUES, M. V. P. et al. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a burn unit from Brazil. **Burns**, 2013. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305417913000478>. Acesso em: 14 maio 2013.

SAVI, D. C.; COL, A. P.; ONOFRE, S. B. Seleção de cepas de *Staphylococcus aureus*, β-lactamase positiva portadoras do gene mecA. **Revista Brasileira de Análises Clínicas,** v. 41, n. 1, p. 81-83, 2009.

SHENOY, E. S. et al. Discontinuation of contact precautions for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a randomized controlled trial comparing passive and active screening with culture and polymerase chain reaction. **Clinical Infectious Diseases Advance**, 2013. Disponível em: < http://cid.oxfordjournals.org/content/early/2013/05/08/cid.cit206.long>. Acesso em: 14 maio 2013.

SLOOS, J. H. et al. Performance of phenotypic and genotypic methods to determine the clinical relevance of serial blood isolates of *Staphylococcus epidermidis* in patient with septicemia. **J Clin Microbiol,** v. 38, n. 7, p. 2488-2493, 2000.

TEIXEIRA, M. M. **Infecção hospitalar por *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) em um hospital público de ensino:** tipagem epidemiológica molecular e fenotípica de amostras isoladas em 1988 e 2008. 2011. 100f. Tese (Doutorado em Patologia Clínica)- Universidade Federal do Triângulo mineiro, Uberaba, 2011.