

CIÊNCIA e CULTURA

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR DA FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DE BARRETOS

vol 1 nº 1 Novembro de 2006

FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DE BARRETOS
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

CIÊNCIA E CULTURA

Revista Científica Multidisciplinar da
Fundação Educacional de Barretos

Endereço:

Centro de Pós Graduação (CPG/FEB)
Av. Prof. Roberto Frade Monte, 389 – Aeroporto
14783-226 – Barretos – SP – Brasil
revista@feb.br
www.feb.br/revista/revista.htm

Publicação Semestral / Semi-annual publication

Solicita-se permuta / Exchange desired / Si chiede lo cambio / On demande l'échange / Man bittet um Austausch

CIÊNCIA E CULTURA

FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DE BARRETOS

Conselho Diretor

Ronaldo Fenelon Santos Filho - Presidente	Márcia Medeiros Campos Borges - Conselheiro
Paulo Roberto Teixeira Júnior - Vice Presidente	José Monteiro Pereira - Conselheiro
Ezisto Hélio Fernandes Césari - Tesoureiro	Augusto César Arcuri Antoniazzi - Suplente
Marco Antônio Rocha Silva - Secretário	Osvânio de Oliveira Costa - Suplente

Diretoria Acadêmica

Prof^ª. Dra. Patrícia Helena Rodrigues de Souza – Diretora Geral Acadêmica
Prof. Dr. Ângelo Rubens Migliore Júnior – Vice Diretor Geral Acadêmico

Centro de Pós-Graduação

Prof. Dr. Romildo Martins Sampaio – Diretor
Prof. Dr. Sebastião Hetem – Vice Diretor

Ciência e Cultura

Editor: Prof. Dr. Sebastião Hetem (Unesp/Araçatuba e FEB)
Editores Adjuntos: Prof. Dr. João Antonio Galbiatti (Unesp/Jaboticabal)
Prof. Dr. Luiz Antonio Hungria Cecci (Unesp/Franca e FEB)
Prof. Dr. Luiz Manoel Gomes Junior (Unaerp/Ribeirão Preto)
Prof. Dr. Raphael Carlos Comelli Lia (Unesp/Araraquara e FEB)
Prof^ª. Dra. Regina Helena Porto Francisco (USP/São Carlos e FEB)
Prof. Dr. Romildo Martins Sampaio (FEB)

Comissão Editorial

Adriana Galvão Moura (Direito – FEB)	Benedicto Egbert Correa de Toledo (Odontologia – UNESP/Araraquara)
Aginaldo Arroio (Ensino de Química – Educação – USP/São Carlos)	Carlos Eduardo Angeli Furlani (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)
Alberto Cargnelutti Filho (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	Carlos Reisser Junior (Agrometeorologia – EMBRAPA/Clima Temperado)
Alexandre Bryan Heinemann (CIRAD – França)	Carlos Teixeira Puccini (Engenharia Civil – FEB)
Alfredo Argus (Serviço Social – FEB)	Ciro Sérgio Abe (Administração – FEB)
Álvaro Fernandes Gomes (Física – FEB)	Claudia Regina Bonini Domingos (Biologia – UNESP/São José do Rio Preto)
Ana Maria de Souza (Farmácia – USP/Ribeirão Preto)	Cláudio Roberto Pacheco (Engenharia Elétrica - FEB)
André Cordeiro Leal (Direito - PUC MG e Milton Campos/MG)	Clovis Sansigolo (INPE)
André Del Negri (Direito – UNIUBE)	Cristina Cunha Carvalho Terrone (Química – FEB)
Ângelo Rubens Migliore Júnior (Engenharia Civil – FEB)	Daniela Jorge de Moura (Engenharia Agrícola – UNICAMP)
Antonio Baldo Geraldo Martins (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	Danísio Prado Munari (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)
Antonio Carlos Delaiba (Engenharia Elétrica – UFU)	David Chacon Álvares (Eng. Alimentos – Univ. Est. Paraná/Guarapuava)
Antonio Carlos Pizzolitto (Farmácia – UNESP/Araraquara)	David Luciano Rosalen (Engenharia Civil - FEB)
Arlindo José de Souza Júnior (Educação Matemática – UFU)	Deise Maria Fontana Capalbo (Meio Ambiente - EMBRAPA/Jaguarituna)

Deise Pazeto Falcão (Farmácia - UNESP/Araraquara)	José Marques Júnior (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)
Delly Oliveira Filho (Engenharia Agrícola – Universidade Federal de Viçosa)	José Tadeu Jorge (Engenharia Agrícola – UNICAMP)
Deny Munari Trevisani (Odontologia – FEB)	José Walter Canoas (Serviço Social – UNESP/Franca)
Dietrich Schiel (Ensino de Física – USP/São Carlos)	Juliemy Aparecida de Camargo Scuoteguazza (Odontologia – FEB)
Dilson Gabriel dos Santos (Administração – FEA/USP)	Júlio César dos Santos (Engenharia Química – FAENQUIL/Lorena)
Dirceu da Silva (Educação – UNICAMP)	Karina Silva Moreira Macari (Odontologia – FEB)
Durval Dourado Neto (USP)	Késia Oliveira da Silva (Engenharia Agrícola – ESALQ/USP)
Édson Alves Campos (Odontologia – FEB)	Khosrow Ghavami (Engenharia Civil – PUC/RJ)
Eduardo Katchburian (Medicina – UNIFESP)	Kil Jin Park (Engenharia Agrícola – UNICAMP)
Eduardo Teixeira da Silva (Eng. Agrícola – Universidade Federal do Paraná)	Kleiber David Rodrigues (Engenharia Elétrica – UFU)
Élcio Marcantônio Júnior (Odontologia – UNESP/Araraquara)	Lindamar Maria de Souza (Farmácia – FEB)
Eleny Bauducci Roslindo (Odontologia – UNESP/Araraquara)	Lisete Diniz Ribas Casagrande (Educação – FEB/UNAERP)
Elisabete Frollini (Química – USP/São Carlos)	Lizeti Toledo de Oliveira (Odontologia – UNESP/Araraquara)
Elisabeth Pimentel Rosseti (Odontologia – FEB)	Lorival Larini (Farmácia – FEB)
Fernanda Scarmato de Rosa (Farmácia – FEB)	Lúcia Helena Sipauíba Tavares (Engenharia Agrícola – UNESP/Jaboticabal)
Fernando Horta Tavres (Direito – PUC/MG)	Luiz Antonio Hungria Cecci (Serviço Social – FEB)
Flávio Dutra de Rezende (Zootecnia - APTA/AM – Secret. Agricultura de SP)	Luiz Carlos Pardini (Odontologia – USP/Ribeirão Preto)
Francisco José Vela (Engenharia Civil – FEB)	Luiz Macelaro Sampaio (Odontologia – FEB)
Geraldo Nunes Correa (Sistema de Informação – FEB)	Luiz Manoel Gomes Junior (Direito – UNAERP)
Hélio Massaiochi Tanimoto (Odontologia – FEB)	Luiz Paulo Geraldo (Física – FEB)
Gustavo Rezende Siqueira (Zootecnia - APTA/AM – Secret. Agricultura de SP)	Luiz Rodrigues Wambier (Direito - UNAERP)
Heizir Ferreira de Castro (Engenharia Química – FAENQUIL/Lorena)	Luiz Rogério Dinelli (Química – FEB)
Helio Grassi Filho (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	Luiza Maria Pierini Machado (Engenharia de Alimentos – FEB)
Hérica Regina Nunes Salgado (Farmácia – UNESP/Araraquara)	Manoel de Jesus Simões (Medicina – UNIFESP)
Hidetake Imasato (Química – USP/São Carlos)	Manoel Victor Franco Lemos (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)
Holmer Savastano Júnior (Eng. Civil/Agrícola – FZEA/USP Pirassununga)	Marcelo Borges Mansur (Engenharia Química – Univ. Federal de Minas Gerais)
Hugo Barbosa Suffredini (Química – UNIJUÍ)	Marcelo Henkemeier (Engenharia de Alimentos - Univ. de Passo Fundo)
Humberto Tonhati (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	Marcelo Henrique de Faria (Zootecnia - APTA/AM – Secret. Agricultura de SP)
Ignácio Maria dal Fabro (Engenharia Agrícola – UNICAMP)	Márcia Justino Rossini Mutton (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)
Irenilza de Alencar Naas (Engenharia Agrícola – UNICAMP)	Márcia Luzia Rizzatto (Engenharia de Alimentos – FEB)
Isabel Cristina Moraes Freitas (Engenharia de Alimentos – FEB)	Marco Aurélio Neves da Silva (Zootecnia – ESALQ/USP- Piracicaba)
Jackson Rodrigues de Souza (Química – Universidade Federal do Ceará)	Marcos Eduardo de Mattos (Administração – FEB)
Jairo Osvaldo Cazetta (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	Maria Auxiliadora Brigliador Conti (Química – FEB)
Janice Rodrigues Perussi (Química – USP/São Carlos)	Maria Cristina Thomaz (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)
Jean Carlo Alanis (Engenharia de Alimentos – FEB)	Maria José de Almeida (Educação – UNICAMP)
Jeosadaque José de Sene (Química – FEB)	Maria José Soares Mendes Giannini (Farmácia – UNESP/Araraquara)
João Antonio Galbiatti (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	Maria Teresa do Prado Gambardella (Química – USP/São Carlos)
João Domingos Biagi (Engenharia Agrícola – UNICAMP)	Maria Tereza Ribeiro Silva Diamantino (Engenharia de Alimentos – FEB)
João Marino Júnior (Administração – FEB)	Marília Oetterer (Agroindústria – ESALQ/USP – Piracicaba)
Jorge Aberto Vieira Costa (Eng. de Alimentos – Univ. Fed. do Rio Grande/RS)	Marilú Pereira Serafim Parsekian (Engenharia Civil – FEB)
José Carlos Barbosa (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	Mário José Filho (Serviço Social – UNESP/Franca)
José Eduardo Cora (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	Mário Rolim (Engenharia Agrícola – Univ. Federal Rural de Pernambuco)
José Luiz Guimarães (Educação – UNESP/Assis)	Marlei Aparecida Seccani Galacci (Odontologia – FEB)

Mauro dal Secco de Oliveira (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	Sérgio do Nascimento Kronka (Estatística - UNOESTE)
Miguel Carlos Madeira (Odontologia – UNESP/Araçatuba)	Sérgio Henrique Tiveron Juliano (Direito – UNIUBE)
Miriam Eiko Katuki Tanimoto (Odontologia – FEB)	Shirley Aparecida Garcia Barbari (Engenharia de Alimentos – ITAL)
Neyton Fantoni Junior (Direito – FEB)	Silvano Bianco (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)
Nilza Maria Martinelli (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	Sissi Kawai Marcos (Engenharia de Alimentos – FEB)
Odair A. Fernandes (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	Sônia Maria Alves Jorge (Química – UNESP/Botucatu)
Odila Florêncio (Química – UFSCAR)	Sylvio Luís Honório (Engenharia Agrícola – UNICAMP)
Orlando Fatibello Filho (Química – UFSCAR)	Telmo Antonio Dinelli Estevinho (Sociologia/Ciência Política – UFMT)
Oselys Rodrigues Justo (Engenharia de Alimentos - FEA/UNICAMP)	Tetuo Okamoto (Odontologia – UNESP/Araçatuba)
Osvaldo Eduardo Aiello (Física – FEB)	Ueide Fernando Fontana (Odontologia – FEB)
Patrícia Amoroso (Odontologia – FEB)	Victor Haber Perez (Bioengenharia – FAENQUIL – Lorena)
Patrícia Helena Rodrigues de Souza (Odontologia – FEB)	Walter Antonio de Almeida (Odontologia – FEB)
Patrícia Nassar (Química – FEB)	
Paula Homem de Mello (Química – USP/São Carlos)	
Paulo César Hardoim (Engenharia Agrícola – Univ. Federal de Lavras)	
Paulo Estevão Cruvinel (Embrapa – São Carlos)	
Paulo José Freire Teotônio (Direito – FEB)	
Paulo Sérgio Cerri (Odontologia – UNESP/Araraquara)	
Pedro Leite de Santana (Engenharia Química – Univ. Federal de Sergipe)	
Pedro Paulo Scandiazzo (Educação Matemática – UNESP/S. J. do Rio Preto)	
Rael Vidal (Biologia – FEB)	
Ranulfo Monte Alegre (Engenharia de Alimentos – UNICAMP)	
Raphael Carlos Comeli Lia (Odontologia – FEB)	
Regina Célia de Matos Pires (Recursos Hídrico – IAC/Campinas)	
Regina Helena Porto Francisco (Química – FEB)	
Regina Kitagawa (Engenharia de Alimentos – ITAL)	
Reginaldo da Silva (Direito – FEB)	
Renata Camacho Miziara (Odontologia – FEB)	
Renato de Mello Prado (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	
Renato Moreira Ângelo (Física – Univ. Federal do Paraná)	
Ricardo Dias Signoretti (Eng. Agrônômica - APTA/AM – Secret.Agricultura- SP)	
Rinaldo César de Paula (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	
Rober Tufi Hetem (Medicina – UNICAMP)	
Roberta Toledo Campos (Direito – UNIUBE)	
Roberto Braga (Planejamento Urbano – UNESP/Rio Claro)	
Roberto Holland (Odontologia – UNESP/Araçatuba)	
Romildo Martins Sampaio (Engenharia de Alimentos – FEB)	
Rosemiro Pereira Leal (Direito – UFMG e PUC/MG)	
Rouverson Pererira da Silva (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	
Salete Linhares Queiroz (Química – USP/São Carlos)	
Sally Cristina Moutinho Monteiro (Farmácia – FEB)	
Sebastião Hetem (Odontologia – FEB)	
Sérgio de Freitas (Agronomia – UNESP/Jaboticabal)	

