# NUPQAME

20 ANOS DE PRODUÇÃO ACADÊMICA

COLETÂNEA

NÚCLEO DE PESQUISA APLICADA ESTUDOS QUÍMICOS, AMBIENTAIS, MICROBIOLÓGICOS E EPIDEMIOLÓGICOS



**ORGANIZADORAS** 

SHEILA

ELKE ARAUJO NUNES

ELIZABETH

NUNES FERNANDES

IVANEIDE

DE OLIVEIRA NASCIMENTO



# **NUPQAME**

20 anos de produção acadêmica: uma coletânia

# Sheila Elke Araujo Nunes Elizabeth Nunes Fernandes Ivaneide de Oliveira Nascimento (Organizadoras)

# **NUPQAME**

20 anos de produção acadêmica: uma coletânia



Todos os direitos reservados à Editora UEMASUL.

É proibida a reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio.

O conteúdo desta publicação é de inteira responsabilidade dos autores.

Projeto Gráfico: Editora UEMASUL Catalogação na publicação Seção de Catalogação e Classificação.

N972 NUPQAME: 20 anos de produção acadêmica: uma coletânea. / Sheila Elke Araujo Nunes, Elizabeth Nunes Fernandes, Ivaneide de Oliveira Nascimento (Orgs.). /. – Imperatriz: EDUEMASUL, 2025.

187 p.; il.

ISBN 978-65-89274-30-8

1. Química. 2. Microbiologia. 3. Estudos ambientais. I. Nunes, Sheila Elke Araujo. II. Fernandes, Elizabeth Nunes. III. Nascimento, Ivaneide de Oliveira. IV. Título.

CDU 573/579

Ficha elaborada pelo Bibliotecário: Mateus de Araújo Souza CRB13/955



### Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão - UEMASUL

### Reitora

Profa. Dra. Luciléa Ferreira Lopes Gonçalves

### Vice-reitora

Profa, Dra, Lilian Castelo Branco de Lima

# **Organizadores**

Sheila Elke Araujo Nunes Elizabeth Nunes Fernandes

Ivaneide de Oliveira Nascimento

### Conselho Editorial

Profa. Dra. Aichely Rodrigues da Silva

Profa, Dra, Camila Perez da Silva

Profa, Dra, Gabriela Guimarães Jeronimo

Prof. Dr. Gutierrez Rodrigues de Morais

Profa, Dr. Luciana Oliveira dos Santos

Prof. Dr. Marcelo Francisco da Silva

Profa. Dra. Niara Moura Porto

### Comitê Científico

Profa. Esp. Bruna Alves Maciel de Sousa (Faculdade Anhanguera)

Profa. Dra. Cristiane Matos da Silva (UEMASUL)

Prof. Dr. Francisco Eduardo Aragão Catunda Junior (UEMASUL)

Profa. Ma. Jocelia Martins Cavalcante Dantas (UNICEUMA)

Prof. Dr. Julio Rodrigues (UEMASUL)

Profa. Dra. Lisis Fernandes Brito de Oliveira (UFRJ)

Profa. Dra. Patrícia Ferreira Cunha Sousa (UEMASUL)

Profa. Dra. Regina Célia Costa Lima (UEMASUL)

Profa. Dra. Rosimary Gomes Rocha (UFMA)

Prof. Dr. Wellyson da Cunha Araújo Firmo (UEMASUL)

### Coordenação da Editora

Profa. Dra. Aichely Rodrigues da Silva

## Diagramação

Solange dos Santos Oliveira

# Capa

Gabriel Vieira Lima

### Revisão Textual

Wilian Sousa dos Reis

# **APRESENTAÇÃO**

Esta obra, intitulada **NUPQAME** — **20 anos de produção acadêmica: uma coletânia**, propõe-se a divulgar pesquisas conduzidas no espaço acadêmico por pesquisadores, estudantes e pessoal de apoio técnico vinculados ao Núcleo de Pesquisa Aplicado aos Estudos Químicos, Ambientais, Microbiológicos e Epidemiológicos (NUPQAME). Constituiuse um projeto editorial que visa cumprir a divulgação da produção científica.

Dispostas em forma de oito capítulos, as temáticas abordadas estão distribuídas em uma perspectiva dialogal dos conteúdos com as diversas áreas de pesquisa do grupo. Neste número, trazemos a público trabalhos que versam sobre: atividade enzimática da peroxidase; determinação de peróxido de hidrogênio em alvejantes por quimiluminescência; extração sequencial e determinação da biodisponibilidade de ferro; caracterização física e determinação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais; avaliação de extratos metanólicos de pimentão de cultivo orgânico e convencional; descarte de medicamentos e perfurocortantes, e sensibilização ambiental; espectrofotometria de flavonoides e avaliação antifúngica de plantas; e formação de professores para educação inclusiva.

Procura-se, portanto, proporcionar ao leitor, à leitora o acesso à produção resultante de experimentos laboratoriais e de pesquisa de campo conduzidos no Maranhão, na Região Tocantina e na Reserva Extrativista do Ciriaco, explorando o potencial da região, nos 20 anos de existência do NUPQAME, nos laboratórios da instituição à qual o grupo é vinculado e nas instituições dos membros externos, demonstrando, assim, as parcerias interinstitucionais. Buscou-se criar uma obra com objetivo comemorativo dos 20 anos de existência do grupo de pesquisa, de forma que possa se cumprir a

tarefa do registro de caráter científico e que concorra para a popularização do conhecimento produzido na academia. Demonstra-se, também, as diversas áreas de pesquisa, que foram selecionadas como uma amostra da produção científica do grupo de pesquisadores.

Sheila Elke Araujo Nunes Elizabeth Nunes Fernandes Ivaneide de Oliveira Nascimento (Organizadoras) Capítulo 1

13

Atividade enzimática da peroxidase obtida de extratos brutos de vegetais da região de Imperatriz, Maranhão

Andréia Cardoso Pereira Elizabeth Nunes Fernandes

Capítulo 3

51

Extração sequencial e determinação da biodisponibilidade de ferro por espectrofotometria de absorção atômica com chama (EAA-Chama) em extratos de hortaliças comercializadas em Imperatriz, Maranhão enzimática da peroxidase obtida de extratos brutos de vegetais da região de Imperatriz, Maranhão

Maria Luiza Ribeiro Aires Davi Sales Silva Gleison Pereira Costa Jorge Diniz de Oliveira Elizabeth Nunes Fernandes Capítulo 2

31

Determinação de peróxido de hidrogênio em alvejantes por quimiluminescência empregando sistema de análises em fluxo

Tuanne dos Reis Dias Elizabeth Nunes Fernandes

Capítulo 4

81

Caracterização física e determinação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais extraídos de plantas medicinais de Imperatriz, Maranhão

Carla Cristina Lima da Silva Ivaneide de Oliveira Nascimento Márcia Guelma Santos Belfort Sheila Elke Araujo Nunes Elizabeth Nunes Fernandes Vera Lúcia Neves Dias 101

Capítulo 5

Avaliação via cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) de extratos metanólicos de pimentão de cultivo orgânico e convencional

Renata de Araujo Alves Lilia da Silva Ramos Elizabeth Nunes Fernandes Paulo Henrique Aragão Catunda Wilson Araújo da Silva Alan Bezerra Ribeiro

Capítulo 7

137

Espectrofotometria de flavonoides e avaliação antifúngica de plantas da Reserva Extrativista do Ciriaco

Priscila Lima Brandão Gabriel Guzzard Santos da Cruz Samara Reis Goveia Ivaneide de Oliveira Nascimento Márcia Guelma Santos Belfort Sheila Elke Araujo Nunes Elizabeth Nunes Fernandes Capítulo 6

117

Investigação do descarte de medicamentos e perfurocortantes, e sensibilização ambiental no município de Imperatriz, Maranhão

Stephanny Ingrid Nunes Pereira Ivaneide de Oliveira Nascimento Márcia Guelma Santos Belfort Sheila Elke Araujo Nunes Elizabeth Nunes Fernandes

Capítulo 8

159

A formação de professores para educação inclusiva

Josiana de Carvalho Pinheiro Joady Sousa Ferreira Vera Lúcia Neves Dias

Atividade enzimática da peroxidase obtida de extratos brutos de vegetais da região de Imperatriz, Maranhão

ANDRÉIA CARDOSO

**PEREIRA** 

**ELIZABETH NUNES** 

**FERNANDES** 



# ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA PEROXIDASE OBTIDA DE EXTRATOS BRUTOS DE VEGETAIS DA REGIÃO DE IMPERATRIZ, MARANHÃO<sup>1</sup>

RESUMO: As reações catalisadas por enzimas, há muito tempo, vêm sendo usadas com diferentes propósitos, como a determinação de fármacos, fenóis e inibidores. As enzimas são, em sua grande maioria, proteínas que catalisam, com grande eficiência, as reações metabólicas sob diversas condições de pH, temperatura, entre outros. Devido a sua alta seletividade (em alguns casos, especificidade) e poder catalítico, elas apresentam um grande potencial de uso em química analítica, bem como na medicina, agricultura, tecnologia de alimentos e estudos do meio ambiente. No Brasil, há um grande número de frutas e de vegetais que possuem a enzima peroxidase. Entretanto, estudos revelaram que a atividade enzimática da peroxidase pode variar de vegetal para vegetal, a depender das condições de cultura, clima e vegetação. Assim, este trabalho consistiu em avaliar a atividade da peroxidase em algumas fontes vegetais procedentes de cultivo local e comparar os dados obtidos com aqueles fornecidos pela literatura, provenientes de condições diferentes. A caracterização desses extratos foi feita através da determinação da atividade enzimática nos extratos vegetais brutos, por espectrofotometria. Neste trabalho descrevem-se alguns aspectos teóricos sobre as enzimas e, particularmente, sobre a peroxidase, bem como as metodologias para obtenção dos extratos brutos e para determinação da atividade enzimática descritas na literatura.

**Palavras-chave:** Peroxidase. Extrato bruto. Atividade enzimática.

<sup>1</sup> Bolsista PIBIC/FAPEMA 2005/2006, Trabalho de Conclusão de Curso, 2006 – Curso de Ciências/Química – CESI/UEMA.

# ENZYMATIC ACTIVITY OF PEROXIDASE OBTAINED FROM CRUDE EXTRACTS OF VEGETABLES FROM IMPERATRIZ, MARANHÃO REGION

**ABSTRACT:** Enzyme-catalyzed reactions have long been used for different purposes, such as the determination of drugs, phenols, and inhibitors. Enzymes are, for the most part, proteins that catalyze metabolic reactions with great efficiency under various pH and temperature conditions, among others. Due to their high selectivity (in some cases, specificity) and catalytic power, they have great potential for use in analytical chemistry, as well as in medicine, agriculture, food technology, and environmental studies. In Brazil, there are a large number of fruits and vegetables that contain the peroxidase enzyme. However, studies have shown that the enzymatic activity of peroxidase can vary from plant to plant, depending on the growing conditions, climate, and vegetation. Thus, this study consists of evaluating the peroxidase activity in some plant sources from local cultivation and comparing the data obtained with those provided in the literature, which are under different conditions. The characterization of these extracts was done by determining the enzymatic activity in the crude plant extracts by spectrophotometry. This work describes some theoretical aspects about enzymes and specifically about peroxidase, as well as the methodologies for obtaining crude extracts and for determining enzymatic activity described in the literature.

**Keywords:** Peroxidase. Rude extract. Enzymatic activity.

# INTRODUÇÃO

As enzimas são, em sua grande maioria, proteínas especializadas em catalisar reações biológicas e estão associadas a biomoléculas, devido a sua extraordinária especificidade e poder catalítico. Seu estudo é chamado de enzimologia, ciência que surgiu no início do século XIX, mas se desenvolveu, de fato, no início da década de 1930. O nome *enzima* provém de *in yeasts*, dado que se suspeitava que as catálises biológicas estivessem envolvidas com a fermentação do açúcar em álcool (Lehninger, 1986).

Apesar de os processos de fermentação e digestão serem conhecidos anteriormente, o primeiro reconhecimento comprovado de uma enzima foi feito por Payen e Persoz, em 1833, quando descobriram que um precipitado alcoólico do malte continha uma substância termolábil que convertia amido em glicose. Essa substância hoje é conhecida como amilase. A primeira teoria foi publicada em 1835, por Berzelius. Pasteur, em 1860, postulou que as enzimas estão associadas à estrutura e à vida da célula (Lehninger, 1986; Palmer, 1985; Whitaker, 1972).

Funcionando como catalisadores, as enzimas permitem que uma reação química ocorra dentro dos limites das temperaturas biológicas. Elas estão presentes em todos os materiais biológicos e são essenciais para a vida, pois esta depende das reações químicas promovidas por certas enzimas específicas. Toda enzima possui um centro ativo, local onde se processam as reações com substratos. Esse centro ativo geralmente é constituído de alguns resíduos de aminoácidos da cadeia de proteína em grupo não proteico, sendo responsável pela atividade biológica da enzima (Bobbio; Bobbio, 1989; Devlin, 1997; Gava, 1988; Stryer, 1995; Voet; Voet, 1995).

Algumas enzimas dependem somente da sua estrutura proteica (apoenzima) para exercer sua atividade, enquanto

outras necessitam também de um ou mais componentes não proteicos chamados cofatores, que podem ser íons metálicos ou moléculas orgânicas denominadas coenzimas. Muitas enzimas dependem de ambos. Outras enzimas possuem um grupo prostético que é similar ao cofator, mas está firmemente ligado à apoenzima. O complexo catalicamente ativo enzima-cofator é denominado de haloenzima (Bobbio; Bobbio, 1989; Devlin, 1997; Gava, 1988; Stryer, 1995; Voet; Voet, 1995).

As reações catalisadas por enzimas, há muito tempo, são usadas com diferentes propósitos, como a determinação de atividades enzimáticas, inibidores, dentre outros. Em virtude de sua alta seletividade (em alguns casos, especificidade) e poder catalítico, as enzimas são muito empregadas em química analítica, como também em medicina, agricultura, tecnologia de alimentos e estudos ambientais (Fatibello-Filho; Souza; Vieira, 2002).

Schönbein, em 1855, usando extratos de plantas com peróxido de hidrogênio e guaiacol, observou que um composto de coloração intensa era formado. Linosier, por sua vez, em 1898, isolou a mesma enzima e chamou de peroxidase (Bruemmer; Roe; Bowen, 1976; Burnette, 1977; Campa, 1991; Kahn *et al.*, 1981; Vámos-Vigyázó; Haard, 1981).

Conhecida como uma enzima termoestável que pode ter sua atividade regenerada após o tratamento térmico, a peroxidase catalisa a oxidação do peróxido de hidrogênio de alguns substratos, como os mono, difenóis, polifenóis, aminofenóis, entre outros. Diversas são as fontes dessa enzima, a exemplo do pêssego, do tomate, da soja, do rabanete, da abobrinha e do nabo (Vieira; Fatibello-Filho, 1997; Vieira; Fatibello-Filho, 1998; Vieira; Fatibello-Filho, 2000; Vieira; Fatibello-Filho; Angnes 1999).

Uma enzima óxido-redutase, a peroxidase (E.C. 1.11.1.7 POD) pode ser usada nos mais diversos procedimentos analíticos, para a determinação de espécies químicas de

interesse. Presente nos tecidos das plantas, é conhecida por participar de vários processos fisiológicos, incluindo a oxidação de compostos fenólicos e a biossíntese do hormônio vegetal etileno e da lignina (Abeles; Biles, 1991). Assim, é uma das enzimas que tem papel importante no metabolismo fisiológico das plantas. Há um grande interesse comercial pela peroxidase, devido às suas múltiplas aplicações, como a indústria de papel e celulose, de alimentos, análises bioquímicas e, em especial, como catalisador da reação entre luminol-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

A peroxidase se encontra amplamente distribuída nas plantas, mas a peroxidase de raiz forte ou silvestre (*Armoracia lapathifolia*) é a mais utilizada, principalmente como enzima indicadora em espectrofotometria e imunoanálises, dado que a atividade dessa enzima é maior (10 a 100 vezes), quando comparada com a peroxidase de outras fontes. Muitos vegetais, tais como a abobrinha, o nabo, o pepino, o tomate, dentre outros, têm sido fonte de obtenção de peroxidase.

Entretanto, estudos anteriores revelaram que a atividade enzimática da peroxidase pode variar de vegetal para vegetal (Arnold; Rechnitz, 1987), dependendo das condições de cultura, clima e vegetação. Assim, o Brasil apresenta uma grande variedade de vegetais que podem constituir-se em uma fonte inesgotável de enzimas, para serem aplicados nas mais diversas áreas do conhecimento.

Em química analítica, por exemplo, as enzimas podem ser usadas na construção de biossensores e/ou outros procedimentos enzimáticos (Campa, 1991; Fatibello-Filho; Vieira, 2000; Signori; Fatibello-Filho, 1994; Vieira, 1998; Vieira; Fatibello-Filho, 1997; Vieira; Fatibello-Filho, 1998a; Vieira; Fatibello-Filho, 1998b; Vieira; Fatibello-Filho, 2000). Nesse cenário, o desenvolvimento de métodos enzimáticos empregando-se tecidos e/ou extratos brutos de vegetais, no lugar de enzimas purificadas, é relevante, devido às grandes vantagens que oferecem. Dentre essas vantagens, podemos citar: disponibilidade de material, baixo

custo, alta concentração enzimática e boa estabilidade (Vieira; Lupetti; Fatibello-Filho, 2003).

Os procedimentos analíticos que utilizam extratos brutos vegetais apresentam tempo de vida superior, quando comparados aos métodos que utilizam enzimas purificadas. Isso porque a imobilização da enzima presente no extrato bruto é realizada nas próprias células do material biológico – no caso, nas células do vegetal. Os extratos brutos, por serem obtidos naturalmente, apresentam seus cofatores naturais, eliminando a necessidade da aquisição de seu cofator. Além disso, extratos enzimáticos vegetais podem ter sua atividade regenerada após tratamento térmico (Caruso; Vieira; Fatibello-Filho, 1999; Signori; Fatibello-Filho, 1994; Vieira, 1998; Vieira; Fatibello-Filho, 1997; Vieira; Fatibello-Filho, 2000; Vieira; Fatibello-Filho, Angnes, 1999).

A atividade enzimática aumenta com a temperatura, até certo valor, a partir do qual decresce, graças à desnaturação da enzima causada pelo calor excessivo. Por outro lado, em geral, as enzimas agem muito lentamente a baixas temperaturas, atingindo uma atividade ótima entre 20 - 40°C (Caruso; Vieira; Fatibello-Filho, 1999; Signori; Fatibello-Filho, 1994; Vieira, 1998; Vieira; Fatibello-Filho, 1997; Vieira; Fatibello-Filho, 2000; Vieira; Fatibello-Filho; Angnes, 1999).

Geralmente, as enzimas usadas em procedimentos analíticos para determinação de espécies químicas são importadas, implicando grandes gastos para sua aquisição. Em contrapartida, conforme já abordado, muitos vegetais podem fornecer enzimas para utilização em diversos procedimentos enzimáticos, reduzindo significativamente o custo envolvido (Fatibello-Filho; Vieira; 1997a; Fatibello-Filho; Vieira; 1997b; Fatibello-Filho; Vieira, 2000; Vieira; Fatibello-Filho, 1998b). Diante disso, este trabalho consistiu em determinar a atividade enzimática da peroxidase de extratos brutos obtidos de vegetais, fontes de peroxidase, disponíveis na região de Imperatriz, Maranhão, para potenciais aplicações analíticas.

# **METODOLOGIA**

A metodologia consistiu na obtenção dos extratos brutos vegetais e na determinação espectrofotométrica da atividade enzimática da peroxidase presente nos respectivos extratos. Os vegetais utilizados neste trabalho foram adquiridos em quatro locais diferentes: dois supermercados e duas feiras livres da cidade de Imperatriz. Tais vegetais são procedentes de diversos locais de cultivo da região. Os vegetais selecionados foram: macaxeira, abobrinha, pepino, inhame e batata-doce.

Após a lavagem e secagem, 25 g do tecido vegetal descascado foram picados e homogeneizados em liquidificador, com 100mL de tampão fosfato 0,1 mol L-1 (pH 6,5), contendo 2,5 g do agente protetor (PVPs: polivinilpirrolidonas). Em seguida, o homogenato foi filtrado em quatro camadas de gaze e centrifugado a 25000xg (1800 r.p.m.), durante 15 minutos, a 4°C. A solução sobrenadante foi dividida em diversas alíquotas, armazenadas em refrigerador, a 4°C, usadas como fonte de peroxidase e empregadas nas determinações da atividade enzimática.

Após armazenagem em refrigerador com temperatura adequada para serem usados, a atividade da enzima peroxidase presente nos extratos brutos foi determinada medindo-se a variação de absorbância (470 nm) do tetraguaiacol formado na reação enzimática, empregando-se um espectrofotômetro FEMTO, modelo 435, e uma cubeta de vidro de caminho óptico de 1,0 cm. As leituras foram realizadas em triplicatas (n=3). Nessa determinação, foram utilizados 0,2 mL da solução sobrenadante (homogenato), 2,7 ml da solução de guaiacol 0,05mol L<sup>-1</sup> e 0,1 mL da solução de peróxido de hidrogênio 10,3 mmol l<sup>-1</sup> em tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,5), a 25°C.

# RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando que a atividade enzimática da peroxidase pode variar de vegetal para vegetal, a depender das condições de cultura, clima, vegetação, entre outros, estabeleceu-se, como critério de seleção, as diferentes procedências dos vegetais, conforme a disponibilidade. Em seguida, estes foram utilizados para a obtenção dos extratos segundo o procedimento experimental descrito anteriormente.

O objetivo inicial do trabalho consistia em determinar a atividade enzimática da peroxidase, focalizando o estudo na influência da adubação na atividade dessa enzima. Por isso, o critério de seleção seria a origem do vegetal em termos de adubação, ou seja, mineral ou orgânica. Diante das dificuldades encontradas, esse estudo não foi possível, de modo que o trabalho foi redirecionado, e os vegetais utilizados foram adquiridos em locais comerciais da cidade (feiras e supermercados). Muitos vegetais estudados como fonte de peroxidase (Vieira, 1998; Vieira; Fatibello-Filho; Angnes, 1999) não são cultivados na região de Imperatriz. Assim, a seleção das amostras para este estudo considerou a disponibilidade local.

A Tabela 1 apresenta a média dos valores de atividade (unidades/mL) da enzima peroxidase dos diferentes tecidos vegetais selecionados anteriormente. Como pode ser observado na tabela, o inhame (*Colocasia* spp.) apresentou a menor atividade, enquanto a batata-doce (*Ipomoea batatas*) apresentou a maior.

**Tabela 1 -** Atividade enzimática (média) da peroxidase encontrada em extratos brutos de diferentes tecidos vegetais.

Tecido Vegetal	Média da atividade enzimática (unidades mL-1)
Batata-doce	2,0

Inhame	1,075
Abobrinha	1,575
Macaxeira	1,8
Pepino	1,525

Fonte: Autoria própria (2006).

As Tabelas 2 a 6, por seu turno, apresentam as variações entre os valores da atividade enzimática encontradas para cada vegetal. Observa-se que, apesar de todas as amostras serem procedentes da região de Imperatriz, o valor da atividade enzimática sofre alteração para o mesmo vegetal.

**Tabela 2 -** Valores da atividade enzimática encontrada nos extratos brutos de batata-doce.

Amostra (batata-doce)	Atividade enzimática
Amostra 1	2,7
Amostra 2	1,4
Amostra 3	1,5
Amostra 4	2,4

Fonte: Autoria própria (2006).

Tabela 3 - Valores da atividade enzimática encontrada

Amostra (inhame)	Atividade enzimática
Amostra 1	1,4
Amostra 2	1,3
Amostra 3	0,9
Amostra 4	0,7

Fonte: Autoria própria (2006).

**Tabela 4 -** Valores da atividade enzimática encontrada nos extratos brutos de abobrinha.

Amostra (abobrinha)	Atividade enzimática
Amostra 1	2,8
Amostra 2	1,4
Amostra 3	1,0
Amostra 4	0,9

Fonte: Autoria própria (2006).

**Tabela 5 -** Valores da atividade enzimática encontrada nos extratos brutos de macaxeira.

Amostra (macaxeira)	Atividade enzimática
Amostra 1	3,5
Amostra 2	1,4
Amostra 3	1,1
Amostra 4	1,2

Fonte: Autoria própria (2006).

**Tabela 6 -** Valores da atividade enzimática encontrada nos extratos brutos de pepino

Amostra (pepino)	Atividade enzimática
Amostra 1	2,1
Amostra 2	1,5
Amostra 3	1,5
Amostra 4	1,0

Fonte: Autoria própria (2006).

A literatura reporta vários estudos da atividade enzimática de diversas matrizes vegetais, tais como pêssego (*Prunus persica*), inhame (*Alocasia macrorhiza*), mandioca (*Manihot utilissima*), alcachofra (*Cynara scolymus* L.), batatadoce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), nabo (*Brassica campestre* 

ssp. *rapifera*), rabanete (*Armoracia rusticana*) e abobrinha (*Cucurbita pepo*). Segundo os estudos já realizados, a maior atividade da POD pode ser obtida da raiz forte, seguida do nabo, do rabanete e da abobrinha (Fatibello-Filho; Vieira, 2002).

Entretanto, não há a disponibilidade de muitos desses vegetais em nossa região. Além disso, levando em consideração que a variação da atividade enzimática pode decorrer das condições de cultura, clima, entre outros fatores, podemos observar que as variações nos resultados apresentados, quando comparados com os da literatura, estão intimamente relacionados com as condições adversas da região.

Essas variações estão associadas às condições de cultivo de cada vegetal, pois, além das condições próprias da região, as condições de cultura que cada vegetal recebe também têm influência sobre a atividade. Portanto, os valores da atividade enzimática da peroxidase de uma amostra advinda de um cultivo orgânico e de outra de um cultivo mineral apresentam variações.

Além disso, devido ao fato de os vegetais terem sido coletados em pontos comerciais, não foi possível diferenciar os vegetais advindos de cultivo orgânico ou mineral. Ainda assim, os estudos realizados, nas condições descritas anteriormente, revelaram que a atividade enzimática da peroxidase pode variar entre as espécies e sofre influência das condições de cultivo.

# CONCLUSÃO

De acordo com os estudos apresentados na literatura, os vegetais que apresentaram as maiores atividades foram o nabo, o rabanete e a abobrinha. Tais vegetais não são, em sua maioria, de fácil obtenção em nossa região. Sendo assim, os extratos brutos estudados neste trabalho, obtidos de vegetais cultivados na região de Imperatriz, apontaram atividade enzimática significativa da peroxidase, podendo ser utilizados em diversas metodologias analíticas.

A ampla aplicabilidade da atividade enzimática permite utilizá-la em diversos processos, principalmente procedimentos analíticos de determinação de diferentes analitos. Em virtude da grande biodiversidade encontrada no Brasil, há certamente um número muito grande de procedimentos analíticos que poderão ser desenvolvidos com emprego de tecidos e/ou extratos brutos vegetais, para determinação de vários analitos de interesse alimentício, ambiental, farmacêutico, industrial e tecnológico.

Esse uso é útil especialmente para aqueles procedimentos para detecção de substâncias em tempo real, uma tendência que vem sendo observada na química analítica moderna. Como esses materiais biológicos vegetais são de baixo custo e geralmente mais estáveis que as enzimas purificadas, o conhecimento e o emprego de tais materiais em diversas metodologias analíticas têm potencial de desenvolvimento, tanto que já vêm crescendo nos últimos tempos.

# **REFERÊNCIAS**

ABELES, F. B.; BILES, C. L. Characterization of peroxidases in lignifying peach fruit endocarp. **Plant Physiology**, Oxford (UK), v. 95, n. 1, p. 269-273, jan. 1991. DOI: https://doi.org/10.1104/pp.95.1.269.

ARNOLD, M. A. RECHNITZ, G. A. Biosensors based on plant and animal tissue. *In*: TURNER, A. P. F.; KARUBE, I.; WILSON, G. S. (ed.). **Biosensors**: fundamentals and applications. Oxford (UK): Oxford University Press, 1987. p. 30-59.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. Introdução à química de alimentos. 2. ed. rev. atual. São Paulo: Varela, 1989.

BRUEMMER, J. H.; ROE, B.; BOWEN, E. R. Peroxidase reactions and orange juice quality. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 41, n. 1, p. 186-189, jan. 1976. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1976.tb01132.x.

- BURNETTE, F. S. Peroxidase and its relationship to food flavor and quality: a review. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 42, n. 1, p. 1-6, jan. 1977. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb01204.x.
- CAMPA, A. Biological roles of plant peroxidases: known and potential function. *In*: EVERSE, J.; EVERSE, K. E.; GRISHAM, M. B. (ed.). **Peroxidase in chemistry and biology**. Boca Raton: CRC Press, 1991. (v. 2, p. 25-50).
- CARUSO, C. S.; VIEIRA, I. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Determination of epinephrine and dopamine in pharmaceutical formulations using a biosensor based on carbon paste modified with crude extract of cara root (*Dioscorea bulbifera*). **Analytical Letters**, London, v. 32, n. 1, 1999, p. 39-50. DOI: https://doi.org/10.1080/00032719908542597.
- DEVLIN, T. M. (ed.). **Textbook of biochemistry**: with clinical correlations. 4. ed. New York: Wiley-Liss, 1997.
- FATIBELLO-FILHO, O.; SOUZA, M. G.; VIEIRA, I. C. Determinação espectrofotométrica por injeção em fluxo de compostos fenólicos em águas residuárias empregando peroxidase de abobrinha (*Cucurbita pepo*). **Eclética Química**, São Paulo, v. 27, p. 51-66, 2002. DOI: https://doi.org/10.26850/1678-4618eqj.v27.1.2002.p51-66.
- FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I. C. Flow Injection spectrophotometric determination of L-dopa and carbidopa in pharmaceutical formulations using a crude extract of sweet potato root [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] as enzymatic source. **Analyst**, London, v. 122, n. 4, p. 345-350, 1997a. DOI: https://doi.org/10.1039/A606852I.
- FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I. C. Flow injection spectrophotometric determination of sulfite using a crude extract of sweet potato root (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) as a source of polyphenol oxidase. **Analytica Chimica Acta**,

- Amsterdam, v. 354, n. 1-3, p. 51-57, 1997b. DOI: https://doi.org/10.1016/S0003-2670(97)00427-3.
- FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I. C. L-Ascorbic acid determination in pharmaceutical formulations using a biosensor based on carbon paste modified with crude extract of zucchini (*Cucurbita pepo*). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 412-418, 2000. DOI: https://doi.org/10.1590/S0103-50532000000400015.
- FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I. C. Uso analítico de tecidos e de extratos brutos vegetais como fonte enzimática. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 455-464, maio/jun. 2002. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000300019.
- GAVA, A. J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. 7. ed. São Paulo: Nobel, 1988.
- KAHN, V.; GOLDSHMIDT, S.; AMIR, J.; GRANIT, R. Some biochemical properties of soluble and bound potato tuber peroxidase. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 46, n. 3, p. 756-764, maio 1981. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1981.tb15343.x.
- LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. Trad. W. R. Lodi; A. A. Simões. São Paulo: Sarvier, 1986.
- PALMER, T. **Understanding enzymes**. 2. ed. Chichester: Ellis Horwood; New York: Halsted Press, 1985. (Ellis Horwood Series in Biological Chemistry and Biotechnology).
- SIGNORI, C. A.; FATIBELLO-FILHO, O. Biossensor amperométrico para a determinação de fenóis usando um extrato bruto de inhame (*Alocasia macrorhiza*). **Química Nova**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 38-42, jan./fev. 1994.
- STRYER, L. **Biochemistry**. 4. ed. New York: W. H. Freeman and Company, 1995.

- VÁMOS-VIGYÁZÓ, L.; HAARD, N. F. Polyphenol oxidases and peroxidases in fruits and vegetables. **C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, London, v. 15, n. 1, p. 49-127, 1981. DOI: https://doi.org/10.1080/10408398109527312.
- VIEIRA, I. C., O. Flow injection spectrophotometric determination of hydrogen peroxidase using a crude extract of zucchini (*Cucurbita pepo*) as a source of peroxidase. **Analyst**, London, v. 123, n. 9, p. 1809-1812, 1998. DOI: https://doi.org/10.1039/A803478H.
- VIEIRA, I. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Amperometric biosensor for the determination of phenols using a crude extract of sweet potato (*Ipomoea batatas (L.) Lam.*). **Analytical Letters**, London, v. 30, n. 5, p. 895-907, 1997. DOI: https://doi.org/10.1080/00032719708002304.
- VIEIRA, I. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Biosensor based on paraffin/graphite modified with sweet potato for the determination of hydroquinone in cosmetic cream in organic phase. **Talanta**, Amsterdam, v. 52, n. 4, p. 681-689, 2000. DOI: https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00420-3.
- VIEIRA, I. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Flow injection spectrophotometric determination of total phenols using a crude extract of sweet potato root (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) as enzymatic source. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 366, n. 1-3, p. 111-118, 1998a. DOI: https://doi.org/10.1016/S0003-2670(97)00724-1.
- VIEIRA, I. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Spectrophotometric determination of methyldopa and dopamine in pharmaceutical formulations using a crude extract of sweet potato root (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) as enzymatic source. **Talanta**, Amsterdam, v. 46, n. 4, p. 559-564, 1998b. DOI: https://doi.org/10.1016/S0039-9140(97)00317-2.

VIEIRA, I. C.; FATIBELLO-FILHO, O.; ANGNES, L. Zucchini crude extract-palladium-modified carbon paste electrode for the determination of hydroquinone in photographic developers. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 398, n. 2-3, p. 145-151, 1999. DOI: https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00455-9.

VIEIRA, I. C; LUPETTI K. O.; FATIBELLO-FILHO, O. Determinação de paracetamol em produtos farmacêuticos usando um biossensor de pasta de carbono modificado com extrato bruto de abobrinha (*Cucurbita pepo*). **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 39-43, jan./fev. 2003. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000100009.

VOET, D.; VOET, J. G. **Biochemistry**. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 1995.

WHITAKER, J. R. Principles of enzymology for the food sciences. New York: Marcel Dekker, 1972. (Food science, v. 2).

Determinação de peróxido de hidrogênio em alvejantes por quimiluminescência empregando sistema de análises em fluxo

TUANNE DOS REIS

**DIAS** 

ELIZABETH NUNES

**FERNANDES** 



# DETERMINAÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO EM ALVEJANTES POR QUIMILUMINESCÊNCIA EMPREGANDO SISTEMA DE ANÁLISES EM FLUXO<sup>2</sup>

**RESUMO**: O uso crescente de alvejantes não clorados tem sido observado devido às suas vantagens notáveis. Nesse contexto, um sistema quimiluminométrico baseado em multicomutação foi projetado para determinação de peróxido de hidrogênio em alvejantes. O coeficiente de variação, o limite de detecção e a frequência de amostragem do sistema proposto foram estimados em 1,59% (n = 10), 4,61x10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> e 106 h<sup>-1</sup>, respectivamente, para a faixa linear de 2,0 x 10<sup>-4</sup> – 1,2 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>. Os resultados obtidos foram concordantes com os obtidos pelo método permanganimétrico (nível de confiança de 95%). O sistema é robusto, simples e apresenta baixo consumo de volumes de amostras e de reagentes.

**Palavras-chave:** Sistema de análises químicas por injeção em fluxo. Multicomutação. Quimiluminescência. Peróxido de hidrogênio.

# CHEMILUMINOMETRIC DETERMINATION OF HYDROGEN PEROXIDE IN BLEACHES EMPLOYING FLOW ANALYSIS

**ABSTRACT**: An increasing use of non-chlorinated bleaches has been noted due to its notable advantages. In this context, a chemiluminometric flow system based on multicommutation was designed for hydrogen peroxide determination in bleaches. Variation coefficient, limit of detection and sample throughput of

<sup>2</sup> Bolsista PIBIC/CNPq 2005/2006. Trabalho premiado na área de Ciências Exatas e da Terra do XIX Seminário de Iniciação Científica/UEMA. Orientação: Profa. Dra. Elizabeth Nunes Fernandes.

the proposed system were estimated as 1.59% (n = 10), 4.61x10<sup>-6</sup> mol  $L^{-1}$  and 106  $h^{-1}$ , respectively, to a linear range of 2.0 x 10<sup>-4</sup> - 1.2 x 10<sup>-3</sup> mol  $L^{-1}$ . Obtained results were agreed with those obtained by permanganometric method (95% confidence level). The system is robust, simple and presents low consumption of sample and reagent volumes.

**Keywords:** Flow injection analysis system; Multicommutation; Chemiluminescence; Hydrogen peroxide.

# INTRODUÇÃO

No Brasil, é frequente o uso de alvejantes para a remoção de manchas, assim como para o branqueamento de roupas brancas, no processo de lavagem. No entanto, os alvejantes são geralmente à base de cloro, que pode promover a remoção da cor, limitando a aplicação deles a roupas não coloridas (ANVISA, 2009). Consequentemente, observa-se um crescimento expressivo de alvejantes sem cloro em sua formulação. A maioria desses novos produtos encontrados no mercado é produzida à base de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e apresenta, como vantagem aos consumidores, o poder de remoção de sujeiras e manchas, devido à capacidade oxidante do produto, possibilitando a aplicação em roupas coloridas, além de permitir o uso como desinfecção de ambientes e superfícies (Baldry, 1983).

Em face da necessidade do controle de qualidade de produtos à base de peróxido de hidrogênio, a quantificação desse analito requer maior circunspecção. Em termos quantitativos, o peróxido de hidrogênio pode ser determinado por volumetria (Klassen; Marchington; McGowan, 1994), espectrofotometria (Clapp; Evans; Sheriff, 1989), fluorimetria (Sakuragawa; Taniai; Okutani, 1998) e quimiluminescência (Navas; Jiménez, 1999), algumas vezes com o emprego de fibra óptica (Fernandez-

Romero; Luque de Castro, 1993), cromatografia (Pinkernell; Effkemann; Karst, 1997) e métodos eletroquímicos (Tatsuma *et al.*, 1994).

Assim, os métodos utilizados para a determinação de peróxido de hidrogênio apresentam variadas características analíticas. Destaca-se que muitos trabalhos se baseiam na utilização de métodos quimiluminescentes, em particular as aplicações voltadas à química ambiental (Mattos *et al.*, 2003). Isso ocorre graças à ampla faixa de resposta linear apresentada por esses métodos, além de elevada sensibilidade: normalmente, os limites de detecção estão na ordem de 0,1 a 0,01 μmol L¹ (Mattos *et al.*, 2003; Navas Díaz; García Sanchez; González García, 1996).

A quimiluminescência (Albertin et al., 1998; Nery; Baader, 2001; Robards; Worsfold, 1992) ocorre quando uma molécula ou átomo, no estado excitado, decai para o estado fundamental e emite uma determinada radiação eletromagnética, observada geralmente nas regiões do visível ou infravermelho próximo. O processo químico envolve a absorção de energia específica (quantizada) por uma espécie e a geração de um produto eletronicamente excitado, seguido da liberação de radiação. Com relação à instrumentação, os métodos quimiluminescentes fornecem a vantagem de não necessitarem de uma fonte de radiação, já que a radiação monitorada é decorrente das próprias reações químicas (Robards; Worsfold, 1992).

Albrecht, em 1928, publicou o primeiro trabalho que descreve a oxidação do luminol em meio alcalino por peróxido de hidrogênio. Devido à importância dessa reação, suas propriedades termodinâmicas e cinéticas continuam sendo intensamente estudadas (Ferreira; Rossi, 2002). Essa reação pode ser acelerada por diferentes catalisadores, como o hexacianoferrato (III), e o sinal de quimiluminescência é proporcional à concentração de  ${\rm H_2O_2}$  e à do catalisador empregado (Robards; Worsfold, 1992).

A oxidação do luminol na presença de catalisadores resulta em um tempo de emissão de radiação consideravelmente curto, dificultando a implementação dessa reação em procedimentos em batelada, tornando-os, contudo, atraentes para implementação em sistemas de análises em fluxo, nos quais a temporização é reprodutível (Leite; Fatibello-Filho; Rocha, 2004). Assim, um dispositivo de baixo custo foi proposto para medidas por quimiluminescência em sistemas de análise em fluxo. O desempenho deste foi avaliado empregando a reação de oxidação de luminol por peróxido de hidrogênio em meio alcalino. O sistema visou a uma alta sensibilidade empregando um detector com dois fotodiodos acoplados à cela de fluxo (Borges *et al.*, 2002).

Rocha et al. (2005) propuseram um sistema em fluxo constituído de um conjunto de minibombas solenoides. O luminômetro consistiu em uma cela em espiral, posicionada entre dois fotodiodos. O desempenho foi analisado através da determinação de peróxido de hidrogênio, por oxidação do luminol, e determinação de amônio, fornecida pela reação de luminol e hipoclorito de sódio, através da supressão do sinal quimiluminescente.

Leite et al. (2007), por sua vez, desenvolveram um sistema baseado na combinação do processo de multicomutação em fluxo com detecção por quimiluminescência, para a determinação de peróxido de hidrogênio em amostras de fármacos. A cela de fluxo em espiral foi confeccionada em tubo de polietileno e posicionada em frente a um fotodiodo. A quimiluminescência foi baseada na reação do luminol com peróxido de hidrogênio, catalisada por hexacianoferrato de potássio.

O presente trabalho propõe a determinação de peróxido de hidrogênio em alvejantes e baseia-se na reação do analito com luminol, utilizando detecção por quimiluminescência. Para tanto, aplica-se o dispositivo similar ao apresentado por Borges *et al.* (2002). O sistema explora o conceito de análises

em fluxo através da multicomutação, uma vez que essa ferramenta permite processar um grande número de amostras em pouco tempo, além de apresentar a vantagem de ser um sistema fechado, o que minimiza os riscos de contaminação da amostra e confere maior segurança ao operador. O emprego de dispositivos comutadores independentes como as válvulas solenoides possibilita o desenvolvimento de procedimentos automáticos de alto desempenho, empregando instrumentação de baixo custo, além de conferir simplicidade e versatilidade ao sistema (Pires; Reis, 2005).

#### **METODOLOGIA**

#### Reagentes e soluções

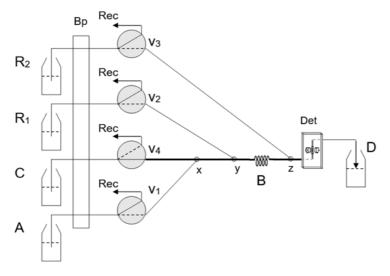
Todas as soluções foram preparadas empregando água deionizada e reagentes com grau analítico. A solução tampão hidrogenocarbonato-carbonato foi preparada a partir de uma solução 0,2 mol L¹ de K²CO³, ajustando-se o pH para 10,5 com solução 0,1 mol L¹ de HCl. Å solução estoque de 10,0 mmol L¹ de luminol (5-amino-2,3-dihidro-1,4 ftalazinediona, Sigma) foi preparada dissolvendo-se 443,0 mg de luminol em 250 mL da solução tampão, sendo ainda estocada em frasco de polietileno, protegida da luz e mantida sob refrigeração. A solução de trabalho 4,5 mmol L¹ de luminol foi preparada por diluição da solução estoque com a solução tampão carbonato.

A solução 50,0 mmol L<sup>-1</sup> de hexacianoferrato (III) de potássio foi preparada dissolvendo-se 412,0 mg de K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> em 25 mL de água. Uma solução de peróxido de hidrogênio (ca. 1 mmol L<sup>-1</sup>) foi preparada a partir de solução 30% (m/m) e padronizada com permanganato de potássio. Soluções de referência foram preparadas por sucessivas diluições a partir da solução padrão.

#### Equipamentos e acessórios

O módulo de análises (*Figura 1*) foi construído empregando tubos de polietileno (0,8 mm d.i.), confluências de acrílico e válvulas solenoides de três vias (NResearch 161To31).

**Figura 1** - Diagrama de fluxos do módulo de análises.



Det. – Detector; V1, V2, V3 e V4 – válvulas solenoides de três vias; A – Amostra (4,5 mL min-1); C – carregador (4,5 mL min-1); R1 – 4,5 x 10-3 mol L-1 luminol (1,5 mL min-1); R2 – 5,0 x 10-2 mol L-1 K3[Fe(CN)6] (1,5 mL min-1); B – reator helicoidal (20 cm); DET - Luminômetro; Rec – reciclagem; Bp – bomba peristáltica; D – recipiente de descarte.

Fonte: Autoria própria (2025).

A propulsão dos fluidos foi efetuada por uma bomba peristáltica Ismatec IPC-8. Um microcomputador Pentium II, equipado com uma interface eletrônica (Advantech, PCL 711S) e um programa computacional escrito em linguagem Quick BASIC 4.5, foi empregado para o controle do acionamento das válvulas e para aquisição de dados.

O luminômetro, dispositivo utilizado para detecção de medidas por quimiluminescência, foi desenvolvido no

Laboratório Henrique Bergamin Filho, situado no Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de São Paulo (USP) (Borges *et al.*, 2002). Consistia em uma cela de geometria laminar, confeccionada em vidro, posicionada entre dois fotodiodos OSD50-E (RS 846-711).

#### Procedimento metodológico

O procedimento para determinação de peróxido de hidrogênio foi baseado na reação esquematizada na Figura 2, na qual o analito reage com o luminol, em meio alcalino, na presença de hexacianoferrato (III), o qual atua como catalisador. A intensidade da radiação emitida é diretamente proporcional à concentração do peróxido, portanto, a altura do sinal gerado foi utilizada como parâmetro para determinar a concentração do analito na amostra.

**Figura 2 -** Reação quimiluminescente do peróxido de hidrogênio com o luminol catalisada com hexacianoferrato (III) de potássio

Fonte: Robards e Worsfold (1992).

Desse modo, projetou-se e montou-se o sistema empregado no desenvolvimento da metodologia, conforme mostra a Figura 1. O sistema em fluxo empregado consistia de 4 válvulas solenoides para inserção das soluções, uma bomba peristáltica para a propulsão dos fluidos e um sistema de detecção (luminômetro). Todos esses dispositivos eram acoplados a um computador, que dispunha de uma interface eletrônica e um programa computacional, escrito em linguagem

QuickBASIC 4.5, para o controle dos dispositivos, assim como para o registro dos sinais analíticos.

Conforme mostra a Figura 1, a solução transportadora fluía continuamente, recebendo, por confluência (ponto x), a solução da amostra (A), através do acionamento da válvula  $V_1$ . Em seguida, através do acionamento da válvula  $V_2$ , a solução de luminol ( $R_1$ ) era inserida (ponto y), e a zona de amostra passava, então, por uma bobina de reação, para favorecer a mistura e a dispersão desta. Finalmente, pelo acionamento da válvula  $V_3$ , a solução do hexacianoferrato (III) de potássio ( $R_2$ ) foi inserida no percurso analítico (ponto z) catalisando a reação quimiluminescente, que era monitorada pelo luminômetro.

#### Otimização dos parâmetros experimentais

Todos os estudos para a otimização do sistema foram realizados empregando-se o módulo de análises apresentado na Figura 1. Esses estudos visaram às melhores condições operacionais/reacionais e foram realizados mantendo-se as concentrações do luminol e do hexacianoferrato (III) obtidas em estudos anteriores (Borges *et al.*, 2002).

Variaram-se alguns parâmetros que afetam as reações envolvidas, tal como os volumes inseridos de amostra, reagente e catalisador. Inicialmente, avaliou-se o efeito da variação do volume da amostra, variando-se o tempo de acionamento da válvula  $V_1$  de 4 a 10 s (133 a 333 mL), e mantendo-se os tempos das demais válvulas,  $V_2$  e  $V_3$ , em 12 s e 15 s, respectivamente. Em seguida, para otimizar o volume da solução de luminol adicionada à zona de amostra, o intervalo de tempo de acionamento da válvula  $V_2$  foi variado de 10 a 16 s (167 a 267mL).

Com os volumes da amostra e do reagente otimizados, realizou-se um estudo acerca do efeito da variação do volume

de hexacianoferrato III (catalisador), variando-se o tempo de acionamento da válvula  $V_3$  de 13 a 19 s, que correspondeu à faixa de 217 a 317mL. Após a otimização dos parâmetros experimentais envolvidos, o sistema proposto foi aplicado às amostras de alvejantes à base de peróxido de hidrogênio, adquiridas no comércio local.

#### Método comparativo

O procedimento empregado para a verificação da exatidão do método proposto para a determinação de peróxido de hidrogênio em amostras de alvejantes foi baseado no método da permanganimetria (Morita; Assumpção, 2007).

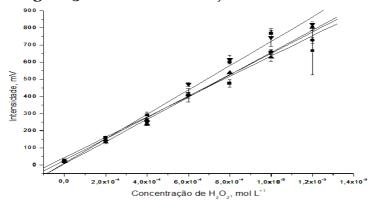
#### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O sistema de análises em fluxo (Figura 1) foi otimizado empregando-se as condições experimentais supracitadas. Foram realizados experimentos para avaliação do efeito da variação dos volumes da amostra e dos reagentes, através da obtenção de curvas analíticas para cada condição avaliada.

#### Efeito da variação do volume da amostra

Considerou-se a resposta analítica do sistema em virtude da variação do volume inserido no percurso analítico. Para tanto, variou-se o tempo de acionamento de V<sub>1</sub> em 4, 6, 8 e 10 s, correspondentes a 133, 200, 267 e 333 mL, respectivamente, e construiu-se curvas analíticas para cada condição (Figura 3). O sistema apresentou um ganho em precisão e linearidade à medida que se inseria volumes maiores de amostra, até o volume de 267 mL (8 s). Optou-se, então, por esse volume de amostra, visto que volume maior apresentou tendência à diminuição do coeficiente angular e menor linearidade.

Figura 3 - Influência da variação do volume de amostra



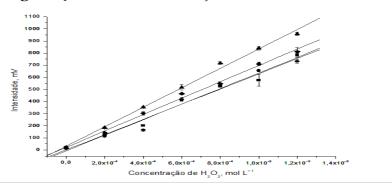
■  $133\mu$ L: y = 26,12 + 6,7.105x (r = 0,996); •  $200 \mu$ L: y = 21,5 + 6,34.105x (r = 0,996); ▲  $267 \mu$ L: y = 19,03 + 6,46.105x (r = 0,999); ▼  $333 \mu$ L: y = 16,02 + 6,43.105x (r = 0,994).

Fonte: Autoria própria (2025).

#### Efeito da variação do volume de luminol

Depois de otimizado e selecionado o volume de amostra, observou-se a influência da variação do volume de luminol na zona de amostra. Analisando a Figura 4, pode-se perceber que o volume de 233 mL(14 s) proporcionou melhorias em sensibilidade e linearidade. A inserção de um volume maior não apresentou ganho em sensibilidade, indicando que o volume de 233  $\mu L$  foi suficiente para a formação do produto eletronicamente excitado.

Figura 4 - Influência da variação do volume de luminol



```
■ 167\mu L: y = 20,71 + 5,6.105x (r = 0,992); • 200 \mu L: y = 18,67 + 6,1.105x (r = 0,9903); ▲ 233 \mu L: y = 22,65 + 8,23.105x (r = 0,9993); ▼ 267 \mu L: y = -0,45 + 7,18.105x (r = 0,995).
```

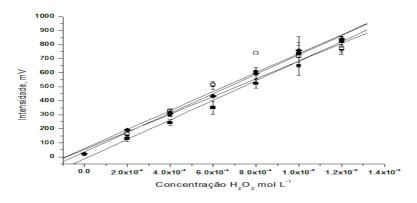
Fonte: Autoria própria (2025).

## Efeito da variação do volume do hexacianoferrato (III) de potássio

As válvulas  $V_2$  e  $V_3$ , responsáveis pela inserção das soluções de luminol e hexacianoferrato (III), respectivamente, eram acionadas simultaneamente, para que fosse garantida a presença do catalisador quando da chegada da zona de amostra ao detector (ponto z). Em seguida, a válvula  $V_2$  era desligada, e  $V_3$  permanecia acionada, para garantir que toda a zona da amostra que passava pelo detector contivesse o catalisador.

Variou-se esse parâmetro de 13 a 19 s, o que correspondeu de 216 a 316 mL de catalisador. Os resultados (Figura 5) demonstraram um ganho em sensibilidade à medida que se aumentava o volume de catalisador até um volume de 283 mL; volumes maiores tendiam à deterioração da linearidade e da repetibilidade. A partir desses resultados, fixou-se o acionamento da válvula  $\rm V_{a}$  por 17 s (283 mL).

**Figura 5 -** Influência da variação do volume de hexacianoferrato (III) de potássio



•  $217\mu$ L: y = 2.70 + 6.47.105x (r = 0.9976);  $250 \mu$ L: y = 18.09 + 8.42.105x (r = 0.993);

♦ 283 µL: y = 21,67 + 7,41.105x (r = 0,9945); ■ 317 µL: y = 17,6 + 6,4.105x (r = 0,9968).

Fonte: Autoria própria (2025).

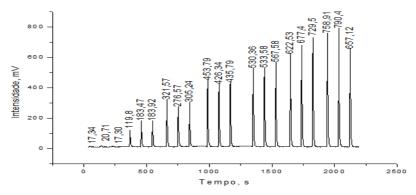
Após os estudos realizados, definiram-se os parâmetros experimentais, mostrados na *Tabela 1*, que foram utilizados para obtenção dos sinais transientes apresentados na *Figura 6*, com os quais construiu-se a curva analítica apresentada na *Figura 7*. O sistema demonstrou resposta linear para a faixa de concentração de 2 x 10<sup>-4</sup> a 1,2 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>  ${\rm H_2O_2}$ , com o coeficiente de correlação de 0,9998 e a equação Y = 17,34 + 6,88 x 105 X, na qual Y e X representam a intensidade luminosa (mV) e a concentração de peróxido de hidrogênio (mol L<sup>-1</sup>), respectivamente.

**Tabela 1 -**Parâmetros experimentais obtidos após a otimização do sistema proposto

Parâmetros avaliados	Volumes selecionados
Amostra	267 μL
Catalisador	283 μL
Luminol	233 μL

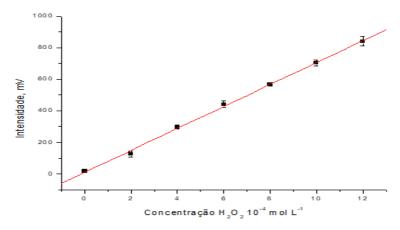
Fonte: Autoria própria (2025).

**Figura 6 -** Sinais transientes em triplicata, relativos ao branco analítico, e soluções de referência contendo 2,0 x 10<sup>-4</sup>, 4,0 x 10<sup>-4</sup>; 6,0 x 10<sup>-4</sup>; 8,0 x 10<sup>-4</sup>; 1,0 x 10<sup>-3</sup> e 1,2 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



Fonte: Autoria própria (2025).

**Figura 7 -** Curva analítica obtida com os sinais apresentados na Figura 6.



Fonte: Autoria própria (2025).

## Determinação de peróxido de hidrogênio em amostras de alvejantes

Após otimizado, o sistema proposto foi aplicado a amostras de alvejantes. As determinações foram realizadas empregando-se diluição prévia das amostras (ca. 2500 vezes). Esse procedimento foi necessário para que a concentração das amostras ficasse dentro da faixa de concentração linear.

O método proposto apresentou coeficiente de variação estimado em 1,59% (n = 10), limite de detecção de 4,61x10-6 mol L¹ de  ${\rm H_2O_2}$  (3,3 x estimativa do ruído/sensibilidade) e limite de quantificação de 1,4x10-5 mol L¹ de  ${\rm H_2O_2}$  (10 x estimativa do ruído/sensibilidade) (Currie, 1968). Os resultados obtidos pelo método foram comparados com os obtidos com o método da permanganimetria, conforme a *Tabela 2*.

**Tabela 2 -** Comparação dos resultados da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em amostras de alvejantes.

	Método proposto		Método de referência	
Amostra	mol L <sup>4</sup>	%	mol L <sup>4</sup>	%
1	$1,49 \pm 0,07$	4,56	$1,37 \pm 0,00$	4,20
2	$1,44 \pm 0,04$	4,41	$1,17 \pm 0,00$	3,58
3	$1,95 \pm 0,01$	5,97	$1,52 \pm 0,02$	4,66
4	$1,46 \pm 0,05$	4,47	$1,15 \pm 0,03$	3,52
5	$1,85 \pm 0,07$	5,67	$1,40 \pm 0,03$	4,30
		* n = 2		

Fonte: Autoria própria (2025).

Aplicando-se o teste t-student entre os resultados dos métodos, verificou-se que os resultados não apresentaram diferença significativa ao nível de 95% de confiança, com 1,06  $(t_{\rm calculado}) < 2,78 \ (t_{\rm tabelado})$ .

#### **CONCLUSÃO**

O sistema de multicomutação em fluxo, com detecção por quimiluminescência, proposto neste trabalho, mostrou-se apto a ser aplicado na determinação de peróxido de hidrogênio em amostras de alvejantes. O método é simples e rápido, além de apresentar acentuada economia de amostra e reagentes, bem como boa sensibilidade.

#### REFERÊNCIAS

ANVISA [Agência Nacional de Vigilância Sanitária]. Resolução - RDC Nº 55, de 10 de novembro de 2009. Dispõe sobre regulamento técnico para produtos saneantes categorizados como água sanitária e alvejantes à base de hipoclorito de sódio

ou hipoclorito de cálcio e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1: Ministério da Saúde, Brasília, DF, ano 143, n. 217, p. 42-43, 13 nov. 2009.

ALBERTIN, R.; ARRIBAS, M. A. G.; BASTOS, E. L.; RÖPKE, S.; SAKAI, P. N.; SANCHES, A. M. M.; STEVANI, C. V.; UMEZU, I. S.; YU, J.; BAADER, W. J. Quimiluminescência orgânica: alguns experimentos de demonstração para a sala de aula. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 6, p. 772-779, nov./dez. 1998. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40421998000600018.

ALBRECHT, H. O. Uber die chemiluminescenz des aminophthalsaurehydrazids. **Zeitschrift für Physikalische Chemie**, Berlin, v. 136U, n. 1, p. 321-330, 1928. DOI: https://doi.org/10.1515/zpch-1928-13625.

BALDRY, M. G. C. The bactericidal, fungicidal and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford (UK), v. 54, n. 3, p. 417-423, 1983. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1983. tb02637.x.

BORGES, E. P.; FERNANDES, E. N.; ROCHA, F. R. P.; REIS, B. F. Desenvolvimento de um dispositivo de baixo custo para medidas por quimiluminescência. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6B, p. 1191-1193, nov./dez. 2002. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000700021.

CLAPP,P.A.; EVANS,D.F.; SHERIFF,T.S.S. Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide after extraction with ethyl acetate. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 218, p. 331-334, 1989. DOI: https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)80309-8.

CURRIE, L. A. Limits for qualitative detection and quantitative determination. Application to radiochemistry. **Analytical Chemistry**, Washington (DC), v. 40, n. 3, p. 586-593, 1968. DOI: https://doi.org/10.1021/ac60259a007.

- FERNANDEZ-ROMERO, J. M.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Flow-through optical biosensor based on the permanent immobilization of an enzyme and transient retention of a reaction product. **Analytical Chemistry**, Washington (DC), v. 65, n. 21, p. 3048-3052, 1993. DOI: https://doi.org/10.1021/ac00069a017.
- FERREIRA, E. C.; ROSSI, A. V. A quimiluminescência como ferramenta analítica: do mecanismo a aplicações da reação do luminol em métodos cinéticos de análise. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6A, p. 1003-1011, nov./dez. 2002. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000600018.
- KLASSEN, N. V.; MARCHINGTON, D.; MCGOWAN, H. C. E.  $\mathrm{H_2O_2}$  determination by the  $\mathrm{I_3}^-$  method and by KMnO<sub>4</sub> titration. **Analytical Chemistry**, Washington (DC), v. 66, n. 18, p. 2921-2925, 1994. DOI: https://doi.org/10.1021/ac00090a020.
- LEITE, O. D.; FATIBELLO-FILHO, O.; ROCHA, F. R. P. Um experimento de análise em fluxo envolvendo reações enzimáticas e quimiluminescência. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 337-341, mar./abr. 2004. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000200029.
- LEITE, O. D.; FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, H. J.; ROCHA, F. R. P.; CURY, N. S. M. A multicommuted flow based system for hydrogen peroxide determination by chemiluminescence detection using a photodiode. **Analytical Letters**, London, v. 40, n. 16, p. 3148-3157, 2007. DOI: https://doi.org/10.1080/00032710701603876.
- MATTOS, I. L. de; SHIRAISHI, K. A; BRAZ, A. D.; FERNANDES, J. R. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 373-380, maio/jun. 2003. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000300015.

- MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. **Manual de soluções, reagentes e solventes**: padronização, preparação, purificação com indicadores de segurança e de descarte de produtos químicos. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2007.
- NAVAS DÍAZ, A.; GARCÍA SANCHEZ, F.; GONZÁLEZ GARCÍA, J. A. Hydrogen peroxide assay by using enhanced chemiluminescence of the luminol—H2O2—horseradish peroxidase system: comparative studies. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 327, n. 2, p. 161-165, 1996. DOI: https://doi.org/10.1016/0003-2670(96)00077-3.
- NAVAS, M. J.; JIMÉNEZ, A. M. Chemiluminescent methods in alcoholic beverage analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington (DC), v. 47, n. 1, p. 183-189, 1999. DOI: https://doi.org/10.1021/jf9804342.
- NERY, A. L. P.; BAADER, W. J. Quimiluminescência de peróxidos orgânicos: geração de estados eletronicamente excitados na decomposição de 1,2-dioxetanos. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 5, p. 626-636, set./out. 2001. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000500010.
- PINKERNELL, U.; EFFKEMANN, S.; KARST, U. Simultaneous HPLC determination of peroxyacetic Acid and hydrogen peroxide. **Analytical Chemistry**, Washington (DC), v. 69, n. 17, p. 3623-3627, 1997. DOI: https://doi.org/10.1021/ac9701750.
- PIRES, C. K.; REIS, B. F. Imobilização de enzimas a partir de "kit" comercial: determinação de parâmetros metabólicos em sangue animal empregando multicomutação em fluxo. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 414-420, maio/jun. 2005. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000300010.
- ROBARDS, K.; WORSFOLD, P. J. Analytical applications of liquid-phase chemiluminescence. **Analytica Chimica Acta**,

Amsterdam, v. 266, n. 2, p. 147-173, 1992. DOI: https://doi.org/10.1016/0003-2670(92)85040-D.

ROCHA, F. R. P.; RÓDENAS-TORRALBA, E.; REIS, B. F.; MORALES-RUBIO, A.; DE LA GUARDIA, M. A portable and low cost equipment for flow injection chemiluminescence measurements. **Talanta**, Amsterdam, v. 67, n. 4, p. 673-677, 2005. DOI: https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.03.021.

SAKURAGAWA, A.; TANIAI, T.; OKUTANI, T. Fluorometric determination of microamounts of hydrogen peroxide with an immobilized enzyme prepared by coupling horseradish peroxidase to chitosan beads. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 374, n. 2-3, p. 191-200, 1998. DOI: https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00469-3.

TATSUMA, T.; WATANABE, T.; TATSUMA, S.; WATANABE, T. Substrate-purging enzyme electrodes. Peroxidase/catalase electrodes for hydrogen peroxide with an improved upper sensing limit. **Analytical Chemistry**, Washington (DC), v. 66, n. 2, p. 290-294, 1994. DOI: https://doi.org/10.1021/ac00074a017.

Extração sequencial e determinação da biodisponibilidade de ferro por espectrofotometria de absorção atômica com chama (EAA-Chama) em extratos de hortaliças comercializadas em Imperatriz, Maranhão

MARIA LUIZA RIBEIRO

**AIRES** 

DAVI SALES

**SILVA** 

GLEISON PEREIRA

COSTA

JORGE DINIZ DE

**OLIVEIRA** 

ELIZABETH NUNES

**FERNANDES** 





# EXTRAÇÃO SEQUENCIAL E DETERMINAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE DE FERRO POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA (EAA-CHAMA) EM EXTRATOS DE HORTALIÇAS COMERCIALIZADAS EM IMPERATRIZ, MARANHÃO

**RESUMO:** O ferro é um dos minerais que constituem um grupo de elementos largamente distribuídos na natureza e que exercem papel dos mais importantes em diversas funções e setores do organismo. Possui uma importância biológica que reside na variedade de funções que seus compostos desempenham, a exemplo do transporte de elétrons em plantas e animais (citocromos e ferredoxinas), do transporte de oxigênio no sangue de mamíferos (hemoglobina) e do armazenamento e absorção de ferro (ferritina e transferrina). O ferro da dieta existe em duas formas químicas: a ferrosa e a férrica, sendo que alguns alimentos podem estimular ou inibir a absorção do ferro no organismo. A especiação química é a determinação da concentração das diferentes formas químicas de um elemento numa matriz, sendo que essas espécies, juntas, constituem a concentração total do elemento na amostra. São encontrados hoje alguns métodos para a especiação de metais, dentre os quais está a extração simples, na qual a amostra é tratada com somente um extrator, e a extração sequencial, na qual a amostra é tratada com uma sucessão de reagentes extratores, com a intenção específica de dissolver suas diferentes fases (ou frações) e, assim, determinar os metais associados. Neste trabalho, avaliou-se a biodisponibilidade de ferro em diferentes extratos de vinagreira (Hibiscus sabdariffa L.), couve (Brassica oleracea L.) e rúcula (Eruca sativa L.), utilizando a espectrofotometria de absorção atômica com chama (EAA-

Chama), que é uma das técnicas mais utilizadas na determinação de elementos em baixas concentrações, que estão presentes numa variedade de amostras, sejam estas líquidas, sólidas, em suspensão e até mesmo gasosas, permitindo o estudo da especiação. As hortaliças utilizadas foram obtidas no Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDT) da cidade de Imperatriz, Maranhão. Os resultados do presente estudo revelaram que, dentre as hortaliças estudadas, a vinagreira foi a que apresentou a maior biodisponibilidade para o Fe (II).