Editorial

A publicação de uma nova revista científica é um evento marcante e auspicioso em uma instituição universitária. É gratificante poder alcançar esse objetivo e encontrar excelente repercussão dessa realização na comunidade científica. O esforço dispendido foi recompensado pela disposição em colaborar encontrada em todos os que se envolveram direta ou indiretamente para a concretização do projeto. Este primeiro número de **“Ciência e Cultura: Revista Científica Multidisciplinar da Fundação Educacional de Barretos”** reveste-se de uma simbologia toda especial em função da superação das dificuldades surgidas durante as diversas etapas de sua preparação, proporcionando um êxito definitivo sobre esse ideal buscado há vários anos pela Instituição. A somatória de esforços e o desprendimento dos

envolvidos permitiu atingir esse desiderato. É o desejo ardente de todos os engajados nesse empreendimento a perpetuação dessa publicação, razão pela qual empenharam-se com esmero no estabelecimento de suas normas, na escolha do corpo de revisores e no respeito aos objetivos traçados. Com o intuito que seja uma revista que permanecerá pujante e, justamente por isso, não se restringirá à publicação de artigos locais, e que além de abrangente, seja multidisciplinar, estaremos amplamente abertos a publicações provenientes de outras instituições ou pessoas externas à FEB e sob os mais variados temas.

Gratidão aos que colaboraram até aqui, e reiterada solicitação de oferecimento de sugestões de melhorias e envio de artigos para serem publicados.

Novembro/2006

Sebastião Hetem
Editor Chefe

SUMÁRIO

Artigos Científicos
Original Articles

Metabolismo do Ferro <i>Iron Metabolism</i> Sally Cristina Moutinho MONTEIRO, Haroldo Wilson MOREIRA e Ana Maria de SOUZA	11
Estimativas de Correlações e Análise de Trilha em População de Soja com Aptidão para Cultivo em Áreas de Reforma de Canavial <i>Estimates of Correlations and Path Analysis in Soybean Population for Planting in Sugar Cane Reforming Areas</i> Ivana Marino BÁRBARO ¹ ; Maria Aparecida Pessoa da Cruz CENTURION; Antonio Orlando DI MAURO; Laerte Souza BÁRBARO JÚNIOR; Marcelo TICELLI ¹ ; Fernando Bergantini MIGUEL ¹ ; Sandra Helena UNÊDA-TREVISOLI; Marcelo Marchi COSTA; Daniela Garcia Penha SARTI	19
Desempenho de Linhagens de Soja quanto a Caracteres Agronômicos e Reação de Resistência ao Oídio, Míldio e Doenças de Final de Ciclo <i>Performance of Soybean Lines for Agronomic Traits and Resistance Reaction to Powdery Mildew, Downy Mildew and Late Season Diseases</i> Willian BIGHI ¹ , Maria Aparecida Pessoa da Cruz CENTURION, Ivana Marino BÁRBARO; Antonio Orlando DI MAURO	25
Efeitos da Luz Visível Emitida por um Aparelho Fotopolimerizador sobre a Córnea, a Íris e a Retina de Coelho <i>Effects of the visible light of a resin-curing polymerization device on cornea, iris and retina.</i> Fábio PETROUCIC ¹ , Ueide Fernando FONTANA, Sebastião HETEM, Carla Raquel FONTANA	33
Produção de Ácidos Graxos Poliinsaturados por Via Enzimática: Revisão dos Princípios Tecnológicos do Processo. Parte 1: Aspectos nutracêuticos e características da tecnologia atual de hidrólise <i>Production of Polyunsaturated Fatty Acids by Enzymatic Route: Review of the Technological Aspects. Part 1: Nutraceutical aspects and characteristics of the current hydrolysis technology</i> Larissa FREITAS , Tânia BUENO, Victor H. PÉREZ, Julio C. SANTOS , Heizir F.de CASTRO	43
Produção de Ácidos Graxos Poliinsaturados por via Enzimática: Revisão dos Princípios Tecnológicos do Processo. Parte 2: Importantes aspectos da alternativa biotecnológica <i>Production of Polyunsaturated Fatty Acids by Enzymatic Route: Review of the Technological Aspects Part 2: Important aspects on the biotechnological alternative</i> Larissa FREITAS, Tânia BUENO, Victor H. PÉREZ, Julio C. SANTOS, Heizir F.de CASTRO	50
Linguagem e Verdade no Direito <i>Language And Truth in the Law</i> André DEL NEGRI	61
Composição Bromatológica de Concentrados Contendo Radícula de Malte sob Diferentes Formas Físicas <i>Bromatologic Composition of the Concentrates Containing Malt Rootlets in Differents Physical Forms</i> Mauro Dal Secco de OLIVEIRA, Juliano VITTORI, Maurício VITAL, José Carlos BARBOSA, Atushi SUGOHARA, Diego Azevedo MOTA	67
Utilização do Plasma Rico em Plaquetas em defeitos ósseos: Revisão de Literatura <i>Platelet-rich plasma using in bone defects: literature review</i> Elizabeth Pimentel ROSETTI, Luiz Macellaro SAMPAIO, Elizangela Partata ZUZA, Andressa Daroit de SOUZA, Benedicto Egbert Corrêa de TOLEDO, Patrícia Helena Rodrigues de SOUZA	76

METABOLISMO DO FERRO

IRON METABOLISM

Sally Cristina Moutinho MONTEIRO¹, Haroldo Wilson MOREIRA², Ana Maria de SOUZA³

1 - Prof^a do Curso de Farmácia Bioquímica das Faculdades Unificadas da Fundação Educacional de Barretos e do Centro Universitário de Votuporanga. Av. Professor Roberto Frade Monte, 389. CEP 1473-226. Barretos-SP. Fone: (17) 33216411 - e-mail: sally@feb.br

2 - Prof^o Titular de Hematologia Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP - Araraquara.

Caixa Postal, 502. CEP: 14801-940. Araraquara-São Paulo. Fone: (16) 33016545 - e-mail: hmoreira@fcar.unesp.br

3 - Prof^a Associada do Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP - Fax (16) 36024725 - e-mail: amsouza@fcrp.usp.br

Av. do Café s/nº. CEP 14040-903. Ribeirão Preto-SP.

RESUMO

O ferro é um elemento essencial para o metabolismo da maioria dos organismos vivos devido a sua múltipla função nos processos metabólicos como participação do transporte de oxigênio, da síntese de DNA e do transporte de elétrons. Todavia, quando presente em excesso, pode representar um problema para células e tecidos, por catalisar a formação de radicais livres que são prejudiciais para membranas celulares, proteínas e DNA. Avanços recentes no metabolismo do ferro possibilitaram a elucidação do mecanismo da sua homeostasia. Este mecanismo envolve sua absorção através da mucosa intestinal, seu transporte na corrente circulatória, captação e estoques nas células; os quais são estritamente regulados pela interação entre os elementos responsivos de fer-

ro e as proteínas regulatórias de ferro, que são capazes de modular a expressão dos genes envolvidos no metabolismo deste metal. A caracterização e identificação do DMT 1, da ferroportina, da proteína da hemocromatose HFE, do receptor de transferrina e da hepcidina, demonstraram sua importância para a manutenção da homeostasia deste elemento e proporcionaram parâmetros para verificar as desordens do metabolismo do ferro. Este artigo de revisão discorre sobre os mecanismos moleculares da absorção do ferro, transporte, utilização e seu estoque, além de discutir os parâmetros laboratoriais para avaliação do *status* férrico.