**Palavras-chave:** Biodisponibilidade. Especiação química. Ferro; Hortaliças.

SEQUENTIAL EXTRACTION AND DETERMINATION OF IRON BIOAVAILABILITY BY FLAME ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY (FAAS) IN EXTRACTS OF VEGETABLES COMMERCIALIZED IN IMPERATRIZ, MARANHÃO

**ABSTRACT:** Iron is one of the minerals that belong to a group of elements widely distributed in nature and play a crucial role in various functions and sectors of the body. Its biological importance lies in the variety of functions its compounds perform, such as electron transport in plants and animals (cytochromes and ferredoxins), oxygen transport in mammalian blood (hemoglobin), and iron storage and absorption (ferritin and transferrin). Dietary iron exists in two chemical forms: ferrous and ferric, and certain foods can stimulate or inhibit iron absorption in the body. Chemical speciation refers to determining the concentration of different chemical forms of an element within a matrix. These species together make up the total concentration of the element in a sample. Some methods are available for metal speciation, including simple extraction, in which the sample is treated with a single extractor, and sequential extraction, where the sample undergoes a succession of extracting reagents designed to dissolve different phases (or fractions) to determine the associated metals. This study evaluated the bioavailability of iron in different extracts of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), kale (*Brassica oleracea* L.), and arugula (*Eruca sativa* L.) using flame atomic absorption spectrophotometry (FAAS), one of the most widely used techniques for determining elements at low concentrations in a variety of samples, including liquids, solids, suspensions, and even gases, allowing for speciation studies. The vegetables used were obtained from the Center for Technological Development (CDT) in Imperatriz city, state of Maranhão. The results of this study revealed that, among the analyzed vegetables, roselle exhibited the highest bioavailability of Fe (II).

**Keywords:** Bioavailability. Chemical speciation. Iron; Vegetables.

### INTRODUÇÃO

O ferro é um elemento químico de símbolo Fe, número atômico 26 e massa atômica 56 u. À temperatura ambiente, encontra-se no estado sólido. É extraído da natureza sob a forma de minério de ferro, o qual, depois de passado para o estágio de ferro-gusa, a partir de processos de transformação, é usado na forma de lingotes. Adicionando-se carbono, dá-se origem a várias formas de aço (Andrade; Teodoro; Takase, 2005).

É encontrado na natureza fazendo parte da composição de diversos minerais, entre eles, muitos óxidos, como o FeO (óxido de ferro II, ou óxido ferroso) ou o  $\operatorname{Fe_2O_3}$  (óxido de ferro III, ou óxido férrico). Os números que acompanham o íon ferro referem-se aos estados de oxidação apresentados pelo ferro, que são +2 e +3, e ele raramente se encontra livre (Andrade; Teodoro; Takase, 2005).

Atualmente, cerca de 30 elementos são reconhecidos como essenciais para os seres vivos, de acordo com a sua abundância

relativa no organismo (Lee, 1999). Nesse sentido, os minerais constituem um grupo de elementos largamente distribuídos na natureza e que exercem papel dos mais importantes em diversas funções e setores do organismo. Atuam tanto na forma iônica, quanto como constituintes de compostos (enzimas, hormônios, secreções e proteínas do tecido orgânico) (Baran, 2005). Dentre os vários minerais, destaca-se o ferro.

Pequenas quantidades de ferro são essenciais tanto para animais, como para vegetais. Para as plantas e os animais, é o elemento mais importante dentre os metais de transição. O ferro possui uma importância biológica que reside na variedade de funções que seus compostos desempenham, por exemplo, no transporte de elétrons em plantas e animais (citocromos e ferredoxinas), no transporte de oxigênio no sangue de mamíferos (hemoglobina) e no armazenamento e absorção de ferro (ferritina e transferrina) (Hoffbrand; Pettit; Moss, 2004).

Embora seja um elemento de grande abundância na crosta terrestre, a deficiência de ferro ainda tem assustado, sendo hoje um problema nutricional que tem reduzido a qualidade de vida da população, tornando-se comum e acometendo populações em todo o mundo, até mesmo em países desenvolvidos (Mahan; Escott-Stump, 2005). Esse mineral torna-se essencial para a vida por ter a capacidade de receber e transferir elétrons, participando nas reações redox que ocorrem nas células. Por outro lado, devido a sua alta reatividade, o ferro adquire um potencial de toxidade, pois necessita está ligado a proteínas para impedir efeitos potencialmente destrutivos.

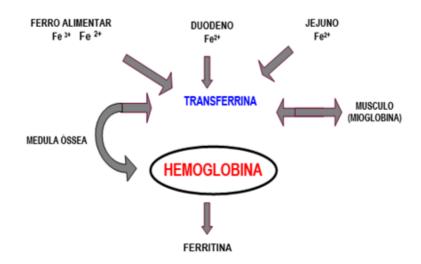
#### Biodisponibilidade do ferro

O ferro é conhecido como um nutriente essencial há mais de um século. A deficiência nutricional de ferro e a anemia advinda dessa deficiência continuam muito comuns no século XXI. Apesar da ampla disponibilidade de alimentos ricos em ferro, a anemia por sua deficiência é a doença mais comum no mundo (Mahan; Escott-Stump, 2005).

A biodisponibilidade é a quantidade de nutrientes absorvida e utilizada pelo organismo. Isto é, o simples fato de consumir um alimento rico em nutrientes não assegura sua absorção, podendo ocorrer interações entre substâncias ou entre os próprios nutrientes dos alimentos, que podem aumentar ou diminuir a absorção desses nutrientes.

Em seres humanos, o ferro é absorvido através das células da mucosa intestinal, principalmente no duodeno. Transportado na corrente sanguínea, abastece as células do corpo, dentre as quais as dos músculos, do fígado e da medula óssea, e o fluido extracelular, ligado a uma proteína plasmática denominada transferrina. Em seguida, é armazenado intracelularmente na forma de ferritina, como mostra a *Figura 1*.

**Figura 1 -** Processo de absorção e distribuição do ferro em ser humano



Fonte: Adaptado de Mahan e Escott-Stump (2005).

A quantidade total do ferro contido em um alimento ou em uma dieta não indica a quantidade que será biodisponível, pois existem vários fatores que influenciam a absorção desse mineral. De acordo com Young e Janghorbani (1981), para garantir suporte adequado de ferro, é necessário conhecer e diferenciar a quantidade total da quantidade biodisponível.

O ferro da dieta existe em duas formas químicas. A primeira, na forma de ferro heme, é encontrada na hemoglobina, mioglobina e algumas enzimas. Já a segunda, sob forma de ferro não heme, encontra-se predominantemente nos alimentos de origem vegetal, mas também em alguns alimentos de origem animal, como nas enzimas não heme e ferritina (Young; Janghorbani, 1981).

Em outras palavras, o ferro heme é aquele presente na molécula de hemoglobina, enquanto o ferro não heme é o restante, disponível em outros compostos presentes nos alimentos. Embora plantas só contenham ferro não heme, animais contêm na forma heme e não heme. O ferro heme é considerado o mais importante, por ser nutricionalmente mais biodisponível (>15%) que o não heme (<5%) (Souza; Arthur; Canniatti-Brazaca, 2007).

Para que ocorra a absorção do ferro inorgânico Fe (III), forma encontrada nos alimentos de origem vegetal, é necessária a sua redução à forma ferrosa Fe (II) (Siqueira; Almeida; Arruda, 2006). Alguns compostos, como ácido ascórbico, açúcares e aminoácidos, formam quelatos de baixo peso molecular com o ferro, facilitando sua absorção intestinal, mediada por proteínas transportadoras de ferro. Mahan e Arlin (1995) explicam que o ácido ascórbico, quando ingerido juntamente com o ferro, potencializa sua absorção, mantendo-o na forma de quelato solúvel no intestino delgado.

Diferentemente do inorgânico, o ferro heme, proveniente das carnes, é altamente biodisponível, e sua absorção independe da ação do ácido ascórbico ou de agentes quelantes. Alguns fatores como as fibras alimentares — que aceleram o trânsito dos alimentos no lúmen —, o fitato e os polifenóis — que formam quelatos insolúveis — podem reduzir a absorção do ferro no intestino, reduzindo sua biodisponibilidade (Siqueira; Almeida; Arruda, 2006). Por outro lado, fatores que mantêm a solubilidade do ferro, em virtude do aumento do pH, como o estado de oxidação (forma ferrosa), as mucinas secretadas pelas mucosas e agentes quelantes como o já citado ácido ascórbico são de grande importância para promover a absorção de ferro não heme (MacPhail, 2001).

Alguns alimentos estimulam e outros inibem a absorção do ferro. Segundo Layrisse *et al.* (1997), os principais inibidores de ferro são os fitatos contidos em cereais, leguminosas e na maioria dos alimentos ricos em fibras, além dos polifenóis encontrados em alta concentração em chás e no café. Os alimentos com fonte de ácido ascórbico e proteínas da carne, por sua vez, estimulam a absorção de ferro (Layrisse *et al.*, 1997). Numerosos ligantes orgânicos capazes de formar complexos de coordenação com o ferro estão naturalmente presentes nos alimentos e podem inibir ou aumentar a ingestão de ferro, dependendo do valor da constante de formação dos complexos.

O espinafre, por exemplo, é conhecido como uma significativa fonte de ferro, pois suas folhas contêm de 3 a 5 mg de ferro por 100 g. Entretanto, biologicamente é, na verdade, conforme Mantovani (1989), fonte pobre de ferro, visto que apresenta uma absorção média de 1,3%. A fraca absorção do ferro de fontes vegetais pode ser atribuída à presença de fibras, fosfatos e particularmente fitatos, os quais se ligam ao ferro inorgânico e reduzem a solubilidade. Geralmente, carnes contêm proteínas em quantidades superiores às encontradas em vegetais, e o produto de degradação dessas proteínas tem sido apresentado como fator que aumenta a disponibilidade de ambos os compostos (ferro heme e não heme) (Mantovani, 1989).

#### Especiação química

Antigamente, a determinação da concentração total de um dado elemento parecia ser suficiente para todas as considerações clínicas e ambientais. Hoje já não é mais assim. Embora o conhecimento da concentração total de um elemento ainda seja muito útil, é essencial, em muitos esquemas analíticos, a determinação das espécies químicas nas quais o elemento está distribuído. Sendo assim, a especiação química é a determinação da concentração das diferentes formas químicas de um elemento numa matriz, de modo que essas espécies, juntas, constituem a concentração total do elemento na amostra (Van Loon; Barefoot, 1992).

Sabe-se que a determinação da concentração total de um elemento é uma informação limitada, especialmente no que diz respeito ao seu comportamento no meio ambiente e aos danos que pode causar à saúde. As propriedades físicas, químicas e biológicas são dependentes da forma química em que o elemento está presente (Burguera; Burguera, 1993). Por exemplo, a medida da concentração total de ferro não indica os verdadeiros níveis de cada espécie individualmente.

A coleta, o tratamento e a preservação das amostras, para determinação qualitativa e quantitativa, visando à especiação de um elemento, requerem planejamento e uma consideração cuidadosa. A natureza dessa tarefa é muito diferente daqueles procedimentos para determinação total do elemento. Nesse caso, o procedimento a ser adotado é o de manter o equilíbrio estabelecido entre as formas químicas do elemento nas amostras, desde a coleta até a análise. Entretanto, é essencial ter-se em mente que dados sobre a concentração total são necessários para muitas investigações (Mahan; Arlin, 1995).

As amostras devem ser analisadas o mais rapidamente possível, logo após a coleta, sem uso de soluções preservativas, como, por exemplo, a acidificação do meio, que modifica o equilíbrio das espécies presentes (Barra *et al.*, 2000). Distintos protocolos para especiação de metais são apresentados na literatura. Eles podem ser agrupados em: protocolos de extração (ou lixiviação) simples, que utilizam somente um extrator (Ipoly *et al.*, 2002; Ramos; González; Hernández, 1999), e protocolos que utilizam extrações sequenciais (Miller; Martens; Zelazny, 1986; Tessier; Campbell; Bisson, 1979).

O primeiro extrator fornece informação de uma única forma química que compõe o elemento estudado. Já as técnicas de extração sequencial, por seu turno, fornecem informação sobre as diferentes formas químicas do elemento; seus protocolos consistem geralmente de uma sucessão de etapas, tais como: extração com um único reagente, derivatização, separação das espécies e detecção.

#### Extração sequencial

Um elemento pode estar presente em um sólido sob as formas de espécies adsorvidas na superfície, coprecipitadas ou formando compostos de coordenação. Além disso, um método de especiação ideal é definido como aquele que pode fornecer informações desejáveis, sem alterar a amostra original em momento algum (Layrisse *et al.*, 1997; Siqueira; Almeida; Arruda, 2006).

Para tanto, na extração sequencial, a amostra é tratada com uma sucessão de reagentes extratores, com a intenção específica de dissolver suas diferentes fases (ou frações) e, assim, determinar os metais associados. A concentração do metal determinada em cada uma das extrações pode fornecer informações sobre a origem, o modo de ocorrência, a disponibilidade biológica e físico-química, a mobilização e o transporte do metal (Mahan; Escott-Stump, 2005).

Os extratores parciais podem ser classificados em concentrados de eletrólitos inertes, ácidos fracos, agentes

redutores, agentes complexantes, agentes oxidantes e ácidos minerais fortes. Cada extrator sequencialmente adicionado tem uma ação química mais drástica e de diferente natureza que a anterior (Souza; Arthur; Canniatti-Brazaca, 2007). A maioria dos esquemas de extração sequencial inclui diferentes grupos de extratores, já que ela se baseia na progressão de extratores fracos, como a água, até um extrator forte, como um ácido concentrado (MacPhail, 2001; Mahan; Arlin, 1995).

Osprimeiros extratores da extração sequencial geralmente são aqueles com propriedades de troca iônica, deslocando íons de sítios iônicos específicos, sendo representados por soluções iônicas, como o cloreto de magnésio e de cálcio, bem como o nitrato de sódio. Em seguida, são utilizados extratores com propriedades de dissolução de carbonatos, já que metais ligados a carbonatos são sensíveis à variação de pH. Esses extratores são representados por soluções tampão de ácido/acetato de amônia pH 5,0. Os extratores com propriedades de redução ácida continuam os processos de extração e promovem a dissolução de oxihidratos de ferro e manganês, tendo, como exemplo, a solução diluída de ácido acético.

Por fim, dois derradeiros tipos de extratores são utilizados. Primeiramente, são aqueles que enfraquecem a ligação do metal com compostos orgânicos e sulfetos, representados por soluções ácidas de peróxido de hidrogênio, soluções de hidróxido de sódio pH 12,0 e ácido clorídrico pH 2,0. A partir deles, permite-se a degradação da matéria orgânica, por hidrólise ou oxidação, facilitando a liberação dos metais. Por último, são utilizados os extratores que promovem a dissolução dos silicatos e minerais, representados por ácidos fortes (MacPhail, 2001; Mahan; Arlin, 1995).

#### Espectrometria de absorção atômica com chama (EAA-Chama)

Considerada como uma técnica analítica bem-sucedida, a espectrometria de absorção atômica (EAA) é uma das mais utilizadas na determinação de elementos em baixas concentrações presentes numa variedade de amostras, sejam estas líquidas, sólidas, em suspensão, e até mesmo gasosas. A técnica pode estar associada a sistemas de análise em fluxo e permite estudos de especiação (Amorim *et al.*, 2008).

Todas as aplicações analíticas modernas da EAA tiveram origem a partir de trabalhos publicados no final da década de 1950 que propuseram, pela primeira vez, o uso da espectrometria de absorção atômica com chama (EAA-Chama) para análises químicas (Walsh, 1991). A espectrometria atômica teve papel fundamental no desenvolvimento da Química. Essa página da história teve início com os experimentos de Joannes M. Marci, em 1648, por meio de suas observações a respeito da origem do arco-íris, com base no espalhamento da luz solar nas gotículas d'água.

Joseph Fraunhofer, por sua vez, observou os espectros de linhas emitidos por alguns elementos químicos. E, em 1859, o químico Robert W. Bunsen, em parceria com o físico Gustav R. Kirchhoff, criou um espectroscópio que lhes permitia observar as linhas de emissão de elementos químicos que eram excitados em uma chama não luminosa (queimador de Bunsen) (Filgueiras, 1996).

O princípio fundamental da EAA envolve a medida da absorção da intensidade da radiação eletromagnética, proveniente de uma fonte de radiação primária, por átomos gasosos no estado fundamental. É a técnica mais utilizada para análises elementares em níveis de mg L<sup>-1</sup>. Utiliza-se esse fenômeno para a determinação quantitativa de elementos (metais, semimetais e alguns não metais) em uma ampla variedade de amostras, tais como materiais biológicos (tecidos

e fluídos), ambientais (águas, solos, sedimentos e plantas), alimentos, geológicos, tecnológicos etc. (Krug; Nóbrega; Oliveira, 2004).

A espectrometria atômica é uma das ferramentas mais importantes da química analítica, devido à sua alta sensibilidade e sua capacidade em distinguir um elemento de outro em uma amostra complexa. Adiciona-se também a possibilidade de análise simultânea de vários elementos e a facilidade com que várias amostras podem ser analisadas automaticamente (Harris, 2005).

#### **METODOLOGIA**

#### Local do estudo

As hortaliças utilizadas foram obtidas no Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDT) da cidade de Imperatriz, Maranhão, localizado em uma área no entorno do aeroporto, local onde são produzidas variedades de hortaliças e que é responsável pelo abastecimento das principais feiras e supermercados da própria cidade. Em seguida, foram transportadas para o laboratório de química do Centro de Estudos Superiores de Imperatriz (CESI), da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), sob resfriamento.

#### Equipamentos e acessórios

Para determinação de umidade, utilizou-se estufa de secagem (FANEM); para a calcinação, o forno mufla da Químis; e para pesagem das amostras, a balança analítica digital NETTLE, modelo Toledo AG45, precisão 0, 0001 g. Para determinação de ferro, foi empregado um espectrofotômetro de absorção atômica com chama da VARIAN, modelo A220.

#### Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com água deionizada, condutividade 0,05 µS, utilizando reagentes de grau analítico.

- **a)** A solução contendo 1,0 mol L<sup>-1</sup> de nitrato de sódio (NaNO<sub>3</sub>) foi preparada dissolvendo-se 42,5000 g de nitrato de sódio e avolumada para 500 mL, apresentando pH 6,8;
- **b)** A solução tampão contendo 0,5 mol L<sup>-1</sup> de ácido acético (CH<sub>3</sub>COOH) e 5%(m/v) (CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>) foi preparada dissolvendo-se quantidades apropriadas do ácido e do sal (pH 5,0);
- **c)** A solução contendo 0,1 mol L-¹ de ácido acético (CH<sub>3</sub>COOH) foi preparada dissolvendo-se 5,8 mL do ácido e avolumada para 1000 mL;
- **d)** A solução de 0,1 mol L-1 de hidróxido de sódio (NaOH) foi preparada dissolvendo-se 4,000 g de hidróxido de sódio e avolumada para 1000 mL;
- **e)** A solução de 0,5 mol L-¹ de ácido clorídrico (HCl) foi preparada diluindo-se 106 mL do ácido, avolumando-se para 1000 mL;
- **f)** A solução 0,01 mol L-1 de oxalato de sódio (Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) foi preparada dissolvendo-se 0,3000 g (previamente seco a 105°C por 1 hora) em solução de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 1,0 mol L-1, avolumando-se para 250 mL;
- **g)** A solução 0,02 mol L-¹ de permanganato de potássio (KMnO<sub>4</sub>) foi preparada dissolvendo-se 3,2000 g de permanganato, sendo avolumada para 1000 mL de água deionizada. Após o preparo, foi aquecida até 60°C e mantida a essa temperatura por 2 horas. Em seguida, a solução foi tampada e protegida da luz por 24 horas, filtrada utilizando-se lã de vidro e estocada

em frasco âmbar. Posteriormente, foi padronizada com a solução de oxalato de sódio 0,01 mol L-1 (Harris, 2005);

- h) A solução padrão de Fe (II) 1000 mg L-¹ foi preparada dissolvendo-se 7,02 g de sulfato ferroso amoniacal (Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O) em 50 mL de água deionizada, adicionando-se 5 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado. Em seguida, transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL. Essa solução foi padronizada com a solução padrão de 0,02 mol L-¹ de permanganato de potássio, apresentando concentração de aproximadamente 1,117 mg L-¹ de Fe (II) (Instituto Adolfo Lutz, 2008);
- i) Por fim, a solução padrão de Fe (III) 1000 mg L-¹ foi preparada dissolvendo-se 4,9 g de cloreto férrico (FeCl<sub>3</sub>) em 100 mL de HCl (1:1) e avolumada com água deionizada para 1000 mL, de modo que 1 mL dessa solução contém 1mg de Fe (III) (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

#### Preparo das amostras

As hortaliças vinagreira (*Hibiscus sabdariffa* L.), couve (*Brassica oleracea* L.) e rúcula (*Eruca sativa* L.), foram lavadas com água destilada, para a retirada de eventuais detritos. Posteriormente, foram escovadas com cerdas de polipropileno e lavadas com água deionizada.

As amostras foram fracionadas, e retirou-se parte delas para determinação da umidade, através do processo de perda de substâncias voláteis em estufa, a  $105^{\circ}$ C. O restante das amostras foi mantido nas cápsulas e levado à estufa para a obtenção de massa desidratada, a  $105^{\circ} \pm 5^{\circ}$ C, por 24 horas. Após a desidratação, as amostras foram armazenadas em béqueres de polipropileno tampados com filme de PVC e mantidos em dessecador (Salazar *et al.*, 2006).

#### Determinação da umidade

Para a determinação da umidade, foi empregado o procedimento recomendado na literatura, conforme Salazar et~al.~(2006), a partir do qual, em uma cápsula de porcelana, pesou-se 1,0  $\pm~0,1$  g da amostra fresca em balança analítica e levou-se à estufa por um período de 4 horas, a 105°C. A análise foi feita em triplicatas.

A partir da equação a seguir, foram obtidas as percentagens de umidade nas amostras:

% Umid = ((M1 - M2) / M1) . 100

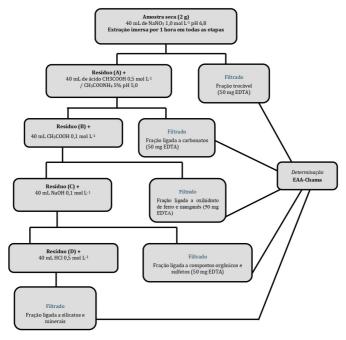
#### Onde:

M1 é a massa fresca (g) M2 é a massa seca (g) %Umid: porcentagem de umidade

#### Determinação de ferro empregando extração sequencial

Para a determinação de ferro nas diversas fases que compõem a hortaliça, foi utilizada a extração sequencial seguindo o fluxograma demonstrado na *Figura 2*. Foram utilizados cerca de 2 g de amostra seca, e cada amostra passou por processo de extração.

**Figura 2 -** Fluxograma das etapas de extração sequencial das frações das hortaliças



Fonte: Autoria própria (2009).

Os extratores utilizados foram: solução de NaNO3 1,0 mol L-¹; solução de CH<sub>3</sub>COOH 0,5 mol L-1 / CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> 5% [pH=5,0]; solução de CH<sub>3</sub>COOH 0,1 mol L-¹; solução de NaOH 0,1 mol L-¹ e solução de HCl 0,5 mol L-¹. Cada extrator esteve em contato com a amostra durante 1 hora, sendo depois filtrado, e este foi utilizado na determinação de ferro.

O aparelho de absorção atômica foi sempre previamente calibrado com solução analítica do respectivo metal (Andrade; Teodoro; Takase, 2004), empregadas as condições de operação do espectrofotômetro de absorção atômica apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1 -** Condições de operação do espectrofotômetro de absorção atômica com chama na determinação de ferro, VARIAN modelo A220.

Parâmetro experimental	Elemento / Ferro
Comprimento de onda (nm)	248,3
Fenda (nm)	0,2
*Lâmpada (mA)	5,0
Corretor de Background D2	Sim
Chama (oxidante)	Ar - acetileno

<sup>\*</sup>Lâmpada de catodo oco (HCl) da Varian.

Fonte: Autoria própria (2009).

#### Determinação de ferro em cinzas (pseudototal)

A obtenção do extrato para a determinação de ferro foi feita utilizando adaptações dos procedimentos desenvolvidos por Wieteska, Zióek e Drzewińska (1996), para a preparação de amostras vegetais via calcinação e determinação por EAA-Chama. Primeiramente, realizou-se a calcinação da amostra dessecada, pesando-se aproximadamente 0,5 g de cada hortaliça utilizada em cadinhos de porcelana, os quais, em seguida, foram tampados. Transferiu-se os cadinhos para uma mufla, e realizou-se a rampa de aquecimento de 100° a 500°C, com intervalos de temperatura de 100°C e permanência por 20 minutos em cada intervalo. Por fim, ao atingir a temperatura de 500°C, permaneceu-se por 2 horas.

Os resíduos da calcinação foram digeridos com 2,0 mL de  ${\rm H_2O}$  deionizada, além de 0,5 mL de HCl e 1,0 mL de HNO $_3$ , ambos concentrados. Os cadinhos foram tampados com vidro de relógio e submetidos a aquecimento em uma chapa de aquecimento, por 30 minutos, em banho de areia. Garantiu-se, assim, um melhor controle no aquecimento e refluxo — evitando perda por arraste, evaporação por completo e uma possível formação de óxidos

metálicos dos elementos de interesse –, bem como foi assegurada uma digestão completa.

Após digestão e resfriamento, transferiu-se quantitativamente as soluções dos cadinhos para balões de 50,0 mL, que forma completados com H<sub>2</sub>O deionizada (Salazar *et al.*, 2006; Wieteska; Zióek; Drzewińska, 1996), para determinação por EAA-Chama, utilizando-se as mesmas condições de operação da *Tabela* 1.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Determinação de umidade

Segundo Silva (1981), o teor de umidade nos alimentos pode ser influenciado por fatores que incluem o cultivar, as condições de armazenamento, a época do ano, a idade da planta e o tempo de cocção. Os resultados apresentados na *Tabela 2*, referentes aos teores de umidade encontrados nas amostras de hortaliças analisadas: vinagreira, rúcula e couve, são concordantes com os valores encontrados na literatura (Andrade; Teodoro; Takase, 2004; Pinheiro *et al.*, 2013). Dentre as hortaliças estudadas, a vinagreira é a que apresentou menor teor de umidade.

Tabela 2 - Teores de umidade nas hortaliças

Hortaliça				
Nome científico	Nome popular	Teor de umidade(%*)		
Hibiscus sabdariffa L.	Vinagreira	81,3 ± 1,9		
Eruca sativa L.	Rúcula	91,0 ± 2,9		
Brassica oleracea L.	Couve manteiga	90,0 ± 0,0		

<sup>\*</sup> Média  $(n=3) \pm sd$ .

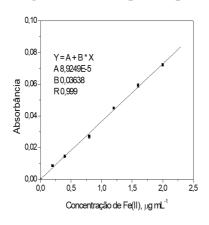
Fonte: Autoria própria (2009).

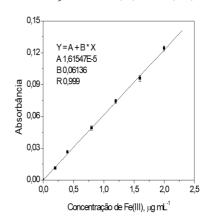
## Determinação dos teores de Fe (II) e Fe (III) nos extratos das hortaliças

A partir dos extratos obtidos pelo processo de extração sequencial, foram determinadas as espécies Fe (II) e Fe (III) em cada fase, empregando EAA-Chama. Inicialmente, construíram-se as curvas analíticas para ambas as espécies, que apresentaram linearidade na faixa de 0,2 a 2,0 mg L¹, conforme mostra a Figura 3.

Na sequência, os resultados obtidos para concentrações de Fe (II) e Fe (III), em mg kg¹, nos extratos das hortaliças analisados, estão apresentados na Tabela 3. Os resultados revelam que, no que se refere à vinagreira, observa-se que ela apresentou maiores teores de ferro nas frações I, II e III dos extratos, as quais representam a fase lábil. Esses resultados indicam que as formas químicas Fe (II) e Fe (III), presentes nessa hortaliça, são mais facilmente removíveis, pois, nessas fases, o metal encontrase na forma mais disponível e de fácil absorção pelo organismo (Mahan; Escott-Stump, 2005).

Figura 3 - Curva padrão para determinação de Fe (II) e Fe (III).





Fonte: Autoria própria (2009).

**Tabela 3 -** Concentrações de Fe (II) e Fe (III), em mg kg<sup>-1</sup>, nos extratos das hortaliças.

Vinagreira					
Extrator	Fe (II)	Fe (III)	Fe (II) + Fe (III)		
I	16,9±0,6	11,5±0,6	28,4±1,2		
II	7,7±0,7	5,5±0,1	13,2±0,8		
III	3,8±0,1	2,2±0,1	6,0±0,2		
IV	ND	ND	ND		
V	8,6±0,8	6,1±0,3	14,7±1,1		
Σ	37,0±2,2	25,3±1,1	62,3±3,3		
Couve					
Extrator	Fe (II)	Fe (III)	Fe (II) + Fe (III)		
I	6,5±0,3	4,5±0,1	11,0±0,4		
II	4,9±0,4	3,0±0,3	7,9±0,7		
III	3,0±0,3	1,3±0,2	4,3±0,5		
IV	ND	ND	ND		
V	16,0±0,2	10,7±0,1	26,5±0,3		
Σ	30,4±1,2	19,5±0,7	49,7±1,8		
Rúcula					
Extrator	Fe (II)	Fe (III)	Fe (II) + Fe (III)		
I	8,4±0,3	6,4±0,1	14,8±0,4		
II	8,2±0,2	5,4±0,1	13,6±0,3		
III	1,8±0,3	1,1±0,2	2,9±0,5		
IV	ND	ND	ND		
V	16,0±0,2	12,6±0,2	31,1±0,6		
Σ	36,9±1,2	25,5±0,6	62,4±1,8		

Resultados expressos referentes à média (n = 3)  $\pm$  desvio padrão. Extrator I: NaNO $_3$  1,0 mol L $^1$ ; Extrator II: CH $_3$ COOH 0,5 mol L $^1$  e CH $_3$ COOH 0,1 mol L $^1$ ; Extrator IV: NaOH 0,1 mol L $^1$ ; Extrator V: HCl 0,5 mol L $^1$ ; ND: não detectado.

Fonte: Autoria própria (2009).

Para a couve e a rúcula, os maiores teores de Fe (II) e Fe (III) concentraram-se na fração V, que corresponde à fase residual da amostra. Nesse caso, os resultados sugerem que as formas químicas especiadas estão menos disponíveis para absorção pelo organismo, devido aos metais, nesta fase, encontrarem-se na forma de complexo estável.

Sabendo-se que a absorção de ferro no organismo se dá na forma ferrosa, a análise dos resultados demonstra que o maior valor extraído do total de Fe (II) encontrado na vinagreira foi de 45,7%, contido na fração I. Para as demais hortaliças estudadas, observou-se que o valor máximo extraído do total de Fe (II), encontrado na fração V, foi 52,6%, para a couve, e 50,1%, para a rúcula.

Conforme mencionado anteriormente, as frações obtidas pelos extratores IV e V enfraquecem as ligações do metal com os compostos orgânicos. Nessas fases, os metais encontram-se em forma de complexos, ou seja, insolúveis e de difícil absorção. Os estudos realizados demonstraram que o extrator IV (hidróxido de sódio / 1 hora), nas condições utilizadas, não apresentou eficiência na extração das espécies analisadas, não se obtendo valores detectáveis pela técnica empregada. Esses valores expressos consideraram que não se pode quantificar o valor para as amostras analisadas com o extrator IV, pois as concentrações obtidas nos extratos deram abaixo das concentrações utilizadas na curva analítica.

## Determinação de ferro em cinzas (pseudototal)

A determinação de metais por análises das cinzas expressa os valores totais do metal contido na amostra. Por outro lado, a determinação de metais por via seca tem sido mencionada na literatura como um critério de avaliação da eficiência da extração, na determinação da biodisponibilidade dos metais (Lima *et al.*, 2001; Nachtigall; Nogueirol; Alleoni, 2009). Na

Tabela 4, são apresentados os resultados obtidos para o teor de ferro em cinzas (via seca), nas amostras de hortaliças estudadas, destacando-se um elevado teor de ferro total para a rúcula, dentre as hortaliças estudadas.

Tabela 4 - Concentração de ferro em cinzas, mg kg<sup>-1</sup>

Amostras	Fe II	Fe III	
Vinagreira	46,2±2,2	38,2±6,8	
Couve	44,0±6,1	25,9±3,0	
Rúcula	341,8±4,8	227±6,0	

Média (n = 3)  $\pm$  sd.

Fonte: Autoria própria (2009).

A Tabela 5, por seu turno, apresenta os resultados da taxa de recuperação de ferro total. Nela, são relacionados os somatórios dos teores de ferro obtidos pela extração sequencial (Tabela 3) com o teor de ferro por via seca (Tabela 4).

**Tabela 5 -** Taxa de recuperação de ferro total (%).

	$\Sigma$ Fe extraído / Fe das cinzas		
Amostra	Fe II	Fe III	
Vinagreira	80	66	
Couve	70	75	
Rúcula	10,8	11,2	

Média (n = 3)  $\pm$  sd.

Fonte: Autoria própria (2009).

Por meio dos resultados apresentados na Tabela 5, verificou-se ainda que, embora o extrator IV não tenha proporcionado resultado positivo, relativo à faixa de concentração estudada, o processo de extração para vinagreira

e couve apresentou boa eficiência, confirmadas pelos valores da Tabela 5, em consonância com estudos anteriores (Lima et al., 2001; Nachtigall; Nogueirol.; Alleoni, 2009). Ainda nesse contexto, os resultados obtidos para a rúcula revelaram que o processo de extração empregado não demonstrou eficiência suficiente, quando relacionado o teor de ferro biodisponível (Tabela 3) com o teor de ferro por via seca (Tabela 4). Esse fato revela que a eficiência do processo de extração está relacionada com estrutura física e/ou química da matriz empregada, conforme explica Mantovani (1989).

## **CONCLUSÃO**

No que se refere à avaliação da biodisponibilidade do ferro, objeto deste trabalho, os resultados obtidos sugerem as considerações a seguir. Dentre as hortaliças estudadas, a vinagreira foi a que apresentou a maior biodisponibilidade para o Fe (II), representada pelos valores obtidos nos extratos I, II e III, nos quais os metais se encontram na fase lábil, ou seja, disponível.

A eficiência do processo de extração utilizado pode ser questionada no que concerne à rúcula, haja vista os resultados apresentados, para ela, não terem sido satisfatórios, quando comparados os dois processos: extração e via seca. Entretanto, para a vinagreira e a couve, os resultados foram aceitáveis, do ponto de vista analítico, contribuindo para arcabouço científico do estudo da biodisponibilidade e especiação química.

Embora existam alguns trabalhos anteriores, há necessidade de maiores estudos sobre a aplicação do processo de extração sequencial em matrizes vegetais, a exemplo das hortaliças. Isso porque muitos são os componentes, relativos à estrutura dos vegetais, que podem interferir no referido processo.

#### **REFERÊNCIAS**

AMORIM, F. A. C.; LOBO, I. P.; SANTOS, V. L. C. S.; FERREIRA, S. L. C. Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multi-elementares. **Química Nova**, Campinas, v. 31, n. 7, p. 1784-1790, 2008. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700033.

ANDRADE, É. C. B.; TEODORO, A. J.; TAKASE, I. Determinação dos teores de cobre em diferentes extratos de hortaliças do tipo A e B. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 2, p. 277-281, abr./jun. 2004. DOI: https://doi.org/10.1590/S0101-20612004000200020.

ANDRADE, É. C. B.; TEODORO, A. J.; TAKASE, I. Determinação dos teores de zinco em diferentes extratos de hortaliças dos tipos A e B. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 265-270, abr./jun. 2005. DOI: https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000200014.

BARAN, E. J. Suplementação de elementos-traços. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 6 [Química Inorgânica e Medicina], p. 7-12, jul. 2005.

BARRA, C. M.; SANTELLI, R. E.; ABRÃO, J. J.; DE LA GUARDIA, M. Especiação de arsênio - uma revisão. **Química Nova**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 58-70, jan. 2000. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000100012.

BURGUERA, M.; BURGUERA, J. L. Flow injection–electrothermal atomic absorption spectrometry for arsenic speciation using the Fleitmann reaction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, London, v. 8, n. 2, p. 229-233, 1993. DOI: https://doi.org/10.1039/JA9930800229.

FILGUEIRAS, C. A. L. A espectroscopia e a química: da descoberta de novos elementos ao limiar da teoria quântica. **Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 3, p. 22-25, maio 1996.

- HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 6. ed. Trad. J. A. P. Bonapace; O. E. Barcia. Rio de Janeiro: LTC, 2005.
- HOFFBRAND, A. V.; PETTIT, J. E.; MOSS, P. A. H. **Fundamentos em hematologia**. 4. ed. Trad. I. Carlquist. Porto Alegre: Artmed, 2004. (Biblioteca Artmed).
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. 1. ed. digital. [Coord. O. Zenebon; N. S. Pascuet; P. Tiglea]. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.
- IPOLY, I.; BRUNORI, C.; CREMISINI, C.; FODOR, P.; MACALUSO, L.; MORABITO, R. Evaluation of performance of time saving extraction devices in the BCR-three-step sequential extraction procedure. **Journal of Environmental Monitoring**, London, v. 4, n. 4, p. 541-548, 2002. DOI: https://doi.org/10.1039/B202018C.
- KRUG, F.J.; NÓBREGA, J.A.; OLIVEIRA, P.V. **Espectrometria de absorção atômica**: parte 1. Fundamentos e atomização com chama. [*S. l.*: *s. n.*], jun. 2004. [Apostila].
- LAYRISSE, M.; GARCÍA-CASAL, M. N.; SOLANO, L.; BARON, M. A.; ARGUELLO, F.; LLOVERA, D.; RAMÍREZ, J.; LEETS, I.; TROPPER, E. The role of vitamin A on the inhibitors of nonheme iron absorption: preliminary results. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, New York, v. 8, n. 2, p. 61-67, 1997. DOI: https://doi.org/10.1016/S0955-2863(96)00174-X.
- LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. 5. ed. inglesa trad. Trad. H. E. Toma; K. Araki; R. C. Rocha. São Paulo: Blucher, 1999.
- LIMA, M. C.; GIACOMELLI, M. B. O.; STÜPP, V.; ROBERGE, F. D.; BERMEJO BARRERA, P. Especiação de cobre e chumbo em sedimento do Rio Tubarão (SC) pelo método Tessier. **Química Nova**, Campinas, v. 24, n. 6, p. 734-742, nov. 2001. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000600005.

MACPHAIL, A. P. Iron deficiency and developing world. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 51, n. 1, supl. 1, p. 2-6, mar. 2001. Disponível em: https://www.alanrevista.org/ediciones/2001/suplemento-1/art-2/. Acesso em: 18 abr. 2009.

MAHAN, L. K.; ARLIN, M. T. **Krause**: alimentos, nutrição e dietoterapia. 8. ed. Vários trad. São Paulo: Roca, 1995.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause**: alimentos, nutrição e dietoterapia. 11. ed. Trad. A. Favano. São Paulo: Roca, 2005.

MANTOVANI, D.M. B. **Especiação de ferro em concentrado de tomate**. 1989. Tese (Mestrado em Química) — Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989. DOI: https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.1989.45337.

MILLER, W. P.; MARTENS, D. C.; ZELAZNY, L. W. Effect of sequence in extraction of trace metals from soils. **Soil Science Society of America Journal**, Hoboken (NJ), v. 50, n. 3, p. 598-601, maio/jun. 1986. DOI: https://doi.org/10.2136/sssaj1986.03615995005000030011x.

NACHTIGALL, G. R.; NOGUEIROL, R. C.; ALLEONI, L. R. F. Extração seqüencial de Mn e Zn em solos em função do pH e adição de cama-de-frango. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 13, n. 3, p. 240-249, maio 2009. DOI: https://doi.org/10.1590/S1415-43662009000300004.

PINHEIRO, É. M. CARNEIRO JÚNIOR, J. S.; CARVALHO, N. C. C.; EVERTON, P. C.; MOUCHREK FILHO, V. E. Estudo da qualidade nutricional e de ferro total da folha de vinagreira (*Hibiscus sabdariffa*) comercializada na cidade de São Luís, MA. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 27, n. 217-217, p. 172-176, jan./fev. 2013.

RAMOS, L.; GONZÁLEZ, M. J.; HERNÁNDEZ, L. M. Sequential extraction of copper, lead, cadmium, and zinc in sediments from Ebro River (Spain): relationship with levels detected in earthworms. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 62, p. 301-308, 1999. DOI: https://doi.org/10.1007/s001289900874.

SALAZAR, R. F. S.; FONSECA, A. C. V.; PEIXOTO, A. L. C.; CARROCCI, J. S.; COBRA, O. L. G.; IZÁRIO FILHO, H. J. Determinação de cádmio em hortaliças por espectrometria de absorção atômica por aquecimento eletrotérmico. *In*: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 10.; ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 6., 2006, São José dos Campos. **Anais** [...]. São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba, 2006. p. 21-24.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. Viçosa (MG): Ed. UFV, 1981.

SIQUEIRA, E. M. A.; ALMEIDA, S. G.; ARRUDA, S. Papel adverso do ferro no organismo. **Comunicação em Ciências da Saúde**, Brasília, v. 17, n. 3, p. 229-236, jul./set. 2006.

SOUZA, A. R. M.; ARTHUR, V.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Alterações provocadas pela irradiação e armazenamento nos teores de ferro heme em carne de frango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 303-306, abr./jun. 2007. DOI: https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000200016.

TESSIER, A.; CAMPBELL, P. G. C.; BISSON, M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. **Analytical Chemistry**, Washington (DC), v. 51, n. 7, p. 844-851, jun. 1979. DOI: https://doi.org/10.1021/ac50043a017.

VAN LOON, J. C.; BAREFOOT, R. R. Overview of analytical methods for elemental speciation. **Analyst**, London, v. 117, n. 3, 563-570, 1992. DOI: https://doi.org/10.1039/AN9921700563.

WALSH, A. The development of atomic absorption methods of elemental analysis 1952-1962. **Analytical Chemistry**, Washington (DC), v. 63, n. 19, p. 933A-941A, out. 1991. DOI: https://doi.org/10.1021/ac00019a002.

WIETESKA, E.; ZIÓEK, A.; DRZEWIŃSKA, A. Extraction as a method for preparation of vegetables samples for determination of trace metals by atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 330, n. 2-3, p. 251-257, 1996. DOI: https://doi.org/10.1016/0003-2670(96)00187-0.

YOUNG, V. R.; JANGHORBANI, M. Soy proteins in human diets in relation to bioavailability of iron and zinc: a brief overview. **Cereal Chemistry**, St. Paul (MN), v. 58, n. 1, p. 12-18, 1981. Disponível em: https://www.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1981/Documents/CC1981a03.html. Acesso em: 10 jan. 2012.



Caracterização física e determinação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais extraídos de plantas medicinais de Imperatriz, Maranhão Carla Cristina Lima da Silva

CARLA CRISTINA LIMA DA

**SILVA** 

IVANEIDE DE OLIVEIRA

**NASCIMENTO** 

MÁRCIA GUELMA SANTOS

**BELFORT** 

SHEILA ELKE ARAUJO

**NUNES** 

**ELIZABETH NUNES** 

**FERNANDES** 

VERA LÚCIA NEVES

**DIAS** 



## CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEIS ESSENCIAIS EXTRAÍDOS DE PLANTAS MEDICINAIS DE IMPERATRIZ, MARANHÃO

**RESUMO:** O interesse pelas propriedades antimicrobianas das plantas medicinais, bem como dos óleos essenciais e seu potencial contra linhagens multirresistentes vem despertando, cada vez mais, o interesse dos pesquisadores e profissionais da saúde, na busca por novos medicamentos na forma de fitoterápicos, influenciados principalmente pelo alto índice da resistência de patógenos a fármacos comerciais. O presente trabalho tem como objetivo geral caracterizar fisicamente e avaliar a atividade antimicrobiana, in vitro, dos óleos essenciais extraídos das espécies Cymbopogon citratus e Allium sativum, frente a linhagens bacterianas de importância clínica com perfis de resistência diferenciados: Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa e Salmonella spp. Os óleos foram extraídos por hidrodestilação e caracterizados fisicamente quanto a rendimento, densidade, índice de refração, solubilidade em etanol a 70%, cor e aparência, comparando-se os valores encontrados com os da literatura. A determinação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais extraídos das espécies citadas foi determinada pelo método da difusão em ágar pela técnica do disco. O estudo microbiológico revelou que óleo extraído da espécie Allium sativum não apresentou perfil de sensibilidade a nenhuma das bactérias testadas, entretanto, Cymbopogon citratus demonstrou atividade antibacteriana contra dois dos patógenos testados, nomeadamente: Staphylococcus aureus e Salmonella. Esses resultados corroboram o uso de óleos essenciais como alternativa ao uso de antibióticos no tratamento de infecções bacterianas, estimulando a investigação da aplicação desses produtos naturais, de forma isolada ou combinada a outros medicamentos, de modo seguro para o ser humano.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais. Óleo essencial. Atividade antimicrobiana. *Cymbopogon citratus. Allium sativum*.

## PHYSICAL CHARACTERIZATION AND DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS EXTRACTED FROM MEDICINAL PLANTS OF IMPERATRIZ, MARANHÃO

**ABSTRACT:** Interest in the antimicrobial properties of medicinal plants and essential oils and their potential against multi-resistant strains has been attracting increasing interest from researchers and health professionals in the search for new medicines in the form of herbal medicine, mainly influenced by the high rate of pathogen resistance to commercial drugs. This study aims to characterize physically and evaluate the antimicrobial activity in vitro of the essential oils extracted from species Cymbopogon citratus and Allium sativum front of clinically important bacterial strains with different resistance profiles, which were Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa and Salmonella spp. The oils were extracted by hydrodistillation and characterized physically in terms of yield, density, refractive index, solubility in 70% ethanol, color and appearance, comparing the values obtained with the literature. The determination of antimicrobial activity of essential oils extracted from the mentioned species was determined by agar diffusion technique of the disc. The microbiological study showed that the oil extracted from the species Allium sativum showed no sensitivity profile to any of the bacteria tested, however, Cymbopogon citratus showed antibacterial activity against two pathogens tested, namely: Staphylococcus aureus and Salmonella. These results support the use of essential oils as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial infections, stimulating the investigation of the application of these natural products, alone or combined with other drugs, safely for humans.

**Keywords:** Medicinal plants. Essential oil. Antimicrobial activity. *Cymbopogon citratus. Allium sativum.* 

# INTRODUÇÃO

Segundo Rodrigues e Amaral (2012), por volta de 25% dos medicamentos hoje utilizados são derivados, direta ou indiretamente, do legado do uso de plantas medicinais. Essa porcentagem pode ser ainda maior, atingindo 60%, se consideradas classes específicas de medicamentos, como antimicrobianos e antitumorais (WHO, 2011 *apud* Rodrigues; Amaral, 2012).

Muitas espécies vegetais liberam, para a atmosfera, diversas misturas de compostos voláteis pertencentes ao metabolismo secundário, presentes em folhas, flores e frutos. Esses compostos voláteis são constituídos principalmente de terpenoides e fenilpropanoides, derivados de ácidos graxos, e representam cerca de 1% dos metabólitos secundários conhecidos de plantas (Dudareva; Pichersky; Gershenzon, 2004). Aos compostos voláteis emitidos a partir de tecidos vegetativos é dado o nome de óleo essencial. O termo óleo essencial foi definido no século XVI, por Paracelso, médico e alquimista suíço para quem o componente efetivo de uma droga era a quinta essência.

Podem ser extraídos de parte de plantas, como frutas, flores e cascas, ou de plantas inteiras, como especiarias e ervas medicinais. São caracterizados quimicamente como misturas complexas de compostos de baixo peso molecular, sendo alguns altamente voláteis, capazes de gerar sabores e/ou aromas. O óleo obtido de uma planta serve como característica para aquela espécie. Mesmo que óleos diferentes apresentem compostos qualitativamente iguais, diferenças quantitativas farão com que determinado óleo tenha propriedades químicas e biológicas diferentes dos demais (Edris, 2007; Trombetta et al., 2005).

A International Organization for Standardization (ISO, 1996) define óleos essenciais como os produtos obtidos de partes de plantas através de destilação por arraste com vapor de

água, bem como produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos (*Rutaceaea*). De forma geral, são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Também podem ser chamados de óleos voláteis ou óleos etéreos (Mouchrek Filho, 2000).

A qualidade dos óleos essenciais, atualmente, é uma das frequentes preocupações por parte dos pesquisadores, devido, entre outros fatores, à variabilidade da sua composição química. A adulteração ou falsificação desses óleos é uma grande problemática, uma vez que, a depender do tipo de adulteração, esta pode acarretar consequências negativas à saúde do usuário. Tipicamente, os óleos essenciais são adulterados por adição de compostos sintéticos de baixo custo, tais como: álcool benzílico, ésteres do ácido ftálico e até hidrocarbonetos clorados. Simões et al. (2007) acrescentam mais duas formas de adulteração: por mistura do óleo essencial de qualidade com outros de menor valor, para aumentar o rendimento, ou por falsificação completa do óleo, através de misturas de substâncias sintéticas dissolvidas num veículo inerte.

Já no que respeita ao controle de doenças de plantas, a utilização de produtos naturais tem se tornado um meio eficiente para a redução do uso indiscriminado de defensivos. Assim, a exploração da atividade biológica dos metabólitos secundários dos extratos brutos e dos óleos essenciais de plantas surge como uma forma potencial de controle alternativo de doenças das plantas cultivadas. Vários extratos brutos e óleos essenciais de plantas já foram testados sobre bactérias patogênicas, em diversos trabalhos (Balbi-Peña *et al.*, 2006; Pereira *et al.*, 2006; Takatsuka *et al.*, 2003).

Diante do exposto, o presente estudo propõe-se a contribuir com dados que sejam relevantes para a saúde pública, através da investigação da determinação antimicrobiana e da caracterização física dos óleos essenciais extraídos das plantas medicinais *Cymbopogon citratus* (capim santo) e *Allium sativum* (alho), na cidade de Imperatriz, estado do Maranhão.

#### **METODOLOGIA**

#### Local do estudo

A parte experimental da pesquisa foi realizada nas dependências do Laboratório de Fitopatologia, Microbiologia e Alimentos (LFMA), da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), e do Laboratório de Química da Faculdade de Imperatriz (FACIMP), durante o período de fevereiro a abril de 2012.

#### Coleta do material

As amostras das plantas selecionadas foram coletadas em jardim residencial, localizado na cidade Imperatriz, Maranhão, em dezembro de 2012. Todas as amostras foram coletadas de acordo com a metodologia de Jorge, a qual descreve que "as partes aéreas devem ser colhidas pela manhã (após secar o orvalho) [...]" ([2009], p. 49). Posteriormente, o material foi transportado até o LFMA/UEMA, para a realização das análises pertinentes.

#### Extração dos óleos por hidrodestilação

Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação, em um sistema de Clevenger, mantendo-se a temperatura de 100°C. Foram feitas duas extrações, de modo que, para cada extração, utilizou-se 250 g das amostras, transferidas para um balão de destilação. Em seguida, foram adicionados 2500 mL de água destilada (proporção 1:10).

Após 2 horas de extração, os óleos foram secos por meio da percolação em  ${\rm Na_2SO_4}$  anidro, facilitando, assim, a separação deles da água, uma vez que se encontravam muito hidrolatos. Em seguida, esses óleos foram armazenados em frascos apropriados para posteriores análises.

#### Obtenção das propriedades físicas dos óleos essenciais

Os óleos foram caracterizados por meio de:

- **a)** rendimento: determinado através da relação volume dividido pela biomassa seca isenta de água ou livre de umidade, multiplicado por cem;
- b) densidade: uso de balão picnômetro de 1,0 mL;
- c) índice de refração: uso de refratômetro de Abbé (modelo RL1-PZO, Warszawa, Polônia), de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (1995);
- **d)** solubilidade em etanol (70%): utilizou-se uma mistura de álcool/água a 70% (v/v), mantendo constante o volume de óleo e adicionando-se, proporcionalmente, volumes crescentes da mistura alcoólica, até a sua completa solubilização;
- e) cor: a técnica proposta é a visual, feita por comparação das cores das essências com as cores conhecidas (ANVISA, 2010);
- **f)** aparência: a técnica proposta também é a visual, fazendo-se uma comparação das essências quanto a sua transparência ou limpidez (ANVISA, 2010).

#### Linhagens bacterianas

No trabalho, foram utilizadas linhagens bacterianas das espécies *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella*. As referidas linhagens foram gentilmente cedidas pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água, da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), e posteriormente reativadas no LFMA/ UEMA.

#### Meios de cultura

A atividade antimicrobiana em placas foi determinada pelo método de difusão de disco, utilizando um meio sólido (Ágar Mueller-Hinton), de acordo com Bauer *et al.* (1966) e as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2009b), e um meio líquido Brain Heart Infusion (BHI), preparados conforme as especificações do fabricante.

#### Inóculo e suspensão bacteriana

As culturas bacterianas foram reativadas, inoculando-se alçadas de cada cepa em tubos de ensaio contendo 4 mL do meio de cultura líquido BHI, e incubadas a 37°C por 24 horas. Para cada microrganismo, foi preparada uma suspensão bacteriana, de acordo com a metodologia descrita por Bauer *et al.* (1966), em solução salina (NaCl 0,9%) com alçadas da respectiva cultura de 24 horas, até obtenção de turvação, correspondente ao grau 0,5 da escala de Mac Farland (10<sup>8</sup> UFC/mL<sup>-1</sup>).

#### Prova de sensibilidade pelo método de difusão de discos

A susceptibilidade do óleo foi avaliada utilizando-se o método de difusão de discos (CLSI, 2009a). Os inóculos de cada bactéria teste foram semeados sobre a superfície das placas contendo meio Ágar Mueller-Hinton, previamente solidificado com auxílio de um swab estéril. Posteriormente, sobre os inóculos, foram aderidos pequenos discos de papel de filtro, preparados de acordo com a técnica descrita na obra Farmacopeia brasileira (ANVISA, 2010), secos e estéreis, medindo 11 mm de diâmetro, impregnados, individualmente, com 20  $\mu$ L do óleo e pressionados levemente sobre a superfície do meio.

Após o período de incubação, realizou-se a leitura do diâmetro dos halos de inibição total de crescimento bacteriano, excluindo o diâmetro do disco com o auxílio de uma régua milimetrada. O estudo, para todas as bactérias, foi realizado em duplicata e em dias diferentes, sendo considerado, como resultado de cada óleo, a média das três medidas. Considerouse halos de inibição com diâmetro inferior a 8 mm de diâmetro como resistente (R), enquanto halos com diâmetros de 9 a 14 mm foram indicados como sensível (S) (Moreira *et al.*, 2005).

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

## Caracterização física dos óleos essenciais

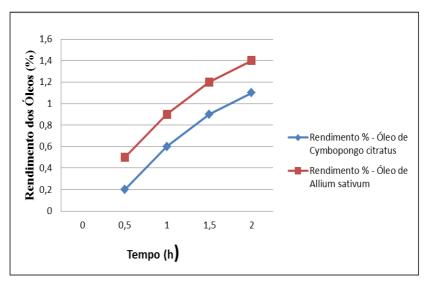
A cinética de extração do óleo essencial é um dos principais parâmetros físico-químicos da indústria de essências. Além de estar diretamente relacionada com a qualidade do óleo essencial, reflete-se no tempo de extração e na natureza econômica do processo, como também é peculiar a cada tipo de essência a ser extraída (Mouchrek Filho, 2000).

Na extração do óleo de capim santo, por exemplo, foi observado que, à medida que o volume de óleo aumentava consideravelmente na superfície do aparelho de Clevenger, pequenas gotículas retornavam ao balão de destilação. Isso se deu por motivo de a densidade do óleo essencial ser muito próxima à da água e, também, devido ao vencimento da tensão superficial do aparelho de Clevenger, resultando, assim, um menor rendimento na extração do óleo essencial.

Por isso, para evitar a perda de rendimento desse óleo, foi necessário retirá-lo toda vez que atingisse volume predefinido e, assim, foi possível obter um maior rendimento em sua extração, o que também foi observado por Lullez (1991). A *Figura 1* representa a relação entre o rendimento percentual do óleo

extraído e o tempo de extração, para uma mesma quantidade de massa (500g).

**Figura 1** - Cinética referente ao rendimento de extração do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* e *Allium sativum* em função do tempo, com massa de 500g.



Fonte: Autoria própria (2012).

Os resultados da caracterização física dos óleos essenciais extraídos de *Cymbopogon citratus* (capim santo) e *Allium sativum* (alho) estão expressos na Tabela 1. Os resultados encontrados na densidade do óleo essencial de capim santo podem ser sustentados por Pereira *et al.* (2008). Tais autores mostram que a densidade desse óleo pode sofrer variação de 0,758 a 0,999 g/mL a 25°C.

**Tabela 1 -** Caracterização física dos óleos essenciais extraídos de *Cymbopogon citratus* (capim santo) e *Allium sativum* (alho).

Características físicas	Óleo essencial Cymbopogon citratus	Óleo essencial Allium sativum	
Rendimento (%)	1,1%	1,4%	
Densidade (g mL-1)	0,862	0,947	
Solubilidade em álcool a 70% (v/v)	1:2	1:3	
Índice de refração (ND 25º)	1,4578	1,4978	
Cor	Verde	Amarelo	
Aparência	Límpido	Viscoso	

Fonte: Autoria própria (2012).

Isso ainda é confirmado por Akisue e colaboradores (1996), que estudaram, durante um ano, *Cymbopogon citratus* (capim santo) e relataram que, nesse período, a densidade do óleo essencial variou de 0,9120 a 0,9853. Comparando esses valores com os obtidos no presente experimento, observase que a densidade do óleo essencial estudado foi menor, provavelmente devido a fatores externos como, por exemplo, o modo de coleta e o tipo de solo. Já a respeito da densidade do óleo de *Allium sativum* (alho), não foram encontrados dados na literatura.

Quanto à solubilidade em etanol a 70%, também não foram encontrados dados na literatura referentes aos óleos de *Cymbopogon citratus* (capim santo) e *Allium sativum* (alho). Em relação ao índice de refração, ambos os óleos apresentaram valores dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente (ANVISA, 1999), na qual o máximo permitido é de 1,469, o que poderia estar relacionado à maior presença de impurezas dispersas nesses óleos.

Já os aspectos cor e aparência estão de acordo com dados encontrados na literatura, sendo que pequenas diferenças nas características encontradas podem ser atribuídas a fatores tais como época de coleta, diferentes tipos de solo, condições e tempo de armazenamento dos frutos, tipo de extração e clima da região (Monteiro, 2008).

### Avaliação antibacteriana

O uso de óleos essenciais como agentes antimicrobianos apresenta, como principais características, a sua origem natural — o que significa mais segurança para os usuários e o meio ambiente — e um baixo risco de aumento da resistência microbiana à sua ação, visto que os óleos essenciais são misturas de vários compostos que, aparentemente, apresentam ações antimicrobianas diferentes, tornando mais difícil a adaptação microbiana (Daferera; Ziogas; Polissiou, 2003). Os resultados da atividade antibacteriana dos óleos essenciais extraídos das partes aéreas das espécies *Cymbopogon citratus* e *Allium sativum*, pelo método de difusão em disco, frente às bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella*, estão expressos na *Tabela 2*.

**Tabela 2** - Sensibilidade das bactérias aos óleos essenciais, pelo método de difusão em disco.

	Bactéria*				
Óleos essenciais	Escherichia coli	Pseudomonas aeruginosa	Staphylococcus aureus	Salmonella	
Cymbopogon citratus	11	10	16	18,6	
Allium sativum	4,6	6	7,2	4,6	

<sup>\*</sup> Diâmetro do halo de inibição em mm, excluindo o diâmetro do disco.

Fonte: Autoria própria (2012).

A pesquisa aponta que todas as bactérias testadas apresentam susceptibilidade ao óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim santo), pois se considera como resistentes (R)

halos de inibição com diâmetro inferior a 8 mm de diâmetro, enquanto diâmetros de 9 a 14 mm são tidos como sensíveis (S) (Moreira et al., 2005). Schuck et al. (2001) também constataram a atividade antibacteriana do óleo essencial de capim santo contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, o que está de acordo com os resultados obtidos neste trabalho.

Em estudos feitos por Victoria et al. ([2009]), a maior atividade inibitória observada foi para a bactéria Salmonella, corroborando também, assim, com os resultados obtidos neste estudo em relação à atividade antibacteriana do óleo de Cymbopogon citratus (capim santo). A ação antibacteriana desse óleo essencial, frente às cepas testadas, pode estar relacionada com o citral e o geranial presentes no óleo da espécie, princípios ativos da ação microbiana. Os resultados apontam, portanto, um alto potencial antibacteriano da espécie Cymbopogon citratus. Todavia, de acordo com Pereira et al. (2009), tornam-se imprescindíveis pesquisas que isolem essas substâncias responsáveis pela atividade antimicrobiana.

Já o estudo da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Allium sativum* (alho), por sua vez, foi inativo frente aos microrganismos testados, apresentando halo de inibição igual a 4,6, para *Escherichia coli*, 6, para *Pseudomonas aeruginosa*, 7,2, para *Staphylococcus aureus*, e 4,6, para *Salmonella*. Não há indicativo, portanto, de atividade antibacteriana, de acordo com os critérios abordados nesta pesquisa, sugeridos por Moreira *et al.* (2005).

No século XIX, Pasteur relatou a atividade antibacteriana do alho. Alguns testes *in vivo* e *in vitro* demonstraram suas atividades antibacteriana, antiviral, fibrinolítica, antimicótica e antitumoral (Bontempo, 2007; Simões *et al.*, 2007). A atividade antibacteriana é atribuída à presença da alicina (di-propenyl tiosulfinato), que age na destruição e inibição de bactérias. Ela é um dos principais componentes do alho, um componente muito

volátil que é responsável pela defesa contra microrganismos encontrados na terra. Junto à alicina, encontram-se tiossulfatos que também são antibióticos, antivirais e antifúngicos (Bontempo, 2007).

Conforme Costa (1994), além desses componentes alho antimicrobianos, o apresenta aliina (hipotensor, hipoglicemiante), inulina, nicotinamida, galantamina, ácido fosfórico e sulfúrico, ajoeno (prevenção de coágulos, antiinflamatório, vasodilatador, hipotensor e antibiótico), alil mercaptano e sulfeto dialil (hipocolesterolemiantes), adenosina miorrelaxante), (vasodilatadora, hipotensora, (cardioprotetor) e escordinina (hipotensora, aumenta a utilização de vitamina B1 e antibacteriana). O Allium sativum também dispõe de vitaminas A, B e C, proteínas e sais minerais (Costa, 1994).

De fato, alguns trabalhos têm demonstrado as ações bactericidas para *Allium sativum* (Bontempo, 2007; Simões *et al.*, 2007). No entanto, ainda se tem poucas informações literárias sobre a ação antibacteriana desse óleo essencial. Nesta investigação, o desempenho negativo do alho frente às bactérias testadas, segundo Hoffmann *et al.* (1999), possivelmente está relacionado à metodologia empregada para a extração do óleo essencial.

Ainda conforme Hoffmann *et al.* (1999), os mecanismos de ação dos óleos essenciais podem ser influenciados pela presença de diversos componentes ativos, que podem ou não apresentarem atividades físico-químicas que aumentam ou reduzem a atividade antibacteriana. Além disso, há vários fatores que podem influenciar na técnica de difusão em ágar, tais como: a presença de enzimas bacterianas, a composição do meio, a difusão das substâncias no meio, a densidade do inóculo, o período de incubação, a temperatura e a estabilidade das substâncias em uso.

#### **CONCLUSÃO**

Nesta pesquisa, o óleo essencial da espécie *Allium sativum* (alho) não apresentou atividade antibacteriana, frente às bactérias *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella*. Todavia, a literatura determina que fatores externos como a época da coleta e o solo podem interferir nos princípios ativos presentes nas plantas medicinais, o que pode influenciar sua atividade antibacteriana.