Palavras-Chave: ferro, elementos responsivos ao ferro, transporte de ferro, ferritina, receptor de transferrina.

ABSTRACT

Iron is vital for living organisms because it is essential for multiple metabolic processes to include oxygen transport, DNA synthesis, and electron transport. However, when present in excess, iron can damage cells and tissues by catalyzing the formation of free-radicals that attack cellular membranes, protein and DNA. Recent advances in iron metabolism have assisted in elucidating the molecular mechanisms of iron homeostasis. The mechanisms involved in iron absorption across the intestinal tract, its transport in serum and delivery to cells and iron storage within cells is tightly regulated by the feedback system of iron responsive element containing gene products

and iron regulatory proteins that modulate the expression levels of the genes involved in iron metabolism. The characterization and identification of the iron importer DMT 1, the iron exporter ferroportina, the hemochromatosis protein HFE, the receptor transferrin and hepcidin, have demonstrated their important roles in maintaining body's iron homeostasis and have provided valuable insight into the defects of iron metabolism disorders. This review, we discuss the molecular mechanisms of iron absorption, transport, utilization, storage, and parameters for diagnosing iron status.

Keywords: iron, iron responsive element, iron transporter, ferritin, receptor transferrin.

O ferro é um micronutriente essencial para as funções metabólicas da maioria dos organismos vivos, sendo componente primordial de várias proteínas e enzimas. Representa em torno de 35 a 45 mg/Kg de peso corpóreo em homens adultos e concentrações ligeiramente menores em mulheres em idade fértil, devido à perda menstrual. Sua importância biológica é atribuída à propriedade química de oxidação-redução, existindo no estado ferroso (Fe^{+2}) e férrico (Fe^{+3}). Nos mamíferos, estas reações são realizadas por proteínas contendo ferro, enzimas ferro-enzofre, hemoproteínas e enzimas que contêm ferro (enzimas não heme e não ferro enzofre) (ANDREWS, 1999; CONRAD et al., 1999; LIEU, et al., 2001; TESTA, 2002).

As hemoproteínas estão envolvidas em uma variedade de processos biológicos cruciais como: ligação reversível de oxigênio à hemoglobina e mioglobina, responsáveis pelo transporte e estocagem de oxigênio, respectivamente; transporte de elétrons no processo de fosforilação oxidativa através de citocromos; metabolismo de oxigênio por meio de enzimas oxidasas, peroxidases, catalases e hidrolases (ANDREWS, 1999; LIEU et al., 2001).

O ferro é ainda componente de proteínas ferro-enzofre e oxigenases não-heme envolvidas com reações que envolvem oxigênio molecular e um sistema de enzimas ribonucleotídeo redutase requerido para conversão de ribose à desoxirribose de ácidos nucleicos e, por conseguinte, para a produção de DNA e propagação da informação genética. A deficiência de ferro nas células compromete o crescimento e leva à morte celular (CONRAD et al., 1999; LIEU et al., 2001; TESTA, 2002).

Em pH neutro, o ferro é praticamente insolúvel, sendo transportado e processado por proteínas ligantes, como transferrina e ferritina, ou por compostos de baixo peso molecular como citrato, aminoácidos e adenosina 5'-trifosfato (ATP) (FEELDERS et al., 1999).

Absorção de Ferro

A absorção deste metal ocorre na borda em escova das células epiteliais das vilosidades intestinais (enterócitos), principalmente no duodeno e no jejuno proximal. A regulação e o controle do processo de obtenção de ferro da dieta são majoritariamente realizados pelas células intestinais em associação com os estoques de ferro orgânico, que possuem um papel crucial para a homeostasia desse elemento (EMERIT et al., 2001; LIEU, et al., 2001; SRAI et al., 2002). Os enterócitos são células especializadas na absorção e transporte de ferro intestinal, sendo capazes de modular sua absorção através das membranas apical e basolateral. A membrana apical é especializada em transportar o ferro contido

no grupamento heme e os íons inorgânicos para o interior dos enterócitos e a membrana basolateral transfere o ferro absorvido, através da membrana apical, para a circulação sanguínea (ROY e ENNS, 2000; SRAI et al., 2002).

A maioria do ferro inorgânico adquirido da dieta encontra-se sob a forma férrica, mas também pode existir sob a forma ferrosa. O íon ferroso é solúvel até pH 7,0, portanto sua absorção é mais eficiente do que a do íon férrico que é insolúvel em pH em torno de 3,0. Esse é mobilizado dos alimentos, no estômago (pH ácido), por quelação com mucinas, ascorbato, histidina, entre outros para melhorar a solubilidade e promover sua absorção. O ferro das hemoproteínas é absorvido dos alimentos (carnes) por meio de um mecanismo diferenciado e mais eficiente que o inorgânico. O ferro heme entra nas células da mucosa intestinal como uma metaloporfirina intacta, após sua liberação da globina por enzimas proteolíticas. Essa entrada é facilitada por receptores de grupamento heme e um sistema vesicular de transporte. Na célula, Fe^{+2} é liberado da protoporfirina pela heme-oxigenase microsomal e entra para a circulação do mesmo modo que o inorgânico (CONRAD et al., 1999; EMERIT et al., 2001; LIEU et al., 2001; TESTA, 2002).

As células intestinais possuem formas alternativas para transportar ferro inorgânico, havendo vias distintas para os íons ferroso e férrico, conhecidas como via IMP (integrina / mobilferrina / paraferitina) para o Fe^{+3} e via do DMT-1 (*divalent metal transporter 1*) ou Nramp-2 (*natural resistance-associated macrophage protein*) para o Fe^{+2} , a qual forma um canal transmembrana para a passagem de metais divalentes, como ferro, cobalto, zinco, manganês, cobre, níquel e cádmio, para o interior das células (CONRAD et al., 1999; LIEU et al., 2001; SRAI et al., 2002).

O íon férrico entra na mucosa intestinal via uma b3-integrina em combinação com a proteína mobilferrina. Um grande complexo protéico, chamado paraferitina, é formado e contém b3-integrina, mobilferrina e flavina monooxigenase. A paraferitina comporta-se como uma ferriredutase, reduzindo o ferro ao estado ferroso, em conjunto com a atividade da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato na forma reduzida (NADPH), forma na qual é disponibilizado para a síntese de proteínas contendo ferro (CONRAD et al., 1999; LIEU et al., 2001). Mas esse íon também pode ser reduzido a Fe^{+2} por uma redutase férrica duodenal, a Dcytb (*duodenal cytochrome b*), que é uma heme proteína transmembrânica altamente expressa na borda de escova dos enterócitos e tem sua expressão modulada pelas alterações nos reguladores fisiológicos da absorção do ferro, antes do transporte via DMT-1 (Figura 1) (MCKIE et al., 2001).