Para o óleo essencial da espécie *Cymbopogon citratus* (capim santo), foi observada inibição do crescimento bacteriano diante de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Conclui-se que a atividade antibacteriana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, frente às referidas cepas, deve estar relacionada com os princípios ativos presentes na espécie.

A partir dos resultados obtidos acerca, principalmente, do óleo de *Cymbopogon citratus*, são fundamentais estudos adicionais com abordagem química e farmacológica da espécie. Tem-se em vista que o óleo essencial dessa espécie demonstra possuir um grande potencial terapêutico, que deve ser explorado em investigações posteriores.

## **REFERÊNCIAS**

AKISUE, G.; AKISUE, M. K.; SILVA, J. R.; ANDALUZ, M. I. Padronização da droga e do extrato fluido de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Lecta**: Revista de Farmácia e Biologia, Bragança Paulista, v. 14, n. 2, p. 109-119, jul./dez. 1996.

ANVISA [Agência Nacional de Vigilância Sanitária]. **Farmacopeia brasileira**. v. 1. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010. ANVISA [Agência Nacional de Vigilância Sanitária]. Resolução

nº 482, de 23 de setembro de 1999. Aprova o Regulamento Técnico referente a óleos e gorduras vegetais. **Diário Oficial da União**: seção 1: Ministério da Saúde, Brasília, DF, ano 137, n. 196-E, p. 82-87, 13 out. 1999.

AOAC [Association Official Analytical Chemists]. **Official methods of analysis**. 16. ed. Arlington: AOAC International, 1995.

BALBI-PEÑA, M. I.; BECKER, A.; STANGARLIN; J. R.; FRANZENER, G.; LOPES, M. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina - I. Avaliação *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 3, p. 310-314, maio/jun. 2006. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-41582006000300012.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, Baltimore, v. 45, n. 4 [Technical Supplement], p. 493-496, 1966. DOI: https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4\_ts.493.

BONTEMPO, M. Alho: sabor e saúde. São Paulo: Alaúde, 2007.

CLSI [Clinical and Laboratory Standards Institute]. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**. 11. ed. [Approved Standard; CLSI document Mo2-A11]. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009a.

CLSI [Clinical and Laboratory Standards Institute]. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**. [18th Informational Supplement; CLSI document M100-S19]. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009b.

- COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 4. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994.
- DAFERERA, D. J.; ZIOGAS, B. N.; POLISSIOU, M. G. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea, Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 22, n. 1, p. 39-44, 2003. DOI: https://doi.org/10.1016/S0261-2194(02)00095-9.
- DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. Biochemistry of plant volatiles. **Plant Physiology**, Oxford (UK), v. 135, n. 4, p. 1893-1902, ago. 2004. DOI: https://doi.org/10.1104/pp.104.049981.
- EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 308-323, abr. 2007. DOI: https://doi.org/10.1002/ptr.2072.
- HOFFMANN, F. L.; SOUZA, S. J. F.; GRACIA-CRUZ, C. H.; VINTURIM, T. M.; DUTRA, A. L. Determinação da atividade antimicrobiana "in vitro" de quatro óleos essenciais de condimentos e especiarias. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 17, n. 1, p. 11-20, 1999. DOI: https://doi.org/10.5380/cep.v17i1.13794.
- ISO [International Organization for Standardization]. **Dried thyme (***Thymus vulgaris L.***) Specification** [ISO 6754]. 2. ed. Genebra: ISO, 15 abr. 1996.
- JORGE, S. S. A. **Plantas medicinais**: coletânea de saberes. [*S. l.*: *s. n.*], [2009].
- LULLEZ, J. C. Identificação de metileugenol, eugenol e chavibetol no óleo essencial da folha de *Pseudocaryophyllus acuminatus* (Limk) Burret. 1991. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1991.
- MONTEIRO, O. S. Caracterização do óleo essencial da

*Pimenta dioica* Lindl e sua aplicação como atrativo de abelhas Euglossina. 2008. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

MOREIRA, M. R.; PONCE, A. G.; DEL VALLE, C. E.; ROURA, S. I. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 38, n. 5, p. 565-570, 2005. DOI: https://doi.org/10.1016/j. lwt.2004.07.012.

MOUCHREKFILHO, V. E. Estudos analíticos emodificações químicas por metilação e acetilação do eugenol contido no óleo essencial extraído das folhas da espécie Pimenta dioica Lindl. 2000. Tese (Doutorado em Química Analítica) — Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.

PEREIRA, A. A.; CARDOSO, M. G.; ABREU, L. R.; MORAIS, A. R.; GUIMARÃES, L. G. L.; SALGADO, A. P. S. P. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 887-893, maio/jun. 2008. DOI: https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000300028.

PEREIRA, A. V.; LÔBO, K. M. S.; BEZERRA, D. A. C.; RODRIGUES, O. G.; ATHAYDE, A. C. R.; MOTA, R. A.; LIMA, E. Q.; MEDEIROS, E. S. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de jurema preta e neem sobre amostras de *Staphylococcus* sp. isoladas de mastite em búfalas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 3, p. 341-346, jul./set. 2009. DOI: https://doi.org/10.1590/1808-1657v76p3412009.

PEREIRA, M. C.; VILELA, G. R.; COSTA, L. M. A. S.; SILVA, R. F.; FERNANDES, A. F.; FONSECA, E. W. N.; PICCOLI, R. H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 731-738, jul./ago. 2006. DOI: https://doi.org/10.1590/S1413-70542006000400020.

RODRIGUES, A. G.; AMARAL, A. C. F. Introdução. *In*: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares**: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. p. 11-23. (Série A: Normas e Manuais Técnicos; Cadernos de Atenção Básica, n. 31).

SCHUCK, V. J. A.; FRATINI, M.; RAUBER, C. S.; HENRIQUES, A.; SCHAPOVAL, E. E. S. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 45-49, jan./abr. 2001.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (org.). **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS; Florianópolis: Ed. UFSC, 2007.

TAKATSUKA, F. S.; SILVA, I. D.; OLIVEIRA, M. F.; CZEPAK, C.; OLIVEIRA. C. M. A.; CUNHA, M. G. Efeito do óleo essencial açafrão (Curcuma longa) sobre o desenvolvimento micelial de fungos. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36., 2003, Uberlândia. **Anais** [...]. Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2003.

TROMBETTA, D.; CASTELLI, F.; SARPIETRO, M. G.; VENUTI, V.; CRISTANI, M.; DANIELE, C.; SAIJA, A.; MAZZANTI, G.; BISIGNANO, G. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 49, n. 6, p. 2474-2478, jun. 2005. DOI: https://doi.org/10.1128/aac.49.6.2474-2478.2005.

VICTORIA, F. N.; PERIN, G.; JACOB, R.; LENARDÃO, E. J.; SILVA, W. P.; GOLDBECK, J. C. Atividade antimicrobiana de tioderivados do citronelal e citral frente à bactérias patogênicas. *In*: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 18.; ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 11; MOSTRA CIENTÍFICA, 1., 2009, Pelotas. **Anais** [...]. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, [2009].



Avaliação via cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) de extratos metanólicos de pimentão de cultivo orgânico e convencional

RENATA DE ARAUJO

**ALVES** 

I II IA DA SII VA

**RAMOS** 

**ELIZABETH NUNES** 

**FERNANDES** 

PAULO HENRIQUE ARAGÃO

CATUNDA

WILSON ARAÚJO DA

**SILVA** 

ALAN REZERRA

**RIBEIRO** 



# AVALIAÇÃO VIA CROMATOGRAFIA A GÁS ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM) DE EXTRATOS METANÓLICOS DE PIMENTÃO DE CULTIVO ORGÂNICO E CONVENCIONAL

**RESUMO:** O pimentão é originário da América Central e uma excelente fonte de vitamina C. Devido à ausência do alcaloide capsaína, o pimentão não apresenta sabor picante e pode ser consumido na forma in natura. Do ponto de vista comercial, é uma das dez hortaliças mais importantes no Brasil, mas, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), essa hortaliça tem apresentado altíssimos índices de resíduos de agrotóxicos. Com intuito de entender e analisar o efeito do uso de agrotóxico nos compostos químicos do pimentão é que se iniciou o estudo com os extratos etanólicos de pimentão cultivado em cultura convencional e orgânica. Os extratos apresentaram resultados que confirmam a influência do agrotóxico sobre os metabólitos secundários das amostras analisadas. As subfrações 2 e 5 dos extratos etanólicos do pimentão convencional e orgânico apresentaram, a partir de cromatografia, manchas evidentes de alteração de substâncias químicas naturais que foram analisadas por meio de cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). Após derivatização das subfrações, os cromatogramas obtidos mostraram alterações entre os dois tipos de cultivo do pimentão: os picos em 13,41min e 15,90min presentes na subfração do extrato do pimentão orgânico são completamente ausentes no extrato do convencional. Observou-se também que os espectros de massas desses referidos picos permitem confirmar a presença dos compostos derivados dos ácidos hexadecanoico e octadecanoico, respectivamente.

Palavras-chave: CG-EM. Pimentão. Agrotóxico.

# GAS CROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY (GC-MS) ANALYSIS OF METHANOLIC EXTRACTS FROM ORGANIC AND CONVENTIONAL BELL PEPPER CULTIVATION

ABSTRACT: Bell pepper originates from Central America and is an excellent source of vitamin C. Due to the absence of the alkaloid capsaicin, bell pepper does not have a spicy taste and can be consumed raw. From a commercial perspective, it is one of the ten most important vegetables in Brazil. However, according to the Brazilian Health Regulatory Agency (ANVISA), this vegetable has shown extremely high levels of pesticide residues. To understand and analyze the effect of pesticide use on the chemical compounds of bell pepper, a study was initiated using ethanolic extracts from conventionally and organically grown bell peppers. The extracts presented results confirming the influence of pesticides on the secondary metabolites of the analyzed samples. Subfractions 2 and 5 of the ethanolic extracts from both conventional and organic bell peppers showed, through cromatography, evident spots indicating alterations in the natural chemical substances of the bell pepper, which were analyzed using gas cromatography-mass spectrometry (GC-MS). After derivatization of the subfractions, the obtained chromatograms revealed differences between the two types of cultivation: the peaks at 13.41 min and 15.90 min present in the subfraction of the organic bell pepper extract were completely absent in the conventional bell pepper extract. Additionally, the mass spectra of these peaks confirmed the presence of compounds derived from hexadecanoic and octadecanoic acids, respectively.

Keywords: GC-MS; Bell pepper; Pesticide.

# INTRODUÇÃO

O pimentão é um condimento originário da América Central e da região dos Andes (América do Sul) que chegou ao Brasil trazido pelos portugueses e espanhóis, no século XVI. Considerado um dos primeiros temperos utilizados para dar cor, aroma e sabor aos alimentos, além de deixar carne e cereais mais atraentes, ainda ajudava a conservar e proteger os alimentos da ação de fungos e bactérias. Nos dias atuais, o Brasil é um dos países que possui a maior variabilidade para essa espécie (Heiden et al., 2007).

Conforme Reifschneider (2000), o pimentão também é uma excelente fonte de vitamina C, apresentando média de 334 mg/100 g de parte comestível nos pimentões vermelho e amarelo, e 192 mg/100 g no verde, enquanto a laranja-pera, por exemplo, apresenta 41 mg/100 g de parte comestível. Tais dados demonstram que, além da função culinária, a espécie apresenta benefícios nutricionais importantes.

Devido à ausência do alcaloide capsicina, o pimentão não apresenta sabor picante como ocorre em outras espécies do gênero *Capsicum*. Pode ser consumido na forma imatura (verdes) ou madura (vermelhos ou amarelos), ou, ainda, utilizado na indústria alimentícia ou na produção de pigmentos (corantes) (Souza; Nannetti, 1998). De acordo com Fonseca *et al.* (1986), a pigmentação influencia o sabor e o aroma, sendo que os frutos vermelhos são mais saborosos, porque apresentam 50% mais substância picante, a capsaína.

Do ponto de vista comercial, é uma das dez hortaliças mais importantes no Brasil, com uma área cultivada anual estimada em 12 mil hectares (Henz *et al.*, 2007). A produção é difundida principalmente nas regiões Sudeste e Centro-Oeste (Blat-Marchizeli; Yañez; Costa, 2003). No Centro-Oeste, o maior produtor é o estado de Goiás, tendo comercializado 3.779,31 toneladas em 2010, sendo 91,41% produzidos no próprio estado,

onde os municípios de Anápolis, Nerópolis, Leopoldo de Bulhões, Goiânia e Petrolina de Goiás são os principais produtores (CEASA-GO, [2011]).

Culturas realizadas com uso de agrotóxico, além de exercerem ações indesejáveis aos seres humanos, podem causar danos ao ecossistema próximo às plantações agrícolas. Assim, são estipuladas normas de utilização de agrotóxico pelo Ministério da Saúde, para cada tipo de cultivo (Peres *et al.*, 2005). Em 2024, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) divulgou um monitoramento de agrotóxico em alimentos pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxico em Alimentos (PARA), referente a 2023. O relatório apresentou dados que mostram altíssimos índices de resíduos de agrotóxicos em alguns alimentos, gerando, assim, uma lista de alimentos *vilões*. Entre eles, temos o pimentão como um dos maiores vilões, com contaminação de mais de 60% das amostras analisadas (ANVISA, 2024).

Teoricamente, todas as plantas são potencialmente capazes de sintetizar metabólitos secundários. No entanto, essa característica é mais comum entre as plantas selvagens, as quais, ao longo do seu ciclo evolutivo, desenvolveram mecanismos de adaptação para competir com outras, assegurando sua sobrevivência quer pela formação de estandes puros, quer para se defender de seus inimigos naturais (Souza Filho; Alves, 2002).

Muitas espécies vegetais podem sofrer alterações de seus metabólitos secundários por diversos fatores, e o uso de agrotóxico, principalmente pelos altos índices de resíduo, pode ser um deles. Os nutrientes utilizados na agricultura e o uso da técnica de enxertia nos cultivos, dentre outros, também são considerados fatores determinantes na alteração de constituintes químicos produzidos por vegetais (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

Outro fator conhecido de alteração dos metabólitos secundários é a sazonalidade, proporcionando alterações em flavonoides, cumarinas, óleos essenciais, lactonas sesquiterpênicas, ácido fenólicos, alcaloides, taninos, entre

outros. Fatores fisiológicos como a fotossíntese podem ser afetados pelo estresse hídrico e, dessa forma, aumentarem significativamente a quantidade de flavonoides e ácido clorogênico nas flores de *Hypeicum perforatum*. Por fim, a radiação ultravioleta (UV) também é um fator determinante para foto-destruição de compostos fenólicos (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

É com base nessas observações que a presente pesquisa se insere, com o intuito de avaliar, por meio de cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), os metabólitos secundários que sofreram alteração por meio do uso de agrotóxico em culturas de pimentão, devido principalmente ao grande avanço no uso de agrotóxico nas culturas de hortaliças na região do Sul maranhense.

#### **METODOLOGIA**

As amostras de pimentão foram cultivadas no Centro de Difusão Tecnológica (CDT) do Projeto Cinturão Verde, na cidade de Imperatriz, estado do Maranhão. Os pimentões orgânicos foram cultivados afastados dos pimentões cultivados com agrotóxico Abamectin Nortox, para evitar erros nos resultados, por contaminação. Foram coletados frutos maduros, com 15 dias após a última aplicação do agrotóxico, tempo mínimo necessário para a colheita.

Após o cultivo, foram obtidos os extratos hexânicos e etanólicos. Iniciou-se a pesquisa analisando os metabólitos secundários por meio de cromatografia. Após a primeira análise, foram feitas colunas cromatográficas (CC), uma para cada extrato. As frações que apresentaram diferenças significativas foram submetidas a nova análise por cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC), de modo que se selecionou as frações que foram levadas para o cromatógrafo a gás acoplado a espectrografia de massa (CG-EM), conforme descrito por Fiorini *et al.* (2016).

As frações escolhidas foram analisadas para se verificar se houve alterações nos metabólitos secundários nas amostras convencionais, em comparação com as orgânicas. Para as análises no CG-EM, as amostras foram derivatizadas com intuito de haver eluição na coluna cromatográfica, visto que seria esperado haver presença de compostos carboxilados e hidroxilados, os quais, por sua característica, não são volatilizados e consequentemente não eluem no CG.

As condições cromatográficas para o CG foram baseadas na proposta de Veiga Jr., Patitucci e Pinto (1997): em uma rampa de aquecimento, cuja temperatura inicial de aquecimento foi de 50°C, durante um minuto, a temperatura foi aumentada com taxa de variação de 15°C/min, até atingir 200°C, temperatura mantida por 3 minutos; por fim, a temperatura foi aumentada com a mesma taxa de variação para 290 °C, temperatura esta que ficou por 5 minutos. O tempo total da corrida foi de 25 minutos.

Para a derivatização da carboxila, foi utilizado o método sugerido por Mariotti *et al.* (2011), no qual a amostra reage com n-hexano mais solução de hidróxido de potássio (2M) em metanol (grau HPLC) e, em seguida, agitada em vórtex por 30 segundos. Logo após, foram adicionados 3 mL de solução saturada de cloreto de sódio, a solução foi agitada novamente e deixada em repouso para separação de duas fases. A derivatização de hidroxila foi feita com N,O-bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA) e piridina.

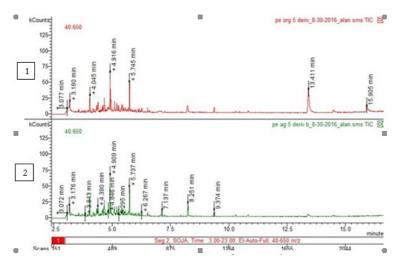
#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Mediante a realização da CCDC dos extratos do pimentão convencional e orgânico, observou-se que, após a análise com os reveladores UV e iodo sublimado, as subfrações mais apolares (2 e 5) foram as que apresentaram mais manchas distintas e, assim, foram selecionadas para posteriores análises por meio de CG-EM. As subfrações 5 dos fracionamentos dos extratos de pimentão convencional e orgânicos foram submetidas à

derivatização e, em seguida, analisadas em CG-EM, com intuito de verificar uma possível alteração dos metabólitos presentes, induzida pelo uso do agrotóxico no cultivo do pimentão.

A Figura 1 apresenta uma comparação dos cromatogramas das referidas subfrações. Nos cromatogramas, observa-se que as subfrações 5 avaliadas mostram diferença principalmente nos picos em 13,41min e 15,90min, presentes na subfração do extrato do pimentão orgânico e ausentes no extrato do pimentão convencional.

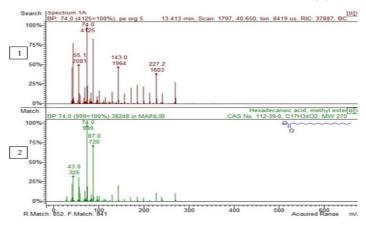
**Figura 1 -** Cromatogramas das subfrações 5 dos extratos do pimentão orgânico (1) e pimentão convencional (2) obtidos por meio de cromatógrafo a gás.



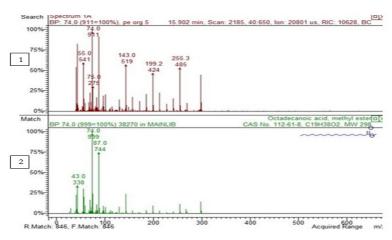
Fonte: Autoria própria (2025).

Foi possível analisar também que, comparados com os espectros da biblioteca das massas, os espectros de massas desses referidos picos evidenciam a presença dos ácidos hexadecanoico e octadecanoico, respectivamente, como apresentado nas *Figuras 2* e 3.

**Figura 2 -** Espectro de massas do pico em 13,41min da subfração 5 do pimentão orgânico (1) e o espectro do ácido hexadecanoico da biblioteca do massas (2).



**Figura 3 -** Espectro de massas do pico em 15,90min da subfração 5 do pimentão orgânico (1) e o espectro do ácido octadecanoico da biblioteca do massas (2).



Fonte: Autoria própria (2025).

#### CONCLUSÃO

Esta pesquisa, realizada com os extratos de pimentão cultivados por meio de cultura convencional e orgânica, apresentou resultados que confirmam a influência do uso de agrotóxico sobre as amostras analisadas. As subfrações 2 e 5 dos extratos etanólicos do pimentão convencional e orgânico, após derivatização, foram analisadas em CG-EM, com intuito de verificar alteração dos metabólitos mais apolares, induzida pelo uso do agrotóxico no cultivo do pimentão. Os cromatogramas do CG mostraram diferenca entre os dois tipos de cultivo do pimentão, principalmente nos picos em 13,41min e 15,90min, presentes na subfração do extrato do pimentão orgânico e ausentes no extrato do pimentão convencional. Foi possível observar também que os espectros de massas desses picos, quando comparados com os espectros da biblioteca de massas, confirmam ser os- ácidos hexadecanoico e octadecanoico, respectivamente.

#### **REFERÊNCIAS**

ANVISA [Agência Nacional de Vigilância Sanitária]. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA**: Plano Plurianual 2023-2025 – relatório dos resultados das análises de amostras monitoradas no ciclo 2023. Brasília, 11 dez. 2024.

BLAT-MARCHIZELI, S. F. B.; YAÑEZ, L. D. T.; COSTA, C. P. P. Pimentão: deu oídio. **Cultivar Hortaliças e Frutas**, Pelotas, v. 4, n. 21, p. 10-11, 2003.

CEASA-GO [Centrais de Abastecimento do Estado de Goiás]. **Análise Conjuntural 2010**. Goiânia, [2011]. (n. 35).

FIORINI, L.; GUGLIELMINETTI, L.; MARIOTTI, L.; CURADI,

- M.; PICCIARELLI, P.; SCARTAZZA, A.; SARROCCO, S.; VANNACCI, G. *Trichoderma harzianum* T6776 modulates a complex metabolic network to stimulate tomato *cv*. Micro-Tom growth. **Plant and Soil**, The Hague, v. 400, n. 1-2, p. 351-366, 2016. DOI: https://doi.org/10.1007/s11104-015-2736-6.
- FONSECA, A. F. A.; ANGELETTI, M. P.; LIMA, M. I. P. M.; COLTRI, M. L. Avaliação do comportamento de cultivares de pimentão (*Capsicum annuum L.*) em Rondônia. Porto Velho: EMBRAPA-UEPAE de Porto Velho, jun. 1986. (Pesquisa em Andamento, 87).
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, mar./abr. 2007. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026.
- HEIDEN, G.; BARBIERI, R. L.; COUTO, M. E. O.; MEDEIROS, A. R. M.; SINIGAGLIA, C. Pimentas e pimentões do sul do Brasil: variedades crioulas mantidas pela Embrapa Clima Temperado. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Recife, v. 2, n. 1, p. 841-844, fev. 2007. Disponível em: https://www.aba-agroecologia.org.br/revista/cad/article/view/2057. Acesso em: 18 jan. 2025.
- HENZ, G. P.; COSTA, C. S. R.; CARVALHO, S.; BANCI, C. A. Como cultivar pimentão: alta produtividade. **Cultivar Hortaliças e Frutas**, Pelotas, v. 7, n. 42, p. 2-7, fev./mar. 2007.
- MARIOTTI, L.; PICCIARELLI, P.; LOMBARDI, L.; CECCARELLI, N. Fruit-set and early fruit growth in tomato are associated with increases in indoleacetic acid, cytokinin, and bioactive gibberellin contents. **Journal of Plant Growth Regulation**, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 405-415, 2011. DOI: https://doi.org/10.1007/s00344-011-9204-1.

PERES, F.; OLIVEIRA-SILVA, J. J.; DELLA-ROSA, H. V.; LUCCA, S. R. Desafios ao estudo da contaminação humana e ambiental por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 10 (sup.), p. 27-37, set. 2005. DOI: https://doi.org/10.1590/S1413-81232005000500006.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. (org). *Capsicum*: pimentas e pimentões no Brasil. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia**: princípios básicos e aspectos gerais. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002.

SOUZA, R. J.; NANNETTI, D. C. A cultura do pimentão (*Capsicum annuum L.*). Lavras: UFLA, 1998.

VEIGA JR., V. F.; PATITUCCI, M. L.; PINTO, A. C. Controle de autenticidade de óleos de copaíba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. **Química Nova**, São Paulo, v. 20, n. 6, p. 612-615, nov./dez. 1997. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40421997000600007.



Investigação do descarte de medicamentos e perfurocortantes, e sensibilização ambiental no município de Imperatriz, Maranhão

STEPHANNY INGRID NUNES

**PEREIRA** 

IVANEIDE DE OLIVEIRA

**NASCIMENTO** 

MÁRCIA GUELMA SANTOS

**BELFORT** 

SHEILA ELKE ARAUJO

NUNES

**ELIZABETH NUNES** 

**FERNANDES** 



# INVESTIGAÇÃO DO DESCARTE DE MEDICAMENTOS E PERFUROCORTANTES, E SENSIBILIZAÇÃO AMBIENTAL NO MUNICÍPIO DE IMPERATRIZ, MARANHÃO

**RESUMO:** Os resíduos gerados por medicamentos e materiais perfurocortantes possuem uma elevada fração infectante. Desse modo, o descarte incorreto pode ocasionar diversos prejuízos ao meio ambiente. Com o objetivo de investigar as formas de descarte de medicamentos e perfurocortantes utilizados por usuários da Central de Assistência Farmacêutica (CAF) do município de Imperatriz, estado do Maranhão, em suas residências, foram selecionados indivíduos com idade igual ou superior a 18 anos, por meio de um questionário padronizado. No estudo, 61,3% das pessoas afirmaram que o lixo comum é a sua principal forma de descarte para medicamentos vencidos ou em desuso. E, apesar de 63,2% reconhecerem que o descarte em lixo comum não é o modo correto, a falta de orientação é a principal justificativa para o seguimento dessas atitudes. À vista disso, é necessário despertar a consciência ambiental na população, para diminuir os índices de acidentes e contaminação do meio ambiente.

**Palavras-chave:** Descarte. Resíduos infectantes. Sensibilização ambiental.

## INVESTIGATION OF DISPOSING OF MEDICATIONS AND SHARPS, AND ENVIRONMENTAL AWARENESS IN THE MUNICIPALITY OF IMPERATRIZ, MARANHÃO

**ABSTRACT:** The waste generated by medications and sharp materials has a high infective fraction. Thus, incorrect disposing can cause various damages to the environment. With the aim of

investigating the disposing methods of medications and sharp materials used by users of the Pharmaceutical Assistance Center (CAF) in the municipality of Imperatriz, state of Maranhão, individuals aged 18 years or older were selected through a standardized questionnaire. In the study, 61.3% of respondents stated that common household waste is their primary disposing method for expired or unused medications. Despite 63.2% recognizing that disposing in common household waste is not the correct method, lack of guidance is the main justification for continuing these behaviors. Therefore, it is necessary to raise environmental awareness among the population to reduce accident rates and environmental contamination.

**Keywords:** Disposing. Infectious waste. Environmental awareness.

#### INTRODUÇÃO

O ato de não destinar adequadamente os resíduos gerados pelo sistema de saúde pode resultar em uma sequência de transtornos, devido a sua alta fração infectante. Dentre as consequências do descarte incorreto, está o comprometimento da fauna e da flora, de ambientes marinhos, rios, solos e lençóis freáticos (Morretto *et al.*, 2020).

Segundo o Conselho Federal de Farmácia (2021), o Brasil possui um inventário anual de lançamentos de resíduos de medicamentos que oscila entre dez e vinte mil toneladas por ano, estando entre os dez principais mercados de medicamento do mundo. Dessa forma, com o intuito de reforçar a Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010, que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), foi elaborado o Projeto de Lei nº 11.186, de 2018, que amplia a obrigação da logística reversa para medicamentos de uso humano ou de uso veterinário, bem como embalagens desses produtos.

Ainda assim, é possível observar uma grande dificuldade na implementação da PNRS. Esse obstáculo ocorre por conta da necessidade que as empresas encontram de utilizar de seus recursos financeiros para custear a logística reversa e por falta de informações para a população, sobre a forma de coleta apropriada (Fernandes *et al.*, 2020). Por outro lado, percebe-se a existência de um alto investimento em propagandas através de meios de comunicação que influenciam o acúmulo de medicamentos, o qual culmina na origem das farmácias caseiras (Bandeira; Banaszeski, 2021).

Há a necessidade de a população ter conhecimento sobre como ocorre o gerenciamento de resíduos e sua importância, para reverter o atual cenário de contaminação ambiental, para que haja diminuição dos impactos ocasionados. Em um estudo que trata do descarte de medicamentos como uma questão socioambiental e de saúde, foi observado que medicamentos em desuso e fora do prazo de validade ainda são diretamente destinados ao lixo comum e rede de esgoto; somente em alguns casos, dá-se o destino correto, ao serem devolvidos para a rede pública (Bandeira *et al.*, 2019).

Sendoassim, devidoàs ignificativa importância e atualidade do tema em questão, este estudo tem como objetivo investigar as formas de descarte de medicamentos e perfurocortantes utilizados por usuários da Central de Assistência Farmacêutica (CAF) de Imperatriz, Maranhão, em suas residências. Também busca-se observar o conhecimento da população em relação ao descarte indevido de medicamentos e suas consequências ao meio ambiente.

## DESCARTE DOMICILIAR DE MEDICAMENTOS E PERFUROCORTANTES

A farmácia caseira ou, como também é conhecida, o estoque domiciliar de medicamentos é resultado do acesso da população a um número maior de medicamentos do que a necessidade real e pode ser constituída por medicamentos fora

de uso, em uso e para automedicação (Cerqueira; Cedro; Lima, 2022). A forma como as sobras desses medicamentos serão descartadas e a validade não são os únicos problemas que as farmácias caseiras podem trazer, pois, quando são armazenados de forma indevida, também podem ocasionar prejuízos ao meio ambiente e à saúde de quem irá consumi-los (Fernandes *et al.*, 2020).

De acordo com a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), "[...] o uso racional de medicamentos é essencial para o alcance das metas dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS)" (Nações Unidas Brasil, 2019). Assim, acredita-se que o desenvolvimento de campanhas educativas quanto ao risco da automedicação e fracionamento da dose prescrita pode desestimular o estoque domiciliar e trazer bons resultados, para reverter o atual quadro (Constantino *et al.*, 2020).

Já os perfurocortantes são Resíduos de Serviço de Saúde (RSS) pertencentes ao grupo "E". Como exemplo da composição desse grupamento, pode-se encontrar seringas, agulhas, ampolas de vidro e lâminas de bisturi (Brasil, 2021a). O resíduo desses materiais pode ser produzido tanto nos serviços de saúde, quanto no meio domiciliar, por indivíduos que necessitam de tratamentos com medicamentos injetáveis (Santos; Ruiz, 2020). Ao serem descartados em lixo comum, sem os devidos cuidados, podem cortar ou perfurar quem os manuseia e trazer comprometimento à saúde, como, por exemplo, pela contaminação com o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e os das Hepatites B e C (Brasil, 2021a).

A desorientação da população acerca do descarte correto, por sua vez, faz com que esses resíduos tenham destino no lixo comum, pias e vasos sanitários, de modo que a ineficácia dos sistemas de esgoto em fazer um tratamento adequado resulta em vários problemas (Morretto *et al.*, 2020). As substâncias químicas presentes nos medicamentos, mesmo no caso dos que

possuem baixa concentração, acabam gerando uma preocupação no meio científico, dado que a sua decomposição traz alterações aos seres vivos (Silva; Barbosa; Araujo, 2022).

#### LEGISLAÇÃO E LOGÍSTICA REVERSA

Ao fazer parte do tratamento de diversas afecções à saúde, o consumo de medicamentos tem aumentado consideravelmente. Consequentemente, observa-se uma intensificação na quantidade de resíduos dessa natureza. À vista disso, foram elaboradas algumas legislações e resoluções do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), para uma gestão e gerenciamento adequado.

Apesar de não abordar questões quanto ao descarte, através da Portaria nº 3.916, de 30 de outubro de 1998, foi criada a Política Nacional de Medicamentos (PMN), que tem como objetivo garantir a segurança e o uso racional de medicamentos. Apenas em 2004, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) criou um Regulamento Técnico para Gerenciamento de Resíduos dos Serviços de Saúde (GRSS) (Bandeira *et al.*, 2019). No entanto, a já citada PNRS é a lei mais recente em relação aos RSS, atualmente reforçada pelo Projeto de Lei nº 11.186, de 2018.

A PNRS possui um instrumento conhecido como *logística* reversa, que tem avançado consideravelmente no país. A ação consiste em o indivíduo entregar à empresa de origem os produtos que não são mais utilizados, para que seja feito o descarte adequado (Brasil, 2021b). Quando se trata dos resíduos de medicamentos, entre os benefícios que essas práticas podem ocasionar, estão: resolver problemas ambientais associados à qualidade da água e sanar efeitos que a água contaminada poderia trazer à população; prevenir intoxicação acidental relacionada a medicamentos em excesso, dentre outros (Campos et al., 2017; Oliveira et al., 2022).

Apesar de possuir legislações vigentes, ao se tratar do destino de resíduos de natureza biológica e química, a realidade sanitária do Brasil é que o país ainda apresenta dificuldades nas formas de tratamento (Lima *et al.*, 2022). Além disso, Constantino *et al.* (2020) afirmam que é necessário não só uma política pública que regulamente o descarte domiciliar, mas também a carência da população quanto à educação em saúde faz com que hábitos inadequados de destino aos resíduos persistam.

### IMPACTOS AMBIENTAIS GERADOS PELA FORMA INCORRETA DE DESCARTE

Segundo dados do Ministério do Meio Ambiente, no ano de 2021, foram implementados mais de 3,6 mil pontos de coleta de medicamentos no país. Esse feito tornou possível o alcance de 70 milhões de pessoas, além de dar uma destinação adequada para 50 toneladas de medicamentos no ano anterior, que seriam despejados sem os devidos cuidados no meio ambiente (Brasil, 2022).

O manejo inadequado de resíduos sólidos pode ocasionar problemas ambientais, sociais e econômicos (Silva; Barbosa; Araujo, 2022). Alguns dos efeitos da presença de resíduos de fármacos em corpos hídricos é a resistência bacteriana e alterações hormonais em peixes, como, por exemplo, inibição testicular e hermafroditismo (Medeiros; Moreira; Lopes, 2014). Quando descartados em lixo comum e possuindo um acesso fácil, os medicamentos podem ser ingeridos por idosos, crianças ou mesmo catadores, tornando-os suscetíveis a intoxicações (Silva; Leão, 2019). Acrescenta-se a infertilidade do solo como uma consequência desse descarte em lixo comum.

O meio ambiente equilibrado é necessário para uma qualidade de vida sadia (Morretto et al., 2020). Segundo

Blankenstein e Philippi Junior (2018), a tecnologia para a purificação do solo e da água no mundo, atualmente, não é suficiente. Por esse motivo, a melhor forma de prevenção da saúde do meio ambiente é evitar o contato com esses produtos químicos. Assim, nota-se a importância de se intensificar o conhecimento populacional, educando e treinando os usuários quanto às práticas ambientais adequadas aos RSS (Oliveira *et al.*, 2022).

#### **METODOLOGIA**

#### População e amostra do estudo

Para a escolha da amostra, de acordo com o propósito do estudo, utilizou-se o método não probabilístico. Dessa forma, foram entrevistados 462 indivíduos, usuários da CAF, na tentativa de investigar a maneira do descarte de medicamentos e de resíduos perfurocortantes utilizados no tratamento de pacientes, em seus domicílios, bem como acerca do acesso ao conhecimento e à orientação sobre esse descarte.

#### Local de estudo

O local selecionado para entrega e preenchimento dos questionários foi a CAF de Imperatriz, Maranhão, onde se concentram os programas de Farmácia de Medicamentos Excepcionais ou Farmácia de Alto Custo, Farmácia Básica (central de onde são abastecidas todas as unidades básicas do município de Imperatriz), Farmácia de Saúde Mental e Farmácia de Distribuição de Insulina. Pela CAF, passa um elevado fluxo de pessoas de todos os bairros da cidade, permitindo uma maior diversificação da amostra e possibilitando, desse modo, observar diferentes perfis de indivíduos.

#### Procedimentos de coleta de dados

Os indivíduos que possuíam idade igual ou superior a 18 anos eram informados sobre o projeto e os benefícios que um descarte correto e consciente de medicamentos e materiais perfurocortantes poderia trazer ao meio ambiente e à saúde humana. Em parceria com a coordenação da CAF, eram instruídos a descartar seus medicamentos de forma correta, na própria CAF.

Assim que ficasse claro o propósito do estudo e os voluntários aceitassem participar da pesquisa, eram auxiliados a responder um questionário utilizado para a coleta de dados da pesquisa, com dezessete questões fechadas e de múltipla escolha com perguntas semiestruturadas referentes aos medicamentos e possíveis perfurocortantes utilizados pelos indivíduos, bem como sobre como ocorre o descarte de tais resíduos nos domicílios. Adicionalmente, investigou-se também a respeito do acesso ao conhecimento e à orientação sobre o descarte.

#### Processamento de dados

Os resultados obtidos foram organizados em forma de um banco de dados, em uma planilha no Excel. As análises estatísticas que permitiram a elaboração de gráficos, tabelas e mapa de distribuição dos bairros alcançados pelo estudo foram realizadas pela equipe executora do projeto, de forma criteriosa. Visando descrever o tema com detalhamento, foi empreendida também uma pesquisa bibliográfica, a partir de artigos científicos, livros, entre outros, que tratassem do tema em questão.

#### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

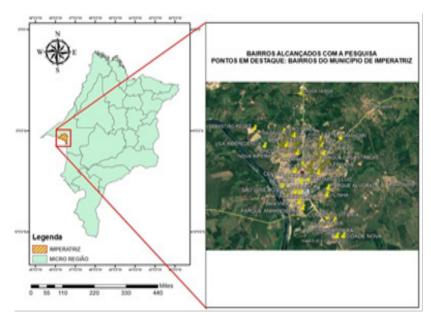
O estudo contou com a participação de 462 voluntários que buscavam atendimento na CAF de Imperatriz,

Maranhão. Dentre as pessoas que se dispuseram a colaborar com a pesquisa, foi possível observar que um total de 66,5% (307) eram do sexo feminino e 33,5% (155) eram do sexo masculino. No que se refere à faixa etária, foi encontrada uma predominância de 18 a 29 e de 30 a 39 anos, com, respectivamente, 36,2% (167) e 21,2% (98) do total de participantes da pesquisa.

Dentre os entrevistados, havia pessoas de 68 bairros do município de Imperatriz. Desse modo, a pesquisa alcançou índices satisfatórios, pois conseguiu alcançar 42,5% do território em questão. A carência de um Plano de Gestão Integrada de Resíduos Sólidos na cidade, como a PNRS determina, faz com que aproximadamente 6.500 toneladas de Resíduos Sólidos Urbanos por dia tenham uma destinação inadequada (Longhin; Leite; Barberi, 2018). Com o auxílio do Google Earth e do ArcGIS (*Figura 1*), foi possível demonstrar a amplitude de lugares alcançados com o projeto.

Quando os entrevistados foram indagados, através do questionário, sobre a forma habitualmente adotada ao descartar as embalagens primárias (vidro de xarope, bisnaga de creme), embalagens secundárias (caixa que embala os medicamentos) e os medicamentos que se encontravam vencidos ou em desuso, prevaleceu o descarte no lixo comum. A esse respeito, destaca-se que os medicamentos descartados em lixo comum, ao entrar em contato com o solo, podem gerar desequilíbrio na flora e na fauna, causar resistência bacteriana e a nulidade de alguns tratamentos (Tonet *et al.*, 2020). Ao se tratar especificamente de sobras ou vencimento de medicamentos, o despejo em vasos sanitários e pias residenciais representou cerca de 15,4% (71) da escolha (*Tabela 1*).

**Figura 1 -** Mapa de distribuição dos bairros alcançados com a pesquisa, em Imperatriz, Maranhão.



**Tabela 1 -** Formas de descarte de embalagens primárias e secundárias, e de medicamentos vencidos ou em desuso.

Variável		N = 462	<b>%</b>
Descarte de embalagens primárias			
Lixo comum		362	78,4
Queima		31	6,7
Reutilizo		9	1,9
Locais próprios para coleta		49	10,6
Entrega na farmácia		11	2,4
Descarte de embalagens secundárias			
Lixo comum		368	79,6

Queima	43	9,4	
Reutilizo	17	3,6	
Locais próprios para coleta	34	7,4	
Entrega na farmácia	-	-	
Descarte de medicamentos vencidos/desuso			
Lixo comum	283	61,3	
Vaso sanitário/ na pia	71	15,4	
Armazeno em casa	7	1,5	
Locais próprios para coleta	38	8,2	
Não sobram	63	13,6	

Ponezi, Duarte e Claudino (2008 apud Medeiros; Moreira; Lopes, 2014) afirmam que as estações de tratamento de esgoto do país não são projetadas para a degradação de resíduos farmacêuticos. Por isso, quando despejados em pias ou vasos sanitários, resquícios dessas substâncias chegam ao meio ambiente, trazendo contaminação.

Há também cerca de 10,6% (49) dos indivíduos que descartam as embalagens primárias, 7,4% (34) que descartam embalagens secundárias e 8,2% (38) que descartam sobras de medicamentos em coletores próprios para essa finalidade, oferecendo, dessa forma, um fim mais adequado a esses resíduos. Segundo Nicácio e Pereira Junior (2019), a saúde da população de determinada localidade está diretamente relacionada com a qualidade do meio ambiente, e dar uma destinação adequada aos resíduos é um modo de contribuir para a manutenção da natureza.

Em relação aos perfurocortantes, 26,8% (124) afirmaram possuir seringas, agulhas de insulina, lancetas ou lâmina em suas residências (*Tabela 2*). No momento de realizar o descarte desses materiais, 19,9% (92) admitiram pôr no lixo comum.

**Tabela 2 -** Uso de perfurocortantes nas residências, formas de descarte aplicadas e acidentes sucedidos.

Variável	N = 462	%	
Perfurocortantes comuns nas residências dos pesquisados			
Seringas	56	12,2	
Agulhas de insulina	15	3,2	
Lanceta	6	1,2	
Lâminas	21	4,5	
Outros (escalpes, ampolas)	26	5,7	
Não utilizo	338	73,2	
Forma de descarte dos perfurocortantes			
Lixo comum	92	19,9	
Queima	11	2,4	
Reutilizo	1	0,2	
Locais próprios para coleta	17	3,7	
Entrega na farmácia	3	0,6	
Não utilizo	338	73,2	
Ocorrência de acidentes nas residências			
Sim	48	10,3	
Não	414	89,7	

Chama atenção o fato de que aproximadamente 10,3% (48) das pessoas declararam a ocorrência de acidentes decorrentes do descarte inadequado de perfurocortantes. A prática do descarte inadequado de perfurocortantes é um problema social, pois pode ocasionar acidentes aos coletores de lixo e à comunidade, além de intensificar os danos ao ambiente (Neves *et al.*, 2020).

Ao serem interrogados se eles acreditavam que a sua opção de descarte aplicada estava correta, 292% (63,2) reconheceram que não, e 87,6% (405) informaram nunca ter encontrado pontos

de descarte na cidade. Já 73,6% (340) relataram nunca ter sido orientados da forma correta de descartar esses resíduos (Tabela 3). Soares *et al.* (2020) afirmam, em seu estudo, que a carência de pontos de coleta e a ausência de informação estão entre os principais fatores para o descarte inadequado de medicamentos em domicílios.

**Tabela 3 -** Conhecimento e orientação sobre o descarte de medicamentos e perfurocortantes

	Variável	N = 462	%
Opção de descarte está correta			
Sim		170	36,8
Não		292	63,2
Informado nas UBSs ou farmácias sobre a existência de algum coletor para o descarte desses materiais			
Sim		48	10,3
Não		414	89,7
Encontrou pontos de descarte em Imperatriz			
Sim		57	12,4
Não		405	87,6
Orientado sobre a forma correta de descartar medicamentos e materiais perfurocortantes			
Sim		122	26,4
Não		340	73,6

Fonte: Elaborado pelos autores (2017).

No que diz respeito ao questionamento do principal motivo pelo qual a população descarta de forma incorreta (Tabela 4), aproximadamente 52,3% (242) acreditam que isso ocorre por falta de informação quanto ao modo correto de descarte. A ausência de orientação faz com que os resíduos de medicamentos e perfurocortantes acabem sendo desprezados

em lixo comum. Esse ato traz risco de contaminação do meio ambiente e prejuízo à saúde pública (Santos; Ruiz, 2020).

Com relação ao risco de se descartar perfurocortantes sem os devidos cuidados, cerca de 60,4% (279) afirmaram que o ato poderia ocasionar acidentes com profissionais que coletam o lixo comum e que o principal responsável por dar um destino adequado a esses resíduos é o município. Também é de grande relevância ressaltar que 15,5% (72) declararam desconhecer o risco que os resíduos de medicamentos podem causar ao meio ambiente e, consequentemente, à saúde da população.

**Tabela 4 -** Conhecimento populacional sobre o risco de descarte inadequado.

Variável	N = 462	%	
Principal risco de descartar medicamento	s em lixo com	ıum	
Contaminação da população	206	44,5	
Intoxicação de animais	57	12,4	
Contaminação de rios	89	19,3	
Contaminação do lençol freático	38	8,3	
Desconhece	72	15,5	
Principal risco de descartar perfurocortant	es em lixo coı	mum	
Contaminação da população	98	21,2	
Intoxicação de animais	28	6	
Acidentes domésticos	57	12,4	
Acidentes com profissionais que coletam o lixo comum	279	60,4	
Principal motivo de o descarte ocorrer de forma incorreta			
Falta de informação quanto ao descarte correto	242	52,3	
Ausência/poucos pontos de coleta	115	24,9	
Poucas campanhas educativas sobre o consumo e descarte consciente	66	14,3	
Por não saber os efeitos que os medicamentos causam no meio ambiente e a saúde humana	39	8,5	

Responsável por dar um destino adequado aos medicamentos vencidos, sobras e embalagens			
Município	273	59,1	
Distribuidor	38	8,3	
Rede farmacêutica	49	10,6	
Indústria	21	4,5	
Posto de saúde/UBS	81	17,5	

Ao passo que foi observado grande índice de respostas afirmando que o município poderia ajudar a população na orientação para o descarte correto de perfurocortantes e medicamentos vencidos ou em desuso, os voluntários foram questionados de como poderia ser essa contribuição. Como resultado, 210 pessoas optaram por divulgação na mídia, enquanto 178 relataram que a melhor forma é com instruções na farmácia, ao receber o medicamento, e 74 opinaram pela entrega de panfletos informativos.

A logística reversa da indústria farmacêutica busca solucionar os problemas relacionados ao descarte incorreto de medicamentos no país, mas existe ainda a necessidade de uma efetivação da PNRS, para consolidar a participação dos governantes, da indústria e do comércio (Bandeira; Banaszeski, 2021). Os profissionais da saúde também têm um papel importante nesse processo, com instruções sobre o uso racional de medicamentos e sobre a forma correta de desprezálos (Oliveira et al., 2022).

#### CONCLUSÃO

O descarte inadequado de medicamentos e perfurocortantes ocasiona prejuízos ao meio ambiente que resultam no comprometimento da qualidade de vida das gerações presentes e futuras. Ainda existe uma carência em relação à orientação da população e aos serviços de manejo de resíduos da cidade. Por esse motivo, grande parte dos medicamentos vencidos ou em desuso são jogados no lixo comum ou mesmo em pias e vasos sanitários.

Durante as entrevistas, várias pessoas afirmaram que não imaginavam que o ato de descartar um medicamento ou perfurocortante incorretamente poderia ocasionar tantos problemas. Ademais, 26,4% afirmaram nunca ter sido orientados sobre a forma correta de descarte. A efetivação de uma política de logística reversa no município terá a cooperação da comunidade, haja vista que 63,2% dos pesquisados consideram que a sua opção de descarte não está correta, embora, por não saber como proceder com esses resíduos, acabem realizando o descarte de maneira indevida.

A falta de informação quanto ao descarte correto e a ausência ou pequena quantidade de pontos de coleta na cidade podem justificar os achados deste estudo. Nesse sentido, algumas medidas podem ser aplicadas para mitigar essa adversidade, como exigir uma legislação mais estruturada relativa ao descarte doméstico desse tipo de resíduo, campanhas educativas que orientem a população sobre o risco causado com o descarte inadequado, por parte dos gestores municipais ou conselhos de classe, e orientações sobre a forma de descarte correto nas farmácias, ao receber os medicamentos. Assim, acidentes com profissionais da saúde e profissionais que coletam o lixo comum podem ser diminuídos, juntamente com os riscos de contaminação da população e do meio ambiente.

#### **REFERÊNCIAS**

BANDEIRA, E. O.; ABREU, D. P. G.; LIMA, J. P.; COSTA, C. F. S.; COSTA, A. R.; MARTINS, N. F. F. Descarte de medicamentos: uma questão socioambiental e de saúde. **Revista de Pesquisa** 

**Cuidado é Fundamental Online**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 1, p. 1-10, jan./mar. 2019. DOI: http://dx.doi.org/10.9789/2175-5361.2019.v11i1.1-10.

BANDEIRA, E.O.; BANASZESKI, C.L. Alogística reversa no descarte de medicamentos. **Caderno Saúde e Desenvolvimento**, Curitiba, v. 10, n. 18, p. 21-37, 2021. Disponível em: https://www.cadernosuninter.com/index.php/saude-e-desenvolvimento/article/view/1068. Acesso em: 25 jan. 2022.

BLANKENSTEIN, G. M. P.; PHILIPPI JUNIOR, A. O descarte de medicamentos e a Política Nacional de Resíduos Sólidos: uma motivação para a revisão das normas sanitárias. **Revista de Direito Sanitário**, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 50-74, mar./jun. 2018. DOI: https://doi.org/10.11606/issn.2316-9044.v19i1p50-74.

BRASIL. Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares. Resíduos perfurocortantes devem ser acondicionados corretamente para evitar risco de contaminação. **Notícias**. Brasília, 6 maio 2021a. Disponível em: https://www.gov.br/ebserh/pt-br/hospitais-universitarios/regiao-sudeste/hc-ufmg/comunicacao/noticias/residuos-perfurocortantes-devem-ser-acondicionados-corretamente-para-evitar-risco-de-contaminacao. Acesso em: 19 dez. 2022.

BRASIL. Logística reversa avança no Brasil e contribui para a preservação ambiental. Notícias, 23 ago. 2021b. Disponível em: https://www.gov.br/pt-br/noticias/meio-ambiente-eclima/2021/08/logistica-reversa-avanca-no-brasil-e-contribui-para-a-preservação-ambiental. Acesso em: 17 jan. 2023.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Brasil tem mais de 3,6 mil pontos de coleta de medicamentos implantados em apenas 1 ano. **Notícias**. Brasília, 28 abr. 2022. Disponível em: https://www.gov.br/mma/pt-br/noticias/brasil-tem-mais-de-3-6-mil-pontos-de-coleta-de-medicamentos-implantados-em-apenas-1-ano. Acesso em: 5 dez. 2022.

CAMPOS, E. A. R..; PAULA, I. C.; PAGANI, R. N.; GUARNIERI, P. Reverse logistics for the end-of-life and end-of-use products

in the pharmaceutical industry: a systematic literature review. **Supply Chain Management**: An International Journal, Leeds (UK), v. 22, n. 4, p. 375-392, 2017. DOI: https://doi.org/10.1108/SCM-01-2017-0040.

CERQUEIRA, L. S.; CEDRO, P. E. P.; LIMA, D. M. Análise do estoque domiciliar de medicamentos em uma população de um município do interior da Bahia. **Revista Científica Eletrônica do Conselho Regional de Farmácia da Bahia**, Salvador, v. 1, n. 1, p. e01012203, 2022. DOI: https://doi.org/10.4322/rce-crf-ba.e01012203.

CONSELHO FEDERAL DE FARMÁCIA. Câmara dos Deputados aprova PL com regras para descarte de medicamentos. **Notícias**. Brasília, 2021. Disponível em: https://www.cff.org.br/noticia.php?id=6375. Acesso em: 17 jan. 2023.

CONSTANTINO, V. M.; FREGONESI, B. M.; TONANI, K. A. A.; ZAGUI, G. S.; TONINATO, A. P. C.; NONOSE, E. R. S.; FABRIZ, L. A.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. Estoque e descarte de medicamentos no domicílio: uma revisão sistemática. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, p. 585-594, fev. 2020. DOI: https://doi.org/10.1590/1413-81232020252.10882018.

FERNANDES, M. R.; FIGUEIREDO, R. C.; SILVA, L. G. R.; ROCHA, R. S.; BALDONI, A. O. Armazenamento e descarte dos medicamentos vencidos em farmácias caseiras: problemas emergentes para a saúde pública. **Einstein (São Paulo)**, São Paulo, v. 18, 2020. DOI: http://dx.doi.org/10.31744/einstein\_journal/2020AO5066.

LIMA, S. H. P.; ALMEIDA, S. M.; LEMOS, D. G.; ANDRADE JUNIOR, A. M.; CRUZ, R. J.; FERREIRA, R. R.; SALLES, E. C. S.; SALLES, S. W. E. Risco ambiental do descarte de medicamentos. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 8, n. 1, p. 6466-6472, jan. 2022. DOI: https://doi.org/10.34117/bjdv8n1-437.

LONGHIN, S. R.; LEITE, C. L.; BARBERI, M. Resíduos sólidos urbanos no município de Imperatriz - MA: uma análise da situação atual. **Gestão & Sustentabilidade Ambiental**,

Florianópolis, v. 7, n. 2, p. 628-651, abr./jun. 2018. DOI: https://doi.org/10.19177/rgsa.v7e22018628-651.

MEDEIROS, M. S. G.; MOREIRA, L. M. F.; LOPES, C. C. G. O. Descarte de medicamentos: programas de recolhimento e novos desafios. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 35, n. 4, p. 651-662, 2014. Disponível em: https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/88. Acesso em: 28 dez. 2022.

MORRETTO, A. C.; RAPOSO, L. C.; SILVA, K. G. M.; CAVALCANTE, B. K.; GONZALEZ, A. R.; FERREIRA, M. A. G.; PEREIRA, G. J. V. Descarte de medicamentos: como a falta de conhecimento da população pode afetar o meio ambiente. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, São Paulo, v.3, n. 3, p. 442-456, nov. 2020. DOI: https://doi.org/10.31415/bjns. v3i3.121.

NAÇÕES UNIDAS BRASIL. OPAS: Uso racional de medicamentos é elemento chave para alcançar metas dos ODS. **Centro de Imprensa**: Notícias, Brasília, 10 dez. 2019. Disponível em: https://brasil.un.org/pt-br/84749-opas-uso-racional-demedicamentos-e-elemento-chave-para-alcancar-metas-dos-ods. Acesso em: 17 jan. 2023.

NEVES, H. C. C.; FAVORITO, A. C. F. A.; PAGOTTO, V.; SANTOS, S. L. V. Autocuidado de pessoas com *Diabetes Mellitus*: reuso e descarte de seringas e agulhas. **Ciência, Cuidado e Saúde**, Maringá, v. 19, p. e50430, 2020. DOI: https://doi.org/10.4025/ciencuidsaude.v19i0.50430.

NICÁCIO, J. A.; PEREIRA JUNIOR, A. Saneamento básico, meio ambiente e a saúde pública em Açailândia - MA. **Revista Saúde e Meio Ambiente - RESMA**, Três Lagoas, v. 8, n. 1, p. 123-136, jan./jul. 2019. Disponível em: https://periodicos.ufms.br/index.php/sameamb/article/view/7469. Acesso em: 18 abr. 2022.

OLIVEIRA, C. M.; SENA, M. P. M.; SALES, C. A.; SOUZA, M. F. R.; MELO, R. B. C.; FREITAS, C. S.; MELLO, A. G. N. C.; SENA, L. W. P. O papel do farmacêutico na logística reversa de

medicamentos no Brasil: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 11, n. 1, p. e30611124854, 2022. DOI: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i1.24854.

SANTOS, L. N.; RUIZ, J. B. Caracterização e quantificação dos resíduos perfurocortantes gerados por diabéticos do município de Umuarama, PR, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 7, p. 2813-2819, jul. 2020. DOI: https://doi. org/10.1590/1413-81232020257.10402018.

SILVA, A. P. R. F.; LEÃO, V. G. Descarte de medicamentos e seus impactos à saúde e meio ambiente. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR**, v. 28, n. 4, p. 92-96. Cianorte: Master, set./nov. 2019.

SILVA, K. K. F.; BARBOSA, V. B.; ARAUJO, A. S. A. Avaliação do descarte de medicamentos e implicações ao meio ambiente e à saúde. **Conjecturas**, [s. l.], v. 22, n. 8, p. 1011-1024, 2022.

SOARES, A. L. P. P.; SILVA, J. B.; MERG, C. D.; RIES, E. F.; ROCHA, V. M. P.; BAYER, V. M. L. Ações de conscientização sobre armazenamento e descarte correto de medicamentos em unidades de saúde de santa Maria/RS: relato de experiência. **Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA**, Três Lagoas, v. 10, n. 1, p. 145-156, jan./jul. 2020. Disponível em: https://periodicos.ufms.br/index.php/sameamb/article/view/9802. Acesso em: 12 dez. 2022.

TONET, G.; OLIVEIRA, A. K. M.; RIVERO-WENDT, C. L. G.; ARAÚJO, G. M.; BRITO, I. K.; GANASSIN, A. R.; MATIAS, R. Medicamentos vencidos ou em desuso e riscos ambientais no município de Terenos, Mato Grosso do Sul. **Ensaios**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 170-182, 2020. Disponível em: https://ensaioseciencia.pgsscogna.com.br/ensaioeciencia/article/view/8185. Acesso em: 30 mar. 2023.



# Espectrofotometria de flavonoides e avaliação antifúngica de plantas da Reserva Extrativista do Ciriaco

PRISCILA LIMA

**BRANDÃO** 

GABRIEL GUZZARD SANTOS DA

CRUZ

SAMARA REIS

**GOVEIA** 

IVANEIDE DE OLIVEIRA

**NASCIMENTO** 

MÁRCIA GUELMA SANTOS

**BELFORT** 

SHEILA ELKE ARAUJO

**NUNES** 

**ELIZABETH NUNES** 

**FERNANDES** 



#### ESPECTROFOTOMETRIA DE FLAVONOIDES E AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA DE PLANTAS DA RESERVA EXTRATIVISTA DO CIRIACO

RESUMO: Os flavonoides são encontrados nas plantas em forma de pigmentos, possuem atividade antioxidante e aiudam no processo de polinização, por atraírem insetos. Realizou-se pesquisa com objetivo de analisar flavonoides por espectrofotometria e determinar atividade antifúngica in vitro do extrato das folhas de Monotagma plurispicatum e Abarema jupunba, provenientes da Reserva Extrativista do Ciriaco. Após a coleta, as folhas foram previamente secas em estufa de circulação de ar por 2 horas, na temperatura de 40°C e trituradas. Posteriormente, realizou-se a maceração de 1,0 g de folhas com 20,0 mL de metanol e água por 2 horas e 19 minutos, à temperatura ambiente. O extrato foi filtrado e purificado para eliminação dos interferentes. Após esse procedimento, a fração flavonoide (5 ml em metanol) foi diluída para 25 mL com solução metanol/água na proporção 1/1 (solução mãe). Retirou-se duas alíquotas de 3,0 mL, uma delas diluída para 10 mL com metanol (solução de compensação) e a segunda misturada a 2,4 mL de cloreto de alumínio 2% mais 4,6 mL de metanol. A determinação da concentração de flavonoides totais presentes nas folhas foi a partir da curva de calibração com concentrações conhecidas de rutina, de 6,0 a 16 µg ER/ mL, e as absorbâncias da curva de calibração variaram de 0,297 a 0774. O ensaio in vitro foi em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos nas dosagens 0%, 5%, 10% e 15% do extrato vegetal em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e cinco repetições. Um disco de 6 mm de diâmetro com 7 dias de idade em BDA, contendo micélio de Fusarium f. sp. coriandrii, foi transportado para o centro das placas, as quais foram vedadas e mantidas a 26° ± 2°C sob fotoperíodo de 12 horas. A testemunha consistiu de meio de cultura sem adição de extrato. A avaliação foi realizada através de medições diárias do diâmetro das colônias em dois eixos ortogonais, iniciando-se 24 horas após a instalação do ensaio, por 7 dias. Os resultados apontam a média de concentração de flavonoides totais nas folhas da M. plurispicatum de 2,663 µg ER/mL e A. jupunba de 8,012 µg ER/mL. Quanto à atividade antifúngica, para as duas espécies vegetais estudadas, houve diferença significativa da testemunha para o tratamento com 15% do extrato pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância, em que, a partir de 48 horas, após a implantação do experimento, essa concentração reduziu o crescimento micelial do fungo até o último dia. Inferese que o uso de extrato de M. plurispicatum e A. jupunba pode ser um meio sustentável e ecológico para o controle da fusariose em coentro.

Palavras-chave: Potencial fungicida. Vegetal. Fusariose.

#### FLAVONOID SPECTROPHOTOMETRY AND ANTIFUNGAL EVALUATION OF PLANTS FROM THE CIRIACO EXTRACTIVE RESERVE

**ABSTRACT:** Flavonoids are found in plants in the form of pigments, have antioxidant activity and help in the pollination process by attracting insects. A study was carried out with the aim of analyzing flavonoids by spectrophotometry and determining the in vitro antifungal activity of the extract of the leaves of *Monotagma plurispicatum* and *Abarema jupunba*, from the Ciriaco Extractive Reserve. After collection, the leaves were previously dried in an air circulation oven for 2 hours at 40°C and crushed. Subsequently, 1.0 g of leaves were macerated with 20.0 mL of methanol and water for 2 hours and 19 minutes

at room temperature. The extract was filtered and purified to eliminate interfering agents. After this procedure, the flavonoid fraction (5 mL in methanol) was diluted to 25 mL with a methanol/water solution in a 1/1 ratio (stock solution). Two 3.0 mL aliquots were removed, one of which was diluted to 10 mL with methanol (compensation solution) and the second mixed with 2.4 mL of 2% aluminum chloride plus 4.6 mL of methanol. The determination of the concentration of total flavonoids present in the leaves was based on the calibration curve with known concentrations of rutin, from 6.0 to 16 µg ER/mL, and the absorbances of the calibration curve ranged from 0.297 to 0.774. The in vitro assay was in a completely randomized design with four treatments at dosages of 0%, 5%, 10% and 15% of the plant extract in Potato-Dextrose-Agar (PDA) culture medium and five replicates. A 6 mm diameter disk with 7 days of age in PDA, containing mycelium of Fusarium f. sp. coriandrii was transported to the center of the plates, which were sealed and maintained at 26° ± 2°C under a 12-hour photoperiod. The control consisted of culture medium without addition of extract. The evaluation was performed through daily measurements of the diameter of the colonies in two orthogonal axes, starting 24 hours after the installation of the test, for 7 days. The results indicate the average concentration of total flavonoids in the leaves of M. plurispicatum of 2.663 µg ER/mL and A. jupunba of 8.012 µg ER/mL. Regarding the antifungal activity, for the two plant species studied, there was a significant difference between the control and the treatment with 15% of the extract by the Tukey test at the 5% significance level, in which, from 48 hours after the implementation of the experiment, this concentration reduced the mycelial growth of the fungus until the last day. It is inferred that the use of M. plurispicatum and A. jupunba extract can be a sustainable and ecological means for controlling fusariosis in coriander.

**Keywords:** Fungicidal potential. Vegetable. Fusariosis.

#### INTRODUÇÃO

As plantas possuem um teor ativo de flavonoides. Em determinadas espécies vegetais, há uma quantidade ativa na planta, o que ajuda no processo de polinização, pois os flavonoides fazem com que as plantas atraiam insetos a elas (Almeida, 2017; Marcucci et al., 2021). Assim, flavonoides atuam indiretamente no relacionamento harmônico "[...] entre plantas e insetos, atraindo e orientando esses animais até o néctar, contribuindo enormemente para a polinização" (Marcucci et al., 2021, p. 66). Ainda de acordo com Marcucci et al. (2021), os flavonoides absorvem radiação eletromagnética na faixa do ultravioleta (UV) e do visível, de modo que um dos papeis que apresentam é o de defesa das plantas frente à radiação UV da luz solar.

Os flavonoides são encontrados nas plantas, na forma de pigmentos naturais exclusivos para os seres humanos. Também são necessários como alimentos funcionais, por serem moléculas bioativas e cuja propriedade marcante é a sua atividade antioxidante (Sampaio; Martin, 2022). Contudo, o rendimento e a qualidade a nível da composição química dos pigmentos são afetados por fatores sazonais, ambientais e de variação genotípica da espécie (Almeida, 2017).

Os flavonoides representam, ainda, um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. Essa classe de metabólitos secundários é amplamente distribuída no reino vegetal. São encontrados em frutas, vegetais, sementes, cascas de árvores, raízes, talos, flores e em seus produtos de preparação, tais como os chás e vinhos (Coutinho; Muzitano; Costa, 2009). O emprego de extrato bruto ou óleos essenciais, com vistas à atuação desses compostos secundários sobre os fungos fitopatogênicos, com frequência, obtém sucesso (Silva et al., 2012).