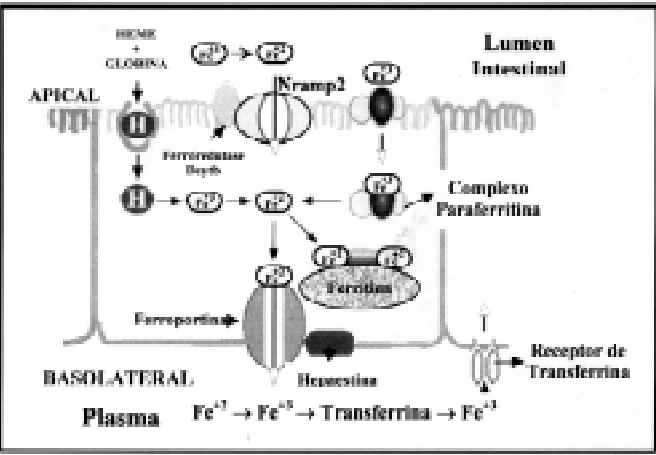


Figura 1: Modelo do mecanismo de absorção e transporte de ferro através das células da mucosa intestinal.
Fonte: Adaptado de LIEU et al. (2001).

No enterócito, o ferro pode ser armazenado como ferritina ou ser transferido através da membrana basolateral para a corrente circulatória. Estas vias não são opções exclusivas, mas são determinadas pela demanda orgânica e capacidade absorptiva dos enterócitos. Em estados de deficiência de ferro ou condições de produção aumentada de eritrócitos, as células da mucosa produzem pouca ferritina e a maioria do ferro que entra na célula fica disponível para o transporte através da membrana basolateral (SRAI et al., 2002; TESTA, 2002; ANDREWS, 2005).

O transportador de Fe^{+2} através da membrana basolateral é denominado ferroportina ou IREG-1 ou MTP1 (*metal transport protein 1*). Trata-se de uma glicoproteína transmembrânica, localizada na membrana basolateral de células polarizadas e expressa no duodeno, placenta (transporte do ferro da mãe para o embrião), células de Kupffer no fígado (reciclagem do ferro), baço, macrófagos e rins. O transportador requer uma proteína acessória ligada à membrana, a hepaestina. Esta é uma proteína, similar a ceruloplasmina, que atua como uma ferroxidase intracelular. Um dos seus mais importantes papéis é facilitar a oxidação do ferro, o que permite sua rápida ligação com a transferrina plasmática e entrega para as células que expressam receptores de transferrina, prevenindo assim danos endoteliais (LIEU et al., 2001; GOSWAMI et al., 2002; TESTA, 2002).

Distribuição e Estoque de Ferro

A distribuição do ferro para os compartimentos corpóreos está vinculada a sua função. O maior compartimento é denominado operacional, que corresponde a 69% do conteúdo corpóreo total sendo constituído principalmente pela hemoglobina, mioglobina e por enzimas heme (citocromos, peroxidases e catalase) e não heme. O segundo maior compartimento é o de estoque, correspondendo a 30% do ferro corpóreo total. Este com-

partimento consiste de ferro sequestrado em formas não tóxicas, como a ferritina e a hemossiderina, está localizado nos hepatócitos e em macrófagos, especialmente os da medula óssea, baço e fígado, e representa a quantidade de ferro absorvida em excesso ao que é necessário para o comportamento operacional (SRAI et al., 2002; TESTA, 2002).

Os compartimentos de estoque e operacional são ligados a um pequeno compartimento de transporte composto de ferro ligado a transferrina, presente no plasma ou ligado a receptores das membranas celulares (SRAI et al., 2002; TESTA, 2002; ANDREWS, 2005).

A ferritina é uma proteína hidrossolúvel que possui alta capacidade de sequestrar e armazenar moléculas de ferro, na forma de hidróxido de fosfato férrico. Consiste de uma cápsula de apoproteína, com peso molecular de aproximadamente 460 KDa, formada por 24 subunidades de dois tipos, a subunidade L (*light*) e a subunidade H (*heavy*). A ferritina pode acomodar até 4.500 átomos de ferro, dobrando sua massa molecular para aproximadamente 900 KDa (HARRISON e AROSIO, 1996). Dependendo do tipo de tecido e das condições fisiológicas da célula, a proporção entre as subunidades H e L podem sofrer variações; porém, a cadeia L predomina em tecidos relacionados com o estoque de ferro, como o hepático e esplênico; enquanto a cadeia H é encontrada em células com elevada necessidade para a síntese de heme, como as do músculo cardíaco e precursores eritróides. Essas subunidades são codificadas por genes diferentes, localizados no cromossomo 11q23 e 19q13.3 para a cadeia H e L, respectivamente, e suas proporções sofrem influência de condições inflamatórias e infecciosas, diferenciação celular, resposta a xenobióticos, entre outros (HARRISON e AROSIO, 1996; TORTI e TORTI, 2002; CARRONDÓ, 2003; YOU e WANG, 2005).

Estudos demonstraram que a subunidade H possui maior facilidade em se ligar e liberar moléculas de ferro, do que a subunidade L, provavelmente por sua capacidade de exercer rápido papel na detoxificação e transporte intracelular das moléculas de ferro (THEIL, 1987). Esta proteína também apresenta propriedades enzimáticas, convertendo Fe^{+2} em Fe^{+3} quando esse é internalizado para o seu centro mineral, o que é inerente a subunidade H, que possui atividade de ferroxidase. A cadeia L é associada à nucleação, mineralização e longo tempo de armazenamento das moléculas de ferro (TORTI e TORTI, 2002; CARRONDÓ, 2003; YOU e WANG, 2005). Admite-se que no homem, haja várias formas de ferritina, denominadas isoferritinas. Essas diferem entre si, por pequenas trocas de aminoácidos na sua cadeia polipeptídica, mas preservam sua função de armazenar

ferro, podendo ser caracterizadas por isoeletrofocalização (IEF) (HARRISON e AROSIO, 1996).

Pequenas quantidades de ferritina circulam no plasma e a determinação da sua concentração relaciona-se com os níveis de depósito de ferro orgânico. Quando essa quantificação encontra-se aquém dos valores considerados normais é indicativo de uma depleção nas reservas desse metal. Concentrações elevadas são encontradas quando há excesso dessas reservas no organismo; também são observadas em condições inflamatórias, pois citocinas estimulam o aumento da síntese de ferritina, especificamente a subunidade H, sugerindo uma relação entre estados inflamatórios e/ou infecciosos na regulação desta proteína (PAIVA et al., 2000; TORTI e TORTI, 2002; YOU e WANG, 2005). Deste modo, estados inflamatórios, infecciosos, neoplásicos, leucêmicos, de doenças hepáticas e de alta ingestão de bebidas alcoólicas, podem levar a uma diminuição do valor diagnóstico da depleção de ferro pela ferritina.