O controle das doenças na agricultura tem se intensificado, sendo realizado basicamente através do emprego de produtos

sintéticos (Venturoso *et al.*, 2011). Por isso, a busca de substitutos para esses produtos encontra, nas plantas, uma alternativa de interesse econômico e ecológico bastante promissora (Souza; Araújo; Nascimento, 2007). Nesse contexto, foram utilizadas duas espécies vegetais, *Monotagma plurispicatum* e *Abarema jupunba*, da Reserva Extrativista do Ciriaco, para determinação de flavonoides nas folhas e avaliar a atividade antifúngica do extrato.

#### **METODOLOGIA**

#### Área de estudo

A coleta do material vegetal foi realizada ao Sul do Maranhão, na Reserva Extrativista do Ciriaco, a qual possui uma área de 8.106,63 hectares, com 150 famílias cadastradas. Tal reserva se encontra inserida entre os municípios de Cidelândia e Imperatriz, no Maranhão, e sua fundação se deu com o intuito de preservar "[...] os recursos naturais e costumes das famílias distribuídas nos povoados de Ciriaco, Centro de Olímpio, Alto Bonito, Viração, Rua Nova e Vila Varjão" (ICMBio, 2017, p. 12).

Notadamente, as pessoas que vivem nessas localidades têm as plantas dessa reserva como imprescindível fonte de renda. Trata-se do principal local onde cresce o babaçu, do qual as quebradeiras de coco fazem o azeite, para vender e sustentar a família. Além disso, também há produção de caeiras para a venda de carvão (Sánchez, 2013).

#### Excursões de campo para coleta de dados e espécies vegetais

As espécies foram escolhidas de acordo com a ocorrência e abundância no local de coleta. Vale ressaltar que as espécies vegetais da Reserva Extrativista em questão já foram identificadas em um projeto, desenvolvido pela equipe coordenada pela Prof.ª Dr.ª Ivaneide de Oliveira Nascimento. As partes vegetais foram coletadas seguindo as técnicas de Botânica, armazenadas em sacos de papel e conduzidas ao Laboratório de Microscopia da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL), para a realização da determinação de flavonoides e experimento *in vitro* para avaliação da atividade antifúngica das espécies em estudo.

#### Determinação de flavonoides por meio da espectrofotometria

Após coletadas, as folhas foram previamente secas em estufa de circulação de ar, por duas horas, na temperatura de 40°C e, logo após, trituradas. Posteriormente, a determinação de flavonoides foi empreendida com a utilização da metodologia adaptada da Farmacopeia Francesa por Marques *et al.* (2010), a partir da qual se realizou a maceração de 1,0 g de folhas com 20,0 mL de metanol e água (1:1 v/v), por 2 horas e 19 minutos, à temperatura ambiente.

Em seguida, realizou-se a filtração e a purificação do extrato, para eliminação dos interferentes. Após esse procedimento, a fração flavonoídica (5 ml em metanol) foi diluída para 25 mL com solução metanol/água, na proporção 1/1 (solução mãe). No final, foram retiradas duas alíquotas de 3,0 mL, uma delas diluída para 10 mL com metanol (solução de compensação), e a segunda misturada a 2,4 mL de cloreto de alumínio 2% (m/v) mais 4,6 mL de metanol (solução a ser analisada).

Após a adição de cloreto de alumínio, as soluções de compensação (branco) e as soluções de análise foram deixadas em repouso, por 25 minutos. Em seguida, estas últimas foram analisadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 398 nm, contra a solução de compensação.

# Construção da curva de calibração

A curva de calibração foi construída utilizando-se soluções em cinco concentrações (6,0; 10,0; 12,0; 16,0), a partir da solução padrão de rutina 0,5 mg/mL. O preparo dessas soluções consistiu em completar uma bureta de 25 mL com a solução padrão de rutina 0,5 mg/mL. Alíquotas dessa solução (0,6 mL; 1,0 mL; 1,2 mL; 1,6 mL) foram transferidas para balões de 50 mL.

Após esse procedimento, foi adicionado a cada balão 1,2 mL de ácido acético glacial, 20 mL da solução metanólica de piridina 20% e 5,0 mL do reagente cloreto de alumínio em metanol 50 g/L. O volume dos balões foi completado com água destilada, obtendo-se concentrações finais de 6 a 16  $\mu$ g ER/mL. Após o tempo de 30 minutos em temperatura ambiente e ao abrigo da luz, as leituras das soluções padrão foram realizadas em espectrofotômetro a 420 nm, utilizando-se água destilada como solução-branco.

# Ensaios com os extratos vegetais sobre os fungos fitopatógenos

Os experimentos *in vitro* foram realizados no Laboratório de Microbiologia e Saúde da UEMASUL. Já as folhas dos vegetais foram "[...] colhidas pela manhã (após secar o orvalho) [...]", conforme Jorge ([2009], p. 49), em dias secos e ensolarados, evitando retirada de todas as folhas de um só ramo. Colheu-se as folhas bem desenvolvidas, sem marcas de pragas e deficiências nutricionais.

Após a coleta, foram secas, trituradas, maceradas e imergidas em solução hidroalcóolica (50% de água destilada e esterilizada e 50% de etanol), por 4 dias. Decorrido esse tempo, os extratos foram filtrados e o solvente evaporado em um rotoevaporador, para uso no ensaio *in vitro* em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e cinco repetições.

Os tratamentos foram compostos pelas dosagens 0%, 5%, 10% e 15% do extrato vegetal em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), sendo um experimento para cada espécie vegetal. Discos de 6 mm de diâmetro com sete dias de idade em BDA, contendo micélio de *Fusarium f. sp. coriandrii*, foram transportados para o centro das placas, vedadas com filme plástico e mantidas a  $26^{\circ} \pm 2^{\circ}$ C sob fotoperíodo de 12 horas.

A cultura pura do patógeno, por sua vez, foi obtida a partir de isolados depositados na Micoteca Prof. Gilson Soares da Silva, localizada no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA). A testemunha consistiu de meio de cultura sem adição de extrato. A avaliação foi realizada através de medições diárias do diâmetro das colônias, em dois eixos ortogonais (média das duas medidas diametricamente opostas), iniciando-se 24 horas após a repicagem do fungo, por um período de 7 dias.

A porcentagem de inibição de crescimento (PIC) foi calculada através da média das cinco repetições de cada tratamento, utilizando a seguinte equação (Menten *et al.*, 1976):

# PIC= <u>Crescimento da testemunha</u> – <u>Crescimento tratamento</u> x 100 Crescimento da testemunha

Ao término do teste de inibição do crescimento micelial, foi realizado o teste de produção de conídios de *Fusarium* f. sp. *coriandrii*. Para tal processo, foi preparada uma suspensão de esporos através da adição de 10 mL de água destilada esterilizada em cada placa, fazendo-se, em seguida, a raspagem da colônia com o auxílio de lâmina de microscópio, para liberação dos conídios, e filtragem em gaze, sendo determinado o número de esporos/ml com auxílio de uma câmara de Neubauer ao

microscópio óptico. De acordo com Alfenas e Mafia (2007), a esporulação é expressa em 10<sup>5</sup> esporos.mL<sup>-1</sup>, de forma que:

$$N = n (a)*1,6*10^5$$

### Onde:

N = número de esporos/mL

**N** (a) = número médio de esporos na amostra

Foi calculado o percentual de inibição da esporulação em porcentagem (PIE em %), através da fórmula:

PIE = (esporulação da testemunha – esporulação do tratamento) x 100 esporulação da testemunha

# RESULTADOS E DISCUSSÃO

# Determinação de flavonoides

A determinação da concentração de flavonoides totais presentes nas folhas de *Monotagma plurispicatum* e *Abarema jupunba*, oriundas da Reserva Extrativista do Ciriaco, foi realizada a partir da curva de calibração com concentrações conhecidas de rutina. Os valores das concentrações foram de 6,0 a 16 μg ER/mL, e as absorbâncias da curva de calibração variaram de 0,297 a 0,774 (Tabela 1, Figura 1).

**Tabela 1 -** Concentrações (μg ER/mL) e absorbâncias da curva de calibração

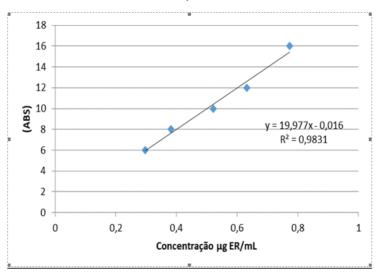
Concentração μg ER/mL	Absorbância 420 nm
6,0	0,297

8,0	0,382
10,0	0,522
12,0	0,632
16,0	0,774

Fonte: Autoria própria (2022).

O coeficiente de determinação resultante da elaboração da curva de calibração foi  $R^2$  = 0,9831. Esse valor indica que a curva pode ser utilizada com segurança para a determinação de flavonoides totais na amostra. Já a equação de correlação foi y = 19,977x - 0,016 (*Figura* 1).

**Figura 1 -** Curva de calibração construída de 6 a 16 μg ER/ mL a 420 nm.



Fonte: Autoria própria (2022).

Os resultados apontam a média de concentração de flavonoides totais nas folhas da *Abarema jupunba* e

Monotagma plurispicatum nos valores de 8,012 e 2,663 μg ER/mL, respectivamente. Em pesquisas nas literaturas, não foram encontrados valores de referência para as duas espécies (*Tabela 2*).

**Tabela 2 -** Valores de absorbância e concentração de flavonoides totais (μg ER/mL) obtidos nas folhas das plantas *Abarema jupunba* e *Monotagma plurispicatum*, oriundas da Reserva Extrativista do Ciriaco.

Abarema jupunba

Amostra	Absorbância (420 nm)	Concentração de flavonoi- des totais (µg ER/mL)
Amostra 1	0,251	4,996
Amostra 2	0,452	9,111
Amostra 3	0,498	5,929
Média	0,400	8,012

# Monotagma plurispicatum

g				
Amostra	Absorbância (420 nm)	Concentração de flavonoi- des totais (μg ER/mL)		
Amostra 1	0,170	3,379		
Amostra 2	0,196	3,889		
Amostra 3	0,187	0,723		
Média	0,184	2,663		

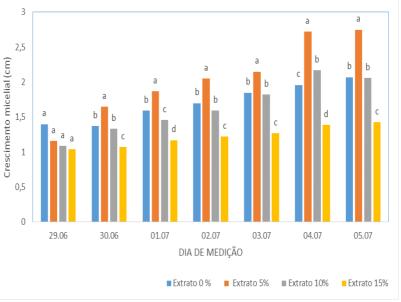
Fonte: Autoria própria (2022).

# Avaliação da atividade antifúngica in vitro dos extratos das plantas Monotagma plurispicatum e Abarema jupunba

A avaliação do crescimento micelial diário (cm) de *Fusarium* f. sp. *coriandrii* em meio de cultura com extrato da planta *Monotagma plurispicatum* em diferentes concentrações,

indica que houve diferença significativa da testemunha para o tratamento com 15% do extrato pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância, em que a partir de 48 horas após a implantação do experimento essa concentração, reduziu o crescimento micelial do fungo em estudo até o último dia do experimento. Já o tratamento com 5% do extrato de *Monotagma plurispicatum* promoveu maior crescimento micelial, se diferenciado da testemunha pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância, a partir do terceiro até o último dia após a implantação do experimento (*Gráfico 1*).

**Gráfico 1 -** Efeito *in vitro* do extrato da planta *Monotagma* plurispicatum em diferentes concentrações no crescimento micelial diário (cm) de Fusarium f. sp. Coriandrii.

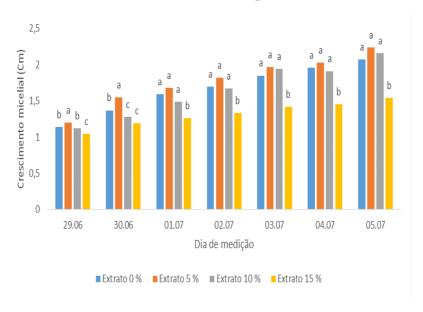


Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0.05), p = 0.0389; p = 0.0000, respectivamente.

Fonte: Autoria própria (2022).

Utilizando-se o extrato da planta *Abarema jupunba* em diferentes concentrações, observou-se que o crescimento diário de *Fusarium* f. sp. *coriandrii*, foi controlado a partir de 24 horas até o último dia de avaliação do experimento no tratamento com 15 % do extrato, o qual se diferenciou significativamente da testemunha pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância. A partir do terceiro dia após a implantação do experimento, os demais tratamentos não se diferenciaram da testemunha pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância (Gráfico 2).

**Gráfico 2 -** Efeito *in vitro* do extrato da planta *Abarema jupunba* em diferentes concentrações no crescimento micelial diário (cm) de *Fusarium* f. sp. *coriandrii* 



Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05), p = 0,0016; p = 0,0001, p = 0,0116, p = 0,0000, p = 0,0000, p = 0,0002, respectivamente.

Fonte: Autoria própria (2022).

No crescimento micelial médio (CM) e porcentagem de inibição de crescimento (PIC), houve efeito significativo pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância dos extratos das folhas das plantas *Monotagma plurispicatum* e *Abarema jupunba* sobre o *Fusarium* f. sp. *coriandrii*. Observa-se que o tratamento com 15% do extrato em meio de cultura reduziu o crescimento micelial do fungo, com porcentagem de inibição de 26,63% com extrato de *Monotagma plurispicatum* e 15,97% com extrato de *Abarema jupunba* (*Tabela 3*).

Em relação à esporulação de conídios, observa-se que os tratamentos com 10% e 15% do extrato de *Abarema jupunba* e *Monotagma plurispicatum* em meio de cultura, mesmo apresentando menor média de esporulação do *Fusarium* f. sp. *coriandrii*, não proporcionou contraste estatístico a nível de 5% de significância pelo teste Tukey em relação à testemunha. Quanto à porcentagem de inibição de esporulação (PIE), somente a concentração de 15% de extrato é que inibiu a esporulação em 46,91% com extrato de *Monotagma plurispicatum* e 35,67% com extrato de *Abarema jupunba* (Tabela 4).

**Tabela 3 -** Efeito *in vitro* dos extratos das plantas *Abarema jupunba* e *Monotagma plurispicatum* em diferentes concentrações na média de crescimento micelial médio (CM) e porcentagem de inibição de crescimento (PIC) de *Fusarium* f. sp. *Coriandrii*.

Crescimento	micalial	mádia	(CM)
Crescimento	milcenai	meuro	(CIVI)

Tratamento	Abarema jupunba	Monotagma plurispicatum	
Extrato 0%	1,69 a	1,69 b	
Extrato 5%	1,82 a	2,07 a	
Extrato 10%	1,71 a	1,66 b	
Extrato 15%	Extrato 15% 1,42 b 1,24 c		
CV (%)	7,96	7,07	
P	0,0011	0,0000	

## Porcentagem de inibição de crescimento (PIC) (%)

Tratamento	Abarema jupunba	Monotagma plurispicatum	
Extrato o%	0	О	
Extrato 5%	NI	NI	
Extrato 10%	NI	1,77	
Extrato 15%	15,97	26,63	

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05). NI = não inibiu.

Fonte: Autoria própria (2022).

**Tabela 4** - Efeito *in vitro* dos extratos das plantas *Abarema jupunba* e *Monotagma plurispicatum* em diferentes concentrações na média de esporulação (E) e porcentagem de inibição de esporulação (PIE) de *Fusarium* f. sp. *Coriandrii*.

# Esporulação (E) Nº de esporos

Tratamento	Abarema jupunba	Monotagma plurispicatum
Extrato o%	3,56 b	3,56 b
Extrato 5%	6,19 a	7,03 a
Extrato 10%	Extrato 10% 3,01 b 3,84 b	
Extrato 15% 2,29 b		1,89 b
CV (%)	33,39	31,59
P	0,0001	0,0001

# Porcentagem de inibição de esporulação (PIE) (%)

Tratamento	Abarema jupunba	Monotagma plurispicatum
Extrato o%	0	0
Extrato 5%	NI	NI
Extrato 10%	NI	NI
Extrato 15%	35,67	46,91

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05). NI = não inibiu.

Fonte: Autoria própria (2022).

Pesquisas utilizando meio natural, que não agridem o meio ambiente, já vêm sendo feitas para tratamento de fitopatógenos. A exemplo, pode-se citar o estudo de Venturoso et al. (2011), que realizaram ensaios de extratos vegetais antifúngicos para tratamento de fitopatógenos e tiveram sucesso em sua pesquisa. O estudo de Carvalho et al. (2000) é outro exemplo. Esses autores realizaram uma investigação para tratamento da fusariose de abacaxi, usando extratos de plantas como alho, gengibre, entre outras, demonstrando a eficácia de se utilizar outras plantas para tratar fitopatógenos.

Outros casos são de Doro et al. (1997) e García et al. (2000), que comprovaram a eficácia de extratos da planta contra bactérias dos tipos Gram-negativas e Gram-positivas, bem como atribuíram essa atividade farmacológica à presença de grande quantidade de compostos fenólicos. Já na pesquisa de Fontes (2012), visando a espécie Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli, estudou-se meios para tratar ou inibir o crescimento desse fungo. Foram utilizados extratos de alecrim, gengibre, arruda e alho. Nesse último estudo, assim como na presente pesquisa, recorreu-se a tratamentos na taxa de 10%, resultando em efetividades satisfatórias, havendo destaque ao alho, que mais teve efetividade contra a fusariose do feijão.

# CONCLUSÃO

A média de concentração de flavonoides totais, nas folhas da *Monotagma plurispicatum* e da *Abarema jupunba*, é de 2,663 e 8,012 µg ER/mL, respectivamente. Os extratos dessas plantas, na concentração de 15%, promoveram maior inibição do crescimento micelial e maior porcentagem de inibição de crescimento do fungo *Fusarium* f. sp. *coriandrii*. Assim, através desta pesquisa, infere-se que o uso de extrato de *Monotagma plurispicatum* e *Abarema jupunba* pode ser um meio sustentável e ecológico para o tratamento da fusariose de coentro.

# REFERÊNCIAS

ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. Isolamento de fungos fitopatogênicos. *In*: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. (ed.). **Métodos em fitopatologia**. Viçosa (MG): Ed. UFV, 2007. p. 53-90.

ALMEIDA, D. F. L. S. **Estudo das vias metabólicas das plantas na síntese de pigmentos naturais**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) — Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2017. Disponível em: http://hdl.handle.net/10284/6104. Acesso em: 14 nov. 2022.

CARVALHO, R.A.; LACERDA, J.T..; OLIVEIRA, E.F.; CHOAIRY, S. A.; BARREIRO NETO, M.; SANTOS, E. S. Controle da fusariose do abacaxizeiro com plantas antibióticas. João Pessoa: EMEPA-PB, 2000. (Documentos, 27).

COUTINHO, M A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides: potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009. DOI: http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20090024.

DORO, D. L.; PESSINI, G. L.; CAMPOS, E. J. V.; NAKAMURA, C. V.; CORTEZ, L. E. R.; CORTEZ, D. A. G. Estudo fitoquímico e avaliação antimicrobiana do *Cissus sicyoides* L. (*vitaceae*). **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 1, n. 1, p. 45-47, 1997. Disponível em: https://revistas.unipar.br/index.php/saude/article/view/874. Acesso em: 14 mar. 2022.

FONTES, A. C. L. Variabilidade genética e avaliação da inibição dos extratos de plantas medicinais sobre isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. 2012. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos) — Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012. Disponível em: https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/1021. Acesso em: 16 fev. 2022.

GARCÍA, M. D.; QUÍLEZ, A. M.; SÁENZ, M. T.; MARTÍNEZ-DOMÍNGUEZ, M. E.; DE LA PUERTA, R. Anti-inflammatory activity of *Agave intermixta* Trel. and *Cissus sicyoides* L., species used in the Caribbean traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 71, n. 3, p. 395-400, ago. 2000. DOI: https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00160-4.

ICMBio [Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade]. Aberto edital para capacitações em Resex do Maranhão, Piauí e Tocantins. **ICMBio em Foco**, Brasília, ed. 421, ano 10, p. 12-13, 26 maio 2017.

JORGE, S. S. A. **Plantas medicinais**: coletânea de saberes. [*S. l.*: *s. n.*], [2009].

MARCUCCI, M. C.; SALATINO, A.; OLIVEIRA, L. F. A. M.; GONÇALVES, C. P. Metodologias acessíveis para a quantificação de flavonoides e fenóis totais em própolis. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 13, n. 1, p. 61-73, 2021. DOI: http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20200131.

MARQUES, M. R.; STÜKER, C.; KICHIK, N.; TARRAGÓ, T.; GIRALT, E.; MOREL, A. F.; DALCOL, I. I. Flavonoids with prolyl oligopeptidase inhibitory activity isolated from *Scutellaria racemosa* Pers. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 81, n. 6, p. 552-556, set. 2010. DOI: https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.01.018.

MENTEN, J. O. M.; MINUSSI, C. C.; CASTRO, C.; KIMATI, H. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 1, n. 2, p. 57-66, 1976.

SAMPAIO, K. C. A.; MARTIN, A. L. A. R. Ação antioxidante dos flavonoides sob uma perspectiva laboratorial. **Interfaces**: Saúde, Humanas e Tecnologia, Juazeiro do Norte, v. 10, n. 2, p. 1301-1306, 2022. DOI: https://doi.org/10.16891/2317-434X. v10.e2.a2022.pp1301-1306.

SÁNCHEZ, L. E. **Avaliação de impacto ambiental**: conceitos e métodos. 2. ed. atual. ampl. São Paulo: Oficina de Textos, 2013.

SILVA, J. L.; TEIXEIRA, R. N. V.; SANTOS, D. I. P.; PESSOA, J. O. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento in vitro de fitopatógenos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 7, n. 1, p. 80-86, jan./mar. 2012. Disponível em: https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/841. Acesso em: 26 jun. 2022.

SOUZA, A. E. F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L. C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 6, p. 465-471, nov./dez. 2007. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-41582007000600003.

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, B. C. A.; BERGAMIN, A. C. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 1, p. 18-23, mar. 2011. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-54052011000100003.

# A formação de professores para educação inclusiva

JOSIANA DE CARVALHO

**PINHEIRO** 

JOADY SOUSA

**FERREIRA** 

VERA LÚCIA NEVES

DIAS



# A FORMAÇÃO DE PROFESSORES PARA EDUCAÇÃO INCLUSIVA

**RESUMO:** É notável a grande importância que tem a formação de professores para a educação especial na perspectiva da educação inclusiva, tendo em vista que a última não é apenas uma modalidade da educação, e sim metodologia a ser seguida e que busca melhorar o atendimento às pessoas com necessidades educacionais especiais, para que elas possam ter um aprendizado significativo dentro de suas limitações e para que o professor esteja preparado adequadamente para desempenhar seu trabalho, de forma que promova uma mudança de mentalidade em relação ao que diz respeito à educação especial, tanto por parte do educador, como da própria sociedade, tornando possível o estabelecer de uma escola inclusiva de qualidade. Este trabalho tem, em súmula, a intenção de avaliar qualitativamente os métodos de formação de professores, visando à necessidade de adaptação conforme as necessidades educacionais dos alunos, que podem ser diversas e múltiplas.

**Palavras-chave:** Educação especial. Formação de professores. Necessidades educacionais especiais. Escola inclusiva.

## TEACHER TRAINING FOR INCLUSIVE EDUCATION

**ABSTRACT:** The great importance of training teachers for special education from the perspective of inclusive education is notable, bearing in mind that it is not just a modality of education, but rather a methodology to be followed and that seeks to improve service to people with special educational needs, so

that they can have significant learning within their limitations and so that the teacher is adequately prepared to carry out their work in a way that promotes a change of mentality in relation to special education, both on the part of the educator and society itself, making it possible to establish an inclusive and quality school. This work has the intention of qualitatively evaluating teacher training methods, aiming at the need for adaptation according to the educational needs of students, which can be diverse and multiple.

**Keywords:** Special education. Teacher training. Special educational needs. Inclusive school.

# INTRODUÇÃO

Nas salas de aula de ensino regular, a inclusão de crianças com necessidades educacionais especiais é uma realidade presente nas escolas municipais do Ensino Fundamental, principalmente nos Anos Iniciais (1° ao 5° ano). Após a Declaração de Salamanca, de 1994, isso se tornou necessário, visto que não se pode cercear as pessoas com necessidades educacionais especiais de terem acesso pleno à educação e à convivência com a sociedade (Unesco; MEC-Espanha, 1994 apud Brasil, 2003).

A questão da inclusão da pessoa com necessidades educacionais especiais passa obrigatoriamente por ações de vários setores públicos, envolvendo historicamente a formação dos professores, a fim de garantir um desenvolvimento educacional. Isso significa que o processo de capacitação dos professores deve efetivar a preparação desse profissional a uma reflexão constante sobre a prática escolar, questionando o processo de ensino-aprendizagem do educando.

Nesse contexto, surgem questões muito importantes, tais como a emergente necessidade de se formar professores para atuarem nas escolas inclusivas, capazes de desenvolver seu trabalho, mesmo em classes heterogêneas, singulares. Também há a problemática de se ter conhecimento sobre as diversas deficiências, síndromes e dificuldades de aprendizagem, e o mais importante: ter consciência de que as crianças com necessidades educacionais especiais precisam conviver e participar da escola dentro das suas possibilidades, visto que é a escola e, consequentemente, o professor que precisam se adaptar a essa nova realidade.

Segundo Perrenoud (1997, p. 146), a formação inicial do docente deve que considerar que profissionalização:

[...] implica [...] autonomia, mas também [...] responsabilidades e riscos assumidos pessoalmente, e portanto uma ética; [...] exige uma capacidade para reconstruir e negociar uma divisão do trabalho flexível com outros profissionais e, consequentemente, para sabe trabalhar em equipa [...]; [...] [e] passa pela actualização constante dos saberes e das competências [...]

Portanto, para criar um ambiente no qual as necessidades dos alunos sejam atendidas, é de suma importância que, a partir das características peculiares dos alunos, inclusive os que apresentam alguma necessidade de adaptação do ensino, o professor possa estar devidamente preparado, para garantir a consecução dos seus objetivos relacionados ao programa de educação, frente sua sala de aula. Outro ponto importante é se as escolas estão se estruturando para o atendimento desses alunos e viabilizando recursos necessários para que elas possam se tornar inclusivas, pois não basta somente receber os discentes, é necessário propiciar um ambiente que proporcione o desenvolvimento das suas potencialidades.

Abordar a formação de professores para essa nova realidade escolar exige, antes de qualquer coisa, desvendar

o significado do termo *inclusão* e seus impactos na escola. A inclusão escolar constitui uma proposta que apresenta valores simbólicos importantes, condizentes com igualdade de direitos humanos e de oportunidades educacionais para todos, em um ambiente educacional favorável e igualitário. Impõe-se como uma perspectiva a ser pesquisada e experimentada na realidade brasileira, reconhecidamente ampla e diversificada.

Entretanto, é necessário diferenciarmos integração e inclusão. Para Sassaki (1999), as diferenças são facilmente percebidas. A integração consiste na modificação da pessoa com deficiência para viver na sociedade, para acolher todas as pessoas, independentemente de sua necessidade, comuns ou especiais, de forma que buscam seu desenvolvimento e exerçam sua cidadania. A preocupação maior é com relação às pessoas com necessidades especiais que fazem parte das chamadas minorias excluídas, como os negros, os povos originários, os pobres e os analfabetos.

Há, então, a premente necessidade de uma educação para todos. Diante do paradigma da inclusão, precisamos pensar na educação das pessoas com necessidades educacionais especiais desde a Educação Infantil até a Superior. Diante da perspectiva inclusiva, o professor tem fundamental importância nesse paradigma educacional. Exigem-se dos professores outros conhecimentos além daqueles que receberam em seus cursos de formação para ministério. A mudança na formação de professores reside em precisar aprender a identificar e atender às necessidades especiais de aprendizagem de todas as crianças com necessidades educacionais especiais.

Dado o exposto, esta pesquisa pretende demonstrar, discutir e analisar a importância da formação dos professores na educação especial, na perspectiva da educação inclusiva, e o papel dos professores na formação do cidadão. Também busca-se analisar a metodologia de alguns professores durante o processo de ensino, bem como avaliar o histórico e os avanços na área da educação para as pessoas com deficiência.

## **METODOLOGIA**

Este estudo baseia-se em uma pesquisa bibliográfica, que consiste na análise de fontes teóricas já publicadas sobre o tema abordado. A pesquisa é de caráter qualitativo e exploratório, pois busca interpretar e sintetizar o conhecimento existente sobre o tema, levando em consideração levantamento bibliográfico e consultas de bases científicas reconhecidas, como Google Acadêmico, Scielo e Periódicos CAPES, priorizando artigos de periódicos revisados por pares, livros e dissertações acadêmicas.

# **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

# A formação de professores e seus conhecimentos profissionais

Entende-se como formação acadêmica de professores os cursos de graduação em licenciatura plena, organizados com a finalidade de munir o futuro docente de conceitos teóricos e práticos sobre o cotidiano escolar, desde a formação e planejamento pedagógico, até a efetiva exposição e mediação do conhecimento em sala de aula, além de dotá-lo dos conhecimentos de sua área específica. Assim, formar professores tem a ver com o desenvolvimento profissional organizado em estruturas curriculares com cargo horária mínima definida de acordo com as diretrizes do Ministério da Educação (MEC).

Podem ser elencadas as possíveis etapas da formação:

- **a)** conhecimento sobre desenvolvimento organizacional, gestão curricular, estrutura escolar;
- **b)** conhecimento sobre desenvolvimento e inovação curricular, orientação do currículo, processos de mudanças, autonomia, centralização;
- **c)** conhecimento sobre ensino, clima relacional, atividades, tarefas e métodos;

**d)** conhecimento sobre o professor e sua formação da carreira docente, condições de ensino, expectativas e cultura profissional.

As inter-relações expostas acima ficam implícitas nas abordagens sobre a formação dos professores para a educação inclusiva. E mais: essas conexões justificam a articulação dos conhecimentos e competências dos professores com a reestruturação da escola com educação de qualidade a todos os alunos

# Escolas inclusivas

A escola não pode divergir do acolhimento de alunos com desvios de comportamento e com deficiência, tampouco tirá-los da classe especial para somente agregá-los à turma. Essa perspectiva implica mudanças de políticas, de modo que o aluno seja inserido na turma regular com os suportes adequados às suas necessidades educacionais, apoio psicopedagógico e atendimento educacional especializado (AEE), enquanto estiver em sala.

Na escola, o processo educativo deve ser entendido como um processo social no qual todas as crianças com distúrbios de aprendizagem têm direito à escolarização o mais próximo possível do processo dos alunos considerados neurotípicos. O alvo a ser alcançado é a integração da criança com deficiência na comunidade. Para tanto, a escola deve estar preparada para lidar com a diversidade, não somente aceitando-a, mas a tornando parte da sua realidade. Portanto, a escola ou entidade mantenedora deve viabilizar a capacitação de seus professores, preparar e adaptar a escola para receber tais alunos.

# Histórico da educação especial no Brasil

No século XIX, alguns brasileiros, inspirados nas experiências dos europeus e norte-americanos, iniciaram a

organização dos serviços para o atendimento de pessoas com deficiência visual, auditiva, mental e física. Durante um século, essas iniciativas, mesmo sendo oficiais ou particulares, ocorreram de forma isolada, o que refletia o interesse de alguns educadores pelo atendimento aos indivíduos com necessidades especiais. A inclusão da educação especial na política educacional, porém, somente veio ocorrer no final do período que vai dos anos 1850 ao início da década de 1960 (Mazzotta, 1999).

Esse atendimento iniciou-se em 1854, quando Dom Pedro II fundou, na cidade do Rio de Janeiro, o Imperial Instituto dos Meninos Cegos. Em 1890, o nome da instituição foi mudado para Benjamin Constant Botelho de Magalhães. Em 1857, D. Pedro funda, também no Rio de Janeiro, o Imperial Instituto dos Surdos-Mudos. Em 1957, após 100 anos da sua fundação, o instituto passou a ser chamado de Instituto Nacional de Educação de Surdos (INES). Em 1874, o Hospital Estadual de Salvador, na Bahia, hoje denominado Hospital Juliano Moreira, iniciou o atendimento a pessoas com deficiências mentais, através de classes especiais com atendimento educacional (Mazzotta, 1999).

Em 1954, foi fundado, no Rio de Janeiro, a primeira Associação de Pais e Amigos de Excepcionais (APAE) e, no mesmo ano, a Sociedade Pestalozzi organizou um primeiro curso intensivo de especialização de professores para o ensino de pessoas com deficiência mental. O Centro Nacional de Educação Especial (CENESP) foi criado em 1973, com o objetivo de expandir e melhorar o atendimento aos excepcionais. Em 1986, o órgão foi transformado na Secretaria de Educação Especial (SESPE).

Em 1990, com a reestruturação do MEC, a SESPE foi extinta, passando as atribuições da educação especial a ser da Secretaria Nacional de Educação Básica (SENEB). Posteriormente, o Decreto nº 99.678, de 8 de novembro de 1990, inclui, como órgão da SENEB, o Departamento de Educação Supletiva e Especial (DESE), passando este órgão a

ter competência específica com relação à educação especial. No final de 1992, com a queda do então presidente Fernando Collor de Melo, houve uma reorganização dos ministérios, e uma nova estrutura reapareceu, a Secretaria de Educação Especial (SEESP).

Em 1996, a nova Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional (LDB), Lei nº 9.394, aponta que a educação de pessoas com necessidades especiais deve ser oferecida preferencialmente na rede regular de ensino (Brasil, 2023 [1996]). Em 1998, o MEC lança um documento contendo as adaptações curriculares que devem ser feitas nos Parâmetros Curriculares Nacionais (PCNs), a fim de pôr em prática as estratégias de educação de alunos com necessidades educacionais especiais. Assim, em 2001, são publicadas as Diretrizes Nacionais para Educação Especial na Educação Básica (Brasil, 2001).

Com a LDB e a Constituição Federal de 1988, as pessoas com deficiências conquistaram muitos direitos, mas se faz necessário ainda conquistar a mudança da mentalidade, compreensão e sua aceitabilidade. Em nossa sociedade, ainda precisamos desfazer o estigma de que a pessoa com deficiência é incapaz, inapta, que não pode estudar e participar ativamente da sociedade. Somente se pode vencer esse estigma quando os segmentos sociais como a escola, por exemplo, mudarem sua estrutura social e aceitarem efetivamente os ditos *diferentes*, sem promover ambientes segregados, propícios ao bullying e ao capacitismo.

# Avanços da educação inclusiva no Brasil

Analisando o período histórico da educação inclusiva no Brasil, nos séculos XVII e XVIII, é possível notar que se evidenciam teorias e práticas sociais de discriminação, promovendo infinitas situações de exclusão. Essa época foi caracterizada pela ignorância e rejeição do indivíduo deficiente: a família, a escola e a sociedade em geral condenavam esse público de uma forma extremamente preconceituosa, de modo a excluí-los do estado social.

Os deficientes mentais eram internados em orfanatos, manicômios, prisões, dentre outros tipos de instituições que os tratavam como doentes anormais: "[...] na antiguidade as pessoas com deficiência mental, física e sensorial eram apresentadas como aleijadas, mal constituídas, débeis, anormais ou deformadas" (Brasil, 2001, p. 25). Conforme esclarece (Jannuzzi, 2004, p. 34):

A partir de 1930, a sociedade civil começa a organizar-se em associações de pessoas preocupadas com o problema da deficiência: a esfera governamental prossegue a desencadear algumas ações visando à peculiaridade desse alunado, criando escolas junto a hospitais e ao ensino regular, outras entidades filantrópicas especializadas continuam sendo fundadas, há surgimento de formas diferenciadas de atendimento em clínicas, institutos psicopedagógicos e outros de reabilitação [...].

Nesse contexto, ao final do século XX, movimentos sociais, políticos e educacionais, estudiosos, associações e conferências propõem aprofundar as discussões, problematizando os aspectos acerca do público com deficiência, resultando em reflexões diante das práticas educacionais.

Do final do século XX até os dias atuais, percebe-se que os avanços sociais, pedagógicos e tecnológicos, por uma sociedade brasileira inclusiva, vêm sendo mais valorizados. Hoje conta-se com salas de recursos, atendimentos especializados, emprego da tecnologia aplicada à educação — como computadores adaptados, sintetizadores de fala, programas e aplicativos, dentre outros diversos modelos tecnológicos — e inclusão social de um público que sofreu arduamente com discriminações e preconceitos, e atualmente busca a garantia dos seus direitos

perante a sociedade, promovendo o desenvolvimento social, sem se esquecer de suas potencialidades e peculiaridades. A esse respeito, Goffredo (1999, p. 31) acrescenta:

Frente a esse novo paradigma educativo, a escola deve ser definida como uma instituição social que tem por obrigação atender todas as crianças, sem exceção. A escola deve ser aberta, pluralista, democrática e de qualidade. Portanto, deve manter as suas portas abertas às pessoas com necessidades educativas especiais.

# Integração e inclusão: paradigmas da educação

Embora ambos, integração e inclusão, constituam formas de inserção da pessoa com necessidades educacionais especiais na escola de ensino regular, a prática da integração vem dos anos 1960 e 1970, tendo sido baseada no modelo médico/clínico da deficiência. Nesse modelo, os educandos com necessidades educacionais especiais precisavam modificar-se (habilitar-se, reabilitar-se, educar-se), para tornar-se aptos a satisfazer os padrões aceitos nos meios sociais, familiar, escolar, profissional, recreativo, ambiental.

Esse movimento caracterizou-se, no início, pela utilização das classes especiais (integração parcial), para que esse aluno fosse preparado para a integração total na classe comum. No processo da integração, o aluno tinha que se adequar à escola, a qual se mantinha inalterada para recebê-lo.

Já a prática da inclusão vem da década de 1980, porém se consolida nos anos 1990, seguindo o modelo social da deficiência. Nesse segundo paradigma, nossa tarefa consiste em modificar a sociedade (escola, empresas, programas, serviços, ambientes, físicos etc.), para torná-la capaz de acolher todas as pessoas que apresentam alguma diversidade. Portanto, estamos falando de uma sociedade de direitos para todos.

Nessa nova concepção da educação inclusiva, tem-se o grande desafio de garantir o acesso aos conteúdos básicos que a escolarização deve proporcionar a todos os indivíduos, principalmente aos indivíduos com necessidades especiais. É, portanto, necessária uma reestruturação da escola para receber esses alunos:

A educação inclusiva depende não somente da capacidade do sistema escolar (diretor, funcionários, professores, pais e outros) em buscar soluções para o desafio da presença de diferentes alunos nas classes, como também do desejo de fazer de tudo para que nem um aluno seja novamente excluído com base em alguma necessidade educacional muito especial (Ross, 2004, p. 215).

Então, observa-se que os paradigmas surgem e promovem mudanças na sociedade, mas essas mudanças não são definitivas e imutáveis. Com a integração, pensou-se que era necessário somente abrir as portas e dar participação social a todos os indivíduos indistintamente, quer no ensino regular, quer no mercado de trabalho, nas atividades de lazer, na cultura, na política, assim como em todos os setores da vida social. Mas, na realidade, integração é uma seleção entre os deficientes, para analisar quais conseguiram ajustar-se aos padrões estabelecidos pelas instituições de ensino regular. Já inclusão, conforme nos aponta a Declaração dos Direitos Humanos, promove a inserção do indivíduo com necessidades especiais na sociedade, através de mudanças de conceitos, valores e estruturas físicas e sociais.

Após conhecer as terminologias mais atuais que compõem o campo da educação especial e do processo de inclusão da pessoa com necessidades especiais em sala de aula regular, tem-se que retornar à história para se conhecer como se desenvolveu o atendimento ao indivíduo que apresenta necessidades diferentes.

# O processo de inclusão: uma nova concepção de educação

A chamada educação inclusiva teve início nos Estados Unidos, através da Lei Pública nº 94.142, de 1975, e atualmente está na segunda década de implementação. No Brasil, essa discussão começou nas décadas de 1950 e 1960, com os princípios da normalização, a qual tinha como intuito fazer a pessoa com deficiência mental se assemelhar às condições normais da sociedade, questionando as tendências segregativas e centralizadas de atendimento a essas pessoas. Assim, a educação especial, no Brasil, passa a ter um caráter assistencialista. Em 1959, é aprovada a Declaração dos Direitos da Criança, que tem assegurado, em seu Capítulo VII, o direito à educação gratuita e obrigatória, pelo menos no nível elementar, sendo esses direitos mantidos nas constituições, em 1969 e 1976.

Em nossa atual constituição, esses direitos não foram somente mantidos, como também entendidos como sendo de responsabilidade do Estado e da família, em seu artigo 205. Temos ainda o Estatuto da Criança e do Adolescente, que, em seus artigos 54 e 66, trata, de forma mais específica, o direito à educação e faz referência às pessoas com necessidades educativas especiais. Há também a LDB, Lei nº 9.394/96, na qual, pela primeira vez, tem-se um capítulo destinado à educação especial (Brasil, 2023 [1996]), e os PCNs.

Percebe-se, então, que a inclusão é um processo que se acentuou na década de 1990 e que está permeando a sociedade do século XXI. A inclusão não é mais uma realidade distante da sociedade brasileira, ela já faz parte das escolas, e não se pode fugir ou adiar esse processo. Segundo Mantoan (1997, p. 145):

<sup>[...]</sup> a meta primordial da inclusão é a de não deixar ninguém no exterior do ensino regular [...]. A inclusão causa uma mudança de perspectiva educacional, pois não se limita a ajudar somente os alunos que apresentam dificuldades na escola, mas apóia a todos: professores, alunos, pessoal administrativo [...].

Mas, para que ocorra a inclusão da criança com necessidades educativas especiais em escolas, faz-se necessária a adequação do sistema escolar. Para atender às necessidades dessas crianças, é preciso que os profissionais estejam preparados para trabalhar com a diversidade e heterogeneidade que as salas de aula apresentam. Nessa perspectiva, sendo a inclusão uma realidade presente em nossa sociedade e principalmente nas de Ensino Fundamental, necessita-se de um trabalho de adequação, conscientização e qualificação dos profissionais da educação, para promovê-la verdadeiramente em não acentuar ainda mais a exclusão social e educacional dessas crianças.

Também se busca não deixar somente a cargo do professor a responsabilidade de promover o processo inclusivo. A orientação inclusiva diz respeito à escola em sua totalidade, sendo um equívoco considerar que cabe apenas ao professor de sala de aula regular toda a responsabilidade na adoção dessa orientação. Assim, a reestruturação da escola, nos aspectos de licença, autonomia, planificação, coordenação e valorização profissional, são fundamentais nesse sentido (Baumel; Castro, 2002).

Ainda nessa perspectiva de reestruturação da escola e mudança de paradigma e conceitos, Edla Trocoli e Sabrina Bonfatti (2018, p. 55) nos falam que:

Um programa inclusivo implica serviços organizados com base numa abordagem de apoio colaborativo que substituam o modelo tradicional baseado na avaliação do aluno, na prescrição, no ensino especializado. Isto implica também que o professor do ensino regular deve acreditar e aceitar que os alunos com necessidades educativas especiais pertencem à educação regular, e deve regular que eles serão capazes de aprender nessa situação.

Observa-se também que essa concepção de educação que promove a inclusão vai além de integrar o aluno à escola. A

proposta de inclusão é, antes de qualquer coisa, uma mudança de comportamento, atitudes e educação. Então, torna-se fundamental:

[...] incorporar nos programas de formação de professores conhecimentos, competências e atitudes que permitam aos professores em formação compreender as complexas situações de ensino. Enfatiza-se especialmente o estimular nos professores atitudes de abertura, reflexão, tolerância, aceitação e protecção das diferenças individuais e grupais [...] (García, 1999, p. 91).

A inclusão é um "[...] processo pelo qual a sociedade se adapta para poder incluir, em seus sistemas sociais gerais, pessoas com necessidades especiais e, simultaneamente, estas se preparam para assumir seus papéis na sociedade" (Sassaki, 1997 *apud* Sassaki, 1999, p. 41). Assim, promover a inclusão significa não mais estigmatizar os indivíduos com necessidades especiais. Incluí-los é propiciar uma potencialidade e um lugar onde se sintam parte do meio e possam participar das atividades como todos os alunos.

Portanto, a inclusão faz com que seja revistas concepções e paradigmas. Consequentemente, rompe-se com estes, para que se possa promover o potencial de cada aluno, respeitando suas diferenças e atendendo às necessidades de cada um, sem colocá-los como incapazes de estarem em sala de aula regular.

# A importância da formação dos professores para atuarem na escola inclusiva

Uma das condições de funcionamento de uma escola é o professor. Diante do paradigma da inclusão escolar, é indispensável que se reveja a formação deste. O docente, no processo de inclusão, tem um papel fundamental, uma vez que tem contato direto com o aluno. Nesse novo contexto, o professor precisa aprender a identificar as necessidades especiais de aprendizagem de todas as crianças, jovens e adultos, sejam eles ou não pessoas com deficiência.

Isso requer, por parte do docente, maior sensibilidade e um pensamento crítico a respeito da sua prática pedagógica. Ele precisa também ter capacidade de conviver com as diferenças e superar, assim, os preconceitos em relação às minorias. Além disso, ainda precisa estar sempre preparado para lidar com as novas situações que surgirão dentro da sua sala de aula.

A partir dos Pareceres 25/69 e 295/69 do Conselho Federal de Educação (CFE), este último que regulamentou o curso de Pedagogia, a formação de professores, para atuarem na educação especial, passou a ser de incumbência do Ensino Superior. Todavia, não foi impedida a contínua formação em serviço ou especialização promovida pelas Secretarias de Educação, por meio de formação continuada, para professores de Nível Médio que já atuam em sala de aula.

Reflete-se aqui que atribuir a formação do professor para a educação especial como habilitação dentro do currículo de um único curso é tratar a formação do docente como um docente especializado com pouca formação. Isso porque o curso de Pedagogia, no Brasil, considerou que a inclusão de uma ou, no máximo, duas disciplinas dariam conta da formação do professor para Anos Iniciais do Ensino Fundamental. Essa regulamentação permitiu também que se formassem professores da educação especial que não passam por qualquer experiência teórico-prática mais consistente como professores do Ensino Fundamental. Essas habilitações, além disso, centraram a formação do professor especializado nas dificuldades específicas desta ou daquela deficiência, o que reafirmou ainda mais a especificidade docente.

A nova LDB, Lei nº 9.394/96, por sua vez, também não define a formação dos professores de Anos Iniciais no

Nível Superior. Em seu artigo 63, ela dá possibilidade de que ela pode funcionar fora das universidades, que se destinam à formação de professores "[...] para a educação básica, inclusive o curso normal superior, destinado à formação de docentes para a educação infantil e para as primeiras séries do ensino fundamental" (Brasil, 2023 [1996], p. 48).

Diante de tantas ambiguidades com relação à formação do professor, que atuará numa escola que está em constante processo de mudança, é necessário que se invista com seriedade na formação inicial e continuada dos profissionais que atuam na educação e, mais especificamente, na formação do magistério para todos os níveis e modalidades educacionais. É urgente que essa formação concorde com a política educacional brasileira vigente, que prevê a inclusão/integração de alunos com necessidades educativas especiais no ensino regular.

É também emergente uma reformulação nas estruturas curriculares das licenciaturas e do curso de Pedagogia, visando à inclusão de disciplinas que preparem o professor para poder atender às necessidades educacionais especiais dos alunos. Ademais, é preciso proporcionar aos professores uma formação reflexiva, para que ele possa, constantemente, avaliar sua prática docente e pedagógica:

A formação de professores na tendência reflexiva se configura como uma *política* de valorização do desenvolvimento pessoal-profissional dos professores e das instituições escolares, uma vez que supõe condições de trabalho propiciadoras da formação como *contínua* dos professores [...] (Pimenta, 1999, p. 31).

Além de se trabalhar com uma formação reflexiva, devese considerar também a formação de professores generalistas, para atuarem na escola regular e terem protagonismo na inclusão de alunos com necessidades educacionais especiais. Esses professores devem ter o mínimo de conhecimento mais aprofundado acerca das diversas deficiências, quer seja para o atendimento direto a essa população, quer de apoio ao trabalho dos professores que trabalham nas salas regulares, os quais vão receber os alunos ditos especiais.

O professor, no contexto de uma educação inclusiva, precisa ser preparado para lidar com as diferenças, com a singularidade e as diversidades de todas as crianças, e não um modelo de pensamento comum a todas elas. Para Fonseca (1995), "[...] é preciso preparar os professores com urgência, para se obter sucesso na inclusão, através de um processo de inserção progressiva. Assim, eles poderão aceitar e relacionarse com seus diferentes alunos e, consequentemente, com suas diferenças e necessidades individuais" (*apud* Giroto; Pinho; Martins, 2016, p. 164).

Quanto aos professores que já estão exercendo o magistério, é fundamental que se proporcione a eles cursos de formação continuada, palestras, seminários e cursos de capacitação, para que tenham conhecimento da prática inclusiva e saibam como lidar com seus alunos, de forma que atendam às suas necessidades. O Plano Nacional de Educação (Lei 10.172/01) prevê a formação continuada para esses professores. Mais recentemente, o CFE, por meio de sua Câmara de Educação Básica, veio reforçar a obrigatoriedade de se formar e capacitar professores para a educação inclusiva, ao apresentar um Projeto de Resolução homologado em 15 de agosto de 2001, pelo MEC, o qual institui as Diretrizes Nacionais para a Educação Especial na Educação Básica (Brasil, 2001).

# O professor e o aluno especial: uma nova perspectiva

O relacionamento aluno-professor é algo que sempre merece destaque em qualquer pesquisa na área da educação, porém, na inclusão, acredita-se ser de fundamental importância, visto que o professor é o principal responsável, porém não o único, pelo processo de inserção do aluno com necessidades educacionais especiais. Sendo assim, o docente precisa estar livre de preconceitos para aceitar o aluno no ensino regular. É muito importante que o professor desenvolva um vínculo com todos os alunos, não somente com o especial. O docente deve cuidar em não superproteger esse aluno, ou subestimá-lo, ou ainda julgá-lo incapaz de acompanhar os demais alunos.

Ao professor, cabe o papel de fazer o acompanhamento efetivo desses alunos e não ignorar sua presença em sala de aula, além de planejar atividades que contemplem também as suas necessidades. E, nesse sentido, o Instituto Nacional de Ensino ([2010], p. 26) nos propõe que:

Uma criança deficiente não é respeitada se for abandonada a sua deficiência. Do mesmo modo que não é respeitada se se negar a realidade da sua deficiência. É respeitada se a sua identidade, a sua originalidade, da qual a deficiência também faz parte, for favorecida e quase provocada, isto é, se ela for levada a desenvolver-se.

Desse modo, o professor, como agente transformador, precisa ser ensinado a gerenciar suas próprias limitações, de forma que elas não o tornem incapaz de viver sua própria humanidade, sem deixar de ser profissional. Significa dizer que, assim, o docente consegue andar lado a lado com uma realidade que não pode ser minimizada, muito menos desconsiderada.

# **CONCLUSÃO**

A formação de professores é mais uma das urgentes implicações da política nacional na área da educação, com

a educação inclusiva decorrente das reformas no sistema educacional e amparada pela LDB, Lei nº 9.394/96. Nesse sentido, os contextos de alunos com necessidades especiais em sala de aula devem ser inseridos na formação docente, sendo imprescindível uma reformulação das estruturas curriculares dos cursos de licenciatura, visto que a inclusão não pode e nem deve se limitar ao Ensino Fundamental de 1º ao 5º anos.

Então, proporcionar uma formação para a diversidade precisa ser um dos parâmetros desses cursos, para que o docente termine a graduação com conhecimento prévio das dificuldades e adaptações para a pessoa com necessidades educacionais especiais. Também é relevante a formação de um professor capaz de prover respostas educativas de qualidade às necessidades educacionais que seus alunos, não apenas os alunos com deficiência, demonstrem, para que possa apresentar nos processos de ensino e aprendizagem, no contexto de uma proposta inclusiva.

Enfim, cabe ressaltar, finalmente, que a educação inclusiva tem apontado que as atitudes dos professores, face aos alunos com necessidades especiais, inseridos em suas salas de aula, dependem de muitos outros fatores. Entre eles, há o ciclo social em que se insere a escola, as concepções e as representações sociais relativas à deficiência. Todos esses aspectos representam, na nossa realidade, razoáveis desafios. Assim, destaca-se que, a priori, a mudança na formação dos professores, embora seja uma condição necessária e essencial, não será suficiente para que a educação inclusiva se concretize.

# REFERÊNCIAS

BAUMEL, R. C. R. C.; CASTRO, A. M. Formação de professores e a escola inclusiva: questões atuais. **Integração**, Brasília, v. 14, n. 24, p. 6-11, 2002.

BRASIL. Diretrizes Nacionais para Educação Especial na Educação Básica. Brasília: SEESP/MEC, 2001.

BRASIL. [Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional – Lei nº 9.394/1996 – Lei nº 4.024/1961]. **LDB**: Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional. 7. ed. Brasília: Senado Federal, Coordenação de Edições Técnicas, 2023.

BRASIL. Ministério da Educação. Secretaria de Educação Especial. **Declaração de Salamanca**: recomendações para a construção de uma escola inclusiva. Brasília: SEESP/MEC, 2003. (Saberes e Práticas da Inclusão, 3).

GARCÍA, C. M. Formação de professores para uma mudança educativa. Porto: Porto Ed., 1999. (Ciências da Educação – Século XXI, 2).

GIROTO, C. R. M.; PINHO, G. G.; MARTINS, S. E. S. O. A disciplina de Libras na pedagogia: em análise a formação do formador. *In*: POKER, R. B.; MARTINS, S. E. S. O.; GIROTO, C. R. M. (org.). **Educação inclusiva**: em foco a formação de professores. São Paulo: Cultura Acadêmica; Marília: Oficina Universitária, 2016. p. 153-171.

GOFFREDO, V. L. F. S. Educação: direito de todos os brasileiros. *In*: BRASIL. **Salto para o futuro**: educação especial – tendências atuais. Brasília: Secretaria de Educação a Distância/ Ministério da Educação, 1999. p. 27-34.

INSTITUTO NACIONAL DE ENSINO. **Fundamentos da educação inclusiva e especial**. Belo Horizonte: INE EAD, [2010]. [Apostila Pós-Graduação *Lato Sensu*].

JANNUZZI, G. M. A educação do deficiente no Brasil:

dos primórdios ao início do século XXI. Campinas: Autores Associados, 2004. (Educação Contemporânea).

MANTOAN, M. T. E. A inclusão escolar de deficientes mentais: contribuições para o debate. *In*: MANTOAN, M. T. E. **Ser ou estar, eis a questão**: explicando o déficit intelectual. Rio de Janeiro: WVA, 1997. p. 137-154.

MAZZOTTA, M. J. S. Educação especial no Brasil: história e políticas públicas. 2. ed. São Paulo: Cortez, 1999.

PERRENOUD, P. **Práticas pedagógicas, profissão docente e formação**: perspectivas sociológicas. 2. ed. Trad. H. Faria; H. Tapada; M. J. Carvalho; M. Nóvoa. Lisboa: Dom Quixote; Instituo de Inovação Educacional, 1997. (Temas de educação, 3).

PIMENTA, S. G. Formação de professores: identidade e saberes da docência. *In*: PIMENTA, S. G. (org.). **Saberes pedagógicos e atividade docente**. São Paulo: Cortez, 1999. p. 15-34.

ROSS, P. Fundamentos legais e filosóficos da inclusão na educação especial. Curitiba: IBPEX, 2004.

SASSAKI, R. K. **Inclusão**: construindo uma sociedade para todos. 3. ed. Rio de Janeiro: WVA, 1999.

TROCOLI, E. BONFATTI, S. **Educação inclusiva**. Brasília: Alumnus, 2018.

### **ORGANIZADORAS**

## **Elizabeth Nunes Fernandes**

É graduada em Química Industrial e mestre em Química Analítica pela Universidade Federal do Maranhão (UFMA), com doutorado em Química Analítica pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Atualmente, é docente efetiva da Universidade Estadual da Região Tocantina do

Maranhão (UEMASUL), vinculada ao Curso de Licenciatura em Química, onde desenvolve atividades nas áreas de ensino, pesquisa, extensão e inovação. Sua atuação concentra-se nos campos da Química Analítica, Química de Alimentos e Educação Ambiental. Destaca-se, ainda, por sua contribuição à estruturação da pesquisa científica institucional, sendo responsável pela criação, em 2005, do Núcleo de Pesquisa Aplicada aos Estudos Químicos, Ambientais, Microbiológicos e Epidemiológicos (NUPQAME). Este foi o primeiro grupo de pesquisa institucionalmente certificado do então Centro de Estudos Superiores de Imperatriz (CESI/UEMA) a integrar o Diretório dos Grupos de Pesquisa no Brasil (DGP/CNPq). Exerceu a lideranca do NUPOAME de 2005 a 2016, como docente da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), e de 2017 a 2021, pela UEMASUL. Sua trajetória é marcada pelo compromisso com a formação científica e pela consolidação de espaços institucionais voltados à produção e difusão do conhecimento. Atualmente é bolsista produtividade sênior da UEMASUL.

## Ivaneide de Oliveira Nascimento

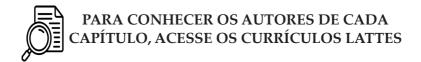
Professora, Pesquisadora, atua há 29 anos na Universidade Estadual do Maranhão, Campus Imperatriz, atualmente Universidade Estadual da RegiãoTocantina do Maranhão, possui graduação em Agronomia pela Universidade Estadual do Maranhão (1995), graduação em Formação de Docentes Habilitação

em Zootecnia e Biologia pelo Instituto Federal do Maranhão (2001), Especialista em Metodologia do Ensino Superior (2000), Mestrado(2009) e Doutorado(2017) em Agroecologia pela Universidade estadual do Maranhão. Foi bolsista Produtividade Senior UEMASUL, Professora colaboradora do PPG em Biodiversidade e Biotecnologia -BIONORTE, Polo UEMASUL, Professora permanente do PPG em Ciências Ambientais da UEMASUL. É membro permanente dos Grupos de Pesquisa: Biodiversidade do Cerrado Amazônico, com área de Conhecimento em Ciências Biológicas; Grupo de Estudos e Pesquisa em Ciências Ambientais e Núcleo de Pesquisa Aplicada aos estudos químicos, ambientais, microbiológicos e epidemiológicos e líder do Grupo de Pesquisa em Fitossanidade. Tem experiência na área de Botânica, Educação Ambiental, Microbiologia, Fitopatologia e Solos, desenvolve pesquisas com ênfase na diversidade e sustentabilidade ambiental.

# Sheila Elke Araújo Nunes

Graduada Farmáciaem Bioquímica. Doutora Tropical e Saúde Medicina especialista Pública. em: Citopatologia Clínica Educação Metodologia da Superior. Atualmente é professora Associada I. em regime de Tempo Integral e Dedicação Exclusiva - TIDE na

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL. Pesquisadora do Laboratório de Microbiologia e Saúde da UEMASUL e integrante do Grupo de pesquisa NUPQAME – Núcleo de pesquisa aplicada aos estudos químicos, ambientais, microbiológicos e epidemiológicos. Desenvolve pesquisas na área Epidemiológica, Avaliação de Tecnologias de Saúde e Avaliação Econômica em Saúde e Saúde Pública. Bolsista Produtividade Sênior UEMASUL (2025-2026). Docente do Programa de Mestrado em Ciências Ambientais da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão - UEMASUL.



### Andréia Cardoso Pereira

Universidade Federal do Pará

http://lattes.cnpq br/7482544126621644

https://orcid.org/0000-0002-6163-7481

andreiaqmc@hotmail.com

### **Elizabeth Nunes Fernandes**

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão

http://lattes.cnpq. br/8745472290896502

https://orcid.org/0000-0001-8279-0509

bethfernandes@uemasul.edu.br

#### **Tuanne dos Reis Dias**

http://lattes.cnpq. br/5060355153025828

https://orcid.org/0000-0003-1962-7703

tuannedias@gmail.com

#### Maria Luiza Ribeiro Aires

Witredux Nutrição Inteligente LTDA http://lattes.cnpq. br/8842160960494968 luzribeirobr@gmail.com

### **Davi Sales Silva**

Agência de Defesa Agropecuária do Tocantins – Adapec

http://lattes.cnpq. br/7193060970134752 davi\_sales\_89@hotmail.com

### Gleison Pereira Costa

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão – IFMA

http://lattes.cnpq. br/9016441250520032

https://orcid.org/0000-0002-0621-4961

gleisoncosta@ifma.edu.br

## Jorge Diniz de Oliveira

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão

http://lattes.cnpq. br/5362473302100013

https://orcid.org/0000-0001-9421-0524

jorgediniz@uemasul.edu.br

### Carla Cristina Lima da Silva

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL

https://lattes.cnpq. br/8833625961413728

https://orcid.org/0009-0002-5904-123X

cristinacarla818@gmail.com

### Ivaneide de Oliveira Nascimento

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL

https://lattes.cnpq. br/5127803057876571

https://orcid.org/0000-0001-7095-7092

ivaneide@uemasul.edu.br

## Márcia Guelma Santos Belfort

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL

http://lattes.cnpq. br/1748392086009047

https://orcid.org/0000-0003-3131-2237

marciguelma@hotmail.com

## Sheila Elke Araujo Nunes

Universidade Estadual da Região

Tocantina do Maranhão – UEMASUL

http://lattes.cnpq. br/2570242039075491

https://orcid.org/0000-0002-2309-7314

sheilanunes@uemasul.edu.br

### Vera Lúcia Neves Dias

Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

http://lattes.cnpq. br/2305829335656074

https://orcid.org/0000-0001-9753-4268

veraquimo1@gmail.com

### Alan Bezerra Ribeiro

Universidade Federal do Maranhão-UFMA/CCIM

http://lattes.cnpq. br/1660039142489971

https://orcid.org/0000-0002-4100-6201

alan.br@ufma.br

## Renata de Araujo Alves

Universidade Federal do Maranhão-UFMA/CCIM

http://lattes.cnpq. br/9782761719384835

https://orcid.org/0000-0002-2483-956X

renaata\_alves@hotmail.com

### Lilia da Silva Ramos

Universidade Federal do Maranhão-UFMA/CCIM

http://lattes.cnpq. br/2195389663171854

lilona.napolitana@hotmail.com

### Paulo Henrique Aragão Catunda

Universidade Estadual do maranhão-UEMA

http://lattes.cnpq. br/7607034973041988

https://orcid.org/0000-0002-8652-0853

 $paulo catunda@professor.uema.\\ br$ 

## Wilson Araújo da Silva

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão-CCENT

http://lattes.cnpq. br/0782182917620322

https://orcid.org/0000-0003-4549-6815

wilson@uemasul.edu.br

### Stephanny Ingrid Nunes Pereira

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão

Link lattes: https://lattes.cnpq.

br/3982904837716911

https://orcid.org/0000-0002-5679-9275

stephanny\_nunes@hotmail.com

### Priscila Lima Brandão

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão

http://lattes.cnpq. br/4886182096599429

https://orcid.org/0000-0001-9575-1541

priscilabrandao.20180002395@ uemasul.edu.br

### Gabriel Guzzard S. Cruz

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão

http://lattes.cnpq. br/2804548421767284

https://orcid.org/0009-0007-1060-4747

gabrielcruz.201704607@ uemasul.edu.br

### Samara Reis Goveia

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão

http://lattes.cnpq. br/2215874304286668

https://orcid.org/0009-0005-1760-0744 samaragoveia.20200008982@ uemasul.edu.br

## Josiana de Carvalho Pinheiro

Programa Darcy Ribeiro/ Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

https://lattes.cnpq. br/6153178658355056

https://orcid.org/0009-0008-1355-5626

josianapinheiro41@hotmail.com

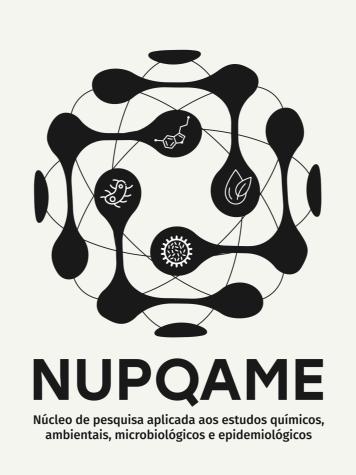
## Joady Sousa Ferreira

Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

http://lattes.cnpq. br/7238823771837237

https://orcid.org/0000-0002-5009-7029

joadyaluno@gmail.com



Esta obra reúne uma seleção de artigos científicos produzidos ao longo de duas décadas de atuação do Núcleo de Pesquisa Aplicada aos Estudos Químicos, Ambientais, Microbiológicos e Epidemiológicos (NUPQAME). Os textos apresentados representam parte significativa da produção acadêmica do grupo, abrangendo diversas áreas de pesquisa e evidenciando sua contribuição para o avanço científico e a formação de novos pesquisadores.

Criado em 2005, no então CESI/UEMA, e reconhecido como o primeiro grupo de pesquisa certificado institucionalmente no diretório do CNPq, o NUPQAME consolidou-se como referência com a criação da UEMASUL, ampliando suas parcerias interinstitucionais e o impacto de seus projetos. Esta coletânea reflete esse percurso, oferecendo ao leitor um panorama da evolução, consistência e relevância do grupo para a ciência no Maranhão e no Brasil.