As células com sobrecarga de ferro contém outra forma de estoque, a hemossiderina, que provavelmente é um produto da degradação da ferritina. Parece que, nestas condições, a ferritina é englobada por lipossomas onde proteases promovem a dissolução parcial do núcleo resultando na formação de hemossiderina, uma proteína hidrofóbica (HARRISON e AROSIO, 1996).

A transferrina (Tf) é uma glicoproteína monomérica, produzida pelo fígado, consistindo de uma cadeia polipeptídica de 679 aminoácidos em dois domínios homólogos, os domínios N-terminal e C-terminal, cada um contendo um sítio de ligação ao Fe^{+3} . Apresenta três funções principais: a) solubilizar Fe^{+3} ; b) ligar ferro com alta afinidade evitando que este metal, em estado livre, gere radicais livres e c) suprir ferro para as células, o que envolve sua interação com receptores de membrana, os receptores de transferrina (LIEU et al., 2001; TESTA, 2002). No plasma, a transferrina existe sob três formas: desprovida de ferro (apotransferrina), ligada a uma molécula de ferro (transferrina monoférrica) e ligada a duas moléculas de ferro (transferrina diférrica). A quantidade de cada forma depende da concentração de ferro e de transferrina presente no plasma. Em condições normais, a maioria das moléculas de ferro presente no plasma está ligada a transferrina e a transição entre o estado diférrico ou monoférrico e o de apotransferrina, envolve significativa alteração da conformação da sua cadeia polipeptídica (LIEU et al., 2001; GIANNETTI et al., 2003). Aproximadamente 80% do ferro ligado a transferrina é liberado na medula óssea para ser utilizado na produção de hemoglobina e na manutenção dos

precursores eritróides. O ferro remanescente é armazenado principalmente no fígado, além de ser transportado para músculos e outros tecidos, para a utilização na produção de proteínas e/ou enzimas que contém ferro e utilização como co-fator de reações do metabolismo humano (CONRAD et al., 1999).

A aquisição de ferro através da membrana das células não intestinais ocorre por meio da interação entre a transferrina e o seu receptor específico, o receptor de transferrina (TfR). Com exceção dos eritrócitos maduros, esses receptores são expressos em todas as células, sendo as maiores concentrações encontradas naquelas responsáveis pela síntese de hemoglobina, placenta e células que se dividem rapidamente. O TfR liga-se a duas moléculas de transferrina, resultando em um complexo transferrina - receptor de transferrina (Tf-TfR) e este receptor pode ser detectado nas membranas celulares por citometria de fluxo usando o anticorpo monoclonal CD71 (FEELDERS et al., 1999).

O TfR humano é uma glicoproteína dimérica transmembrânica composta de duas sub-unidades idênticas ligadas por pontes dissulfeto (cisteína 89 e 98). Cada monômero consiste de um domínio N-terminal citoplasmático fosforilado, um segmento hidrofóbico transmembranico e um segmento extracelular, que inclui o domínio C-terminal, onde estão ligadas três cadeias de oligossacarídeos. Cada unidade é capaz de ligar uma molécula de transferrina (FEELDERS et al., 1999).

No pH fisiológico, a afinidade do TfR é mais alta para transferrina diférrica o que assegura que os TfR sejam preferencialmente saturados pela transferrina contendo ferro em quantidades necessárias para o metabolismo celular. O complexo Tf-TfR é internalizado por endocitose mediada por receptor formando pequenas vesículas lisossomais denominadas endossomas. O processo ocorre com a ligação da transferrina aos seus receptores específicos sobre a superfície celular por uma interação físico-química, não requerendo temperatura específica e gasto de energia. O complexo Tf-TfR agrupa-se em áreas específicas da membrana chamadas *pits* revestidos (ou capa de clatrina). Esta região invagina-se e perde o revestimento formando uma vesícula (endossoma). O ferro é liberado da transferrina, no interior dos endossomas, por um processo temperatura e energia dependente, que envolve acidificação endossomal (pH 5,5). Subsequentemente, uma ferriredutase não identificada reduz Fe^{+3} para Fe^{+2} permitindo que um transportador de metal divalente (DMT-1) transfira o ferro, através da membrana endossomal, para o citoplasma da célula. Somente as células eritróides, mostram evidências de possuir um alvo específico para o ferro, que são os sítios de

produção de heme pela ferroquelatase, nas mitocôndrias. A apotransferrina que permanece ligada ao receptor retorna à superfície, sendo liberada e utilizada pelo organismo em ciclos posteriores (Figura 2). A concentração da expressão do TfR difere de célula para célula, na dependência das funções biológicas exercidas pela mesma, podendo elevar sua expressão de 10.000 para 100.000 moléculas por célula (CONRAD et al., 1999; LIEU et al., 2001; NAPIER et al., 2005).

O TfR é encontrado em uma forma solúvel no soro humano, e sua concentração correlaciona-se com o conteúdo dos receptores expressos nas células. Quando o aporte de ferro para as células está diminuído, ocorre um aumento da síntese e conseqüente elevação da expressão de TfR na superfície dessas. Esse evento faz com que haja uma captação maior e mais eficiente de ferro, pelas células, tentando sanar a pouca disponibilidade desse nutriente. As concentrações orgânicas do TfR podem ser mensuradas e recentemente foi proposta como um bom indicador na detecção de deficiência de ferro, mesmo na ausência de anemia (PAIVA et al., 2000; GIANNETTI et al, 2003; CALZOLARI et al., 2004). A expressão desses receptores se encontra elevada em situações como deficiência de ferro, anemia hemolítica autoimune e beta talassemia, e reduzida nas anemias aplásicas. Estudos têm demonstrado boa sensibilidade desses receptores e boa correlação com outros parâmetros do *status*

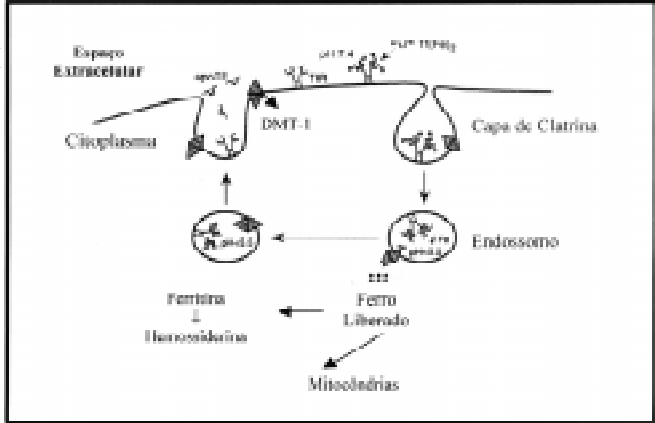


Figura 2: Representação da aquisição de ferro pelas células, através da formação do complexo ferro-transferrina-receptor de transferrina (Fe-Tf-TfR).

Fonte: Adaptado de PONKA, 1997.

A biossíntese de ferritina e a expressão de TfR são reguladas pelos níveis intracelulares de ferro. Esta regulação é mediada pela interação de elementos responsivos ao ferro (IREs) com proteínas do citosol ligantes de RNA chamadas proteínas regulatórias do ferro (IRPs). As IREs são pequenas estruturas de aproximadamente 30 nucleotídeos encontradas em regiões não traduzidas (UTRs) de mRNAs de genes regulados pelo ferro como os da ferritina (5'UTR) e do receptor de transferrina (3'UTR). As IRPs são proteínas ligantes ao RNA que fixam-se aos IREs com alta afinidade

(EISENSTEIN e BLEMINGS, 1998; AISEN et al., 2001). A ligação de IRPs à IREs leva à mudanças na expressão dos genes ferro-regulados com subsequente mudanças na captação, utilização e estoque de ferro intracelular. Quando os níveis de ferro estão altos, as IREs não ligam-se às IRPs e a tradução do mRNA da ferritina ocorre normalmente, induzindo, assim, a síntese da ferritina e o armazenamento de ferro pelo organismo. Em estados de deficiência de ferro ocorre a ligação da IRP ao IRE na 5'UTR mRNA da ferritina e conseqüente inibição da sua tradução. A deficiência resulta ainda na ligação de IRP ao IRE na 3'UTR do mRNA do receptor de transferrina e inibição da degradação do seu mRNA. A meia-vida prolongada desse mRNA leva ao aumento da expressão do TfR na membrana das células, com conseqüente elevação da captação de ferro pelas mesmas. A expansão do pool de ferro inativa IRP. Na ausência de ligação das IRPs aos IREs, um sítio de clivagem endonucleolítico é exposto e clivado, resultando no decréscimo da meia-vida do mRNA (Figura 3) (FEELDERS et al., 1999; PAPANIKOLAOU e PANTOPOULOS, 2005).

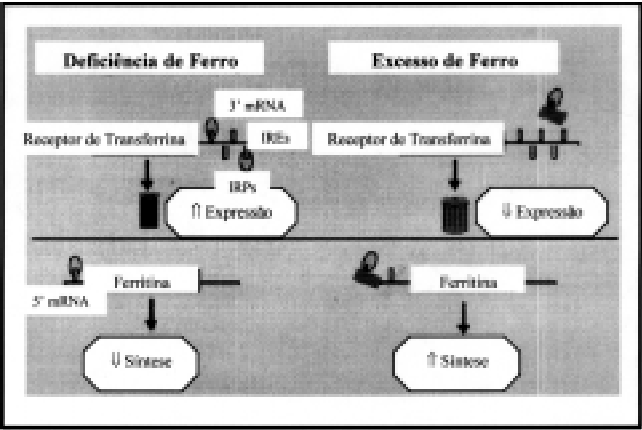


Figura 3: Representação esquemática do mecanismo da regulação do *status* férrico mediada pela interação IRE-IRP.

Fonte: Adaptado de CRICHTON, et al., 2002.

O sistema IRE-IRP também pode controlar a aquisição de ferro através das células intestinais e seu armazenamento, por meio da modulação de proteínas transportadoras deste metal a partir da membrana basolateral dos enterócitos, especialmente o DMT1 e a ferroportina. Estudos sugerem a existência de seqüências, não muito bem caracterizadas, de IRE a 3' (DMT1) ou 5'UTR (ferroportina) do RNAm dessas proteínas, que interagem com as IRPs para a modulação das suas funções, permitindo assim, o aumento ou diminuição da expressão do receptor de transferrina nas células intestinais, na dependência das reservas de ferro. Similarmente, a concentração de ferritina duodenal decai com o aumento da transferência de ferro para o plasma (ROY e ENNS, 2000). Deste modo, as IRPs permitem a conec-

xão entre a disponibilidade férrica intracelular e a necessidade de utilização deste, como ocorre na eritropoese, no metabolismo energético mitocondrial e nas respostas celulares a inflamação e *stress* oxidativo, atuando como verdadeiros sensores da concentração do ferro intracelular (PAPANIKOLAOU e PANTOPOULOS, 2005).

Recentemente foi descrito um pequeno peptídeo, sintetizado no fígado, distribuído pelo plasma e excretado na urina, denominado hepcidina, que parece possuir a propriedade de regular a absorção de ferro através do intestino; mobilizar os estoques de ferro hepático; durante a gravidez, transferir ferro para a placenta; reciclar essas moléculas dos macrófagos e mediar respostas inflamatórias. Este peptídeo atuaria regulando a absorção intestinal de ferro, através do controle da expressão da ferroportina na membrana basolateral dos enterócitos. Baixas concentrações de hepcidina estimulam a absorção de ferro pelas células intestinais bem como a expressão da ferroportina na membrana basolateral dos enterócitos, estimulando o transporte das moléculas de ferro, adquiridas por essas células através da dieta, para a transferrina na corrente circulatória e aumenta a liberação deste metal a partir dos macrófagos do sistema retículo-endotelial. Quando a secreção de hepcidina aumenta, ocorre diminuição da absorção e retenção do ferro, nos enterócitos e macrófagos do sistema retículo-endotelial (GANZ, 2005; PAPANIKOLAOU e PANTOPOULOS, 2005). A retenção de ferro nas células da mucosa intestinal provavelmente ocorre através da interação entre a hepcidina e a ferroportina. Essa interação leva a internalização e posterior degradação da ferroportina pelos enterócitos, com conseqüente diminuição da transferência deste nutriente, para a corrente circulatória. Desta forma, a hepcidina atua como um regulador negativo da absorção de ferro (TESTA, 2002; ANDREWS, 2005; GANZ, 2005). Sua síntese é estimulada pelo excesso de ferro no organismo e durante respostas inflamatórias, sendo inibida em casos de anemia e hipóxia (GANZ, 2005).

Os organismos vivos devem ser capazes de controlar a quantidade interna de ferro e responder adequadamente a sua demanda através do balanço da entrada e dos processos de armazenamento. Falhas neste controle levam à anemia ferropriva ou sobrecarga de ferro. Desta maneira, a excreção diária desse micronutriente, na ausência de sangramento, é proporcional a quantidade de ferro adquirido através da dieta, ou seja, cerca de 1mg ocorrendo principalmente através do trato gastrointestinal por esfoliação de células epiteliais e secreção de bile e por descamação da epiderme e trato urinário. Durante a fase reprodutiva, as mulheres perdem em média, 2mg de ferro/dia devido à menstruação. Além das perdas diárias

controladas, a homeostasia do ferro no organismo é regulada através de sua reutilização, a partir da renovação de proteínas e enzimas que o contém e por meio de mecanismos moleculares de regulação da sua absorção. Vários reguladores dessa homeostasia têm sido propostos, com base no requerimento de ferro pelo organismo (ROY e ENNS, 2000).

A absorção de ferro é um processo fisiologicamente regulado que serve como mecanismo primário para o controle do seu balanço. Os estímulos mais importantes para a absorção são: os estoques de ferro teciduais, a taxa de eritropoese e a hipóxia tecidual. A absorção aumenta em resposta a hipóxia tecidual e à produção acelerada de eritrócitos. Este “regulador eritropoético” parece envolver um sinal ou fator solúvel, ainda desconhecido, liberado da medula óssea, que influencia a absorção intestinal, afetando a programação das células da cripta e aumentando a absorção de ferro em torno de 20 a 40 mg/dia (ROY e ENNS, 2000; GOSWAMI et al., 2002). O mecanismo pelo qual células da cripta duodenal detectam os estoques corpóreos de ferro permanece desconhecido e estudos recentes sugerem que esta função seja, pelo menos em parte, exercida pela hepcidina (TESTA, 2002).

Um dos principais pontos de controle da homeostasia do ferro está contido na camada de células epiteliais do duodeno. A regulação da entrada de ferro ocorre nas interfaces dos enterócitos e é dependente da quantidade de ferro adquirida na dieta. A membrana apical, especializada no transporte de ferro-heme e ferroso para o enterócito, é resistente a aquisição excessiva de ferro quando há um grande acúmulo intracelular (LIEU, et al., 2001). Outro mecanismo regulador da absorção do ferro está na dependência dos níveis de estoque corporal. Sabe-se que a absorção do ferro é indiretamente influenciada pela concentração do índice de saturação da transferrina (IST) e que este mecanismo pode influenciar a quantidade de ferro que deverá ser absorvida, em condições de deficiência. Este mecanismo atua facilitando o acúmulo do ferro não hêmico proveniente da dieta e, como requer uma relação entre o fígado, músculo e intestino, especula-se que exista um componente solúvel que seja responsável pela transmissão de mensagens entre esses órgãos (FEELDERS et al., 1999; LIEU, et al., 2001).

Diagnóstico Laboratorial das Alterações do Status Férrico

O ferro é essencial para uma variedade de funções biológicas, pois participa do transporte de oxigênio, da transferência de elétrons no sistema mitocondrial, da síntese de material genético, da constituição de proteínas heme e não heme, da mielinização do cordão espinhal, da proliferação e diferenciação celular, além de exercer um impor-

tante papel na geração de radicais livres. Conseqüentemente, distúrbios na sua homeostasia podem ocasionar deficiência ou excesso de ferro, ambos com significativas conseqüências clínicas.

A deficiência de ferro é mundialmente comum e, nos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, suas principais causas na infância são: ingestão inadequada e baixa disponibilidade deste micronutriente nos alimentos mais ingeridos. Diminuição no desenvolvimento psicomotor e função cognitiva estão entre os mais importantes problemas associados à deficiência de ferro em crianças, uma vez que estas alterações parecem não ser totalmente corrigidas após sua reposição. Anemia na infância causa retardo no desenvolvimento físico e mental, decréscimo na resistência a infecções e aumento da mortalidade, especialmente em crianças em idade pré-escolar (PAIVA et al., 2000).

Nas últimas décadas, a capacidade de detectar e estimar a magnitude da deficiência de ferro aumentou muito. Novos métodos foram introduzidos, o que fez com que a avaliação laboratorial melhorasse e diminuísse a necessidade de procedimentos invasivos como exame da medula óssea. Como os métodos atuais permitem um diagnóstico exato têm-se fixado grande interesse na detecção dos estados subclínicos desse deficiência.

No assessoramento laboratorial do estado férrico é necessário avaliar seus três principais componentes: estoque, transporte e ferro eritróide que são afetados seqüencialmente com o aumento do déficit do ferro corpóreo. Identificar déficit importante no compartimento funcional é relativamente fácil. As maiores dificuldades são encontradas na detecção da deficiência de ferro sem anemia também referida como eritropoese ferro-deficiente. O teste laboratorial convencional para avaliar o compartimento de estoque de ferro é a determinação da concentração da ferritina sérica (FS), através de métodos imunológicos. O compartimento de transporte é verificado pela determinação dos níveis plasmáticos do ferro sérico (FeS), da capacidade total de ligação de ferro (CTLF) e a saturação da transferrina (IST). Recentemente, os receptores séricos de transferrina (sTfR) foram introduzidos como um meio promissor para diagnosticar deficiência de ferro. Os níveis destes receptores são considerados o indicador mais sensível da depleção do compartimento funcional e são úteis no diagnóstico diferencial de vários tipos de anemias microcíticas. Os sTfR são quantificados usando ensaios imuno-enzimáticos (LIEU et al., 1999; PAIVA et al., 2000)

Para verificar a existência de excesso de ferro corpóreo, os testes laboratoriais comumente utilizados são as determinações da concentração do ferro sérico, do índice de saturação de transferrina e da ferritina sérica.

Concentrações elevadas de ferro sérico (> 20 mM), índice de saturação de transferrina (> 50 a 60%) e ferritina (> 400 mg/L para o sexo masculino e 300 mg/L para o sexo feminino) são indicativos de hemocromatose hereditária, reconhecida como uma desordem genética caracterizada pela absorção excessiva de ferro. Quando os parâmetros do *status* férrico demonstram elevação dos estoques de ferro, estudos genéticos devem ser realizados para a confirmação diagnóstica da hemocromatose hereditária ou outra desordem genética (como deficiência do transporte de ferro), uma vez que o excesso desses micronutriente pode causar sérios danos, principalmente, no parênquima hepático e pancreático, além de possuir elevado índice de morbidade e mortalidade (LIEU, et al., 2001).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AISEN, P; ENNS, C.; WESSLING-RESNICK, M. Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism. **I. J. Bioch. Cell Biol.** v. 33, p.940-959, 2001.

ANDREWS, N.C. Disorders of iron metabolism. **N. Engl. J. Med.**, v. 341, p. 1986-1995, 1999.

ANDREWS, N.C. Molecular control of iron metabolism. **Best Practice Res. Clin. Haemat.**, v. 18, p. 159-169, 2005.

CALZOLARI, A.; DEAGLIO, S.; SPOSI, N.M.; PETRUCCI, E.; MORSILLI, O.; GABBIANELLI, M.; MALAVASI, F.; PESCHLE, C.; TESTA, U. Transferrin receptor 2 protein is not expressed in normal erythroid cells. **Biochem. J.**, v. 381, p. 629-634, 2004.

CARRONDÓ, M.A. Ferritin, iron uptake and storage from the bacterioferritin viewpoint. **The EMBO Journal**, v. 22, p. 1959-1968, 2003.

CONRAD, M.E.; UMBREIT, J.N.; MOORE, E.G. Iron absorption and transport. **Am.J.Med.Sci.**, v. 318, p. 213-229, 1999.

CRICHTON, R.R.; WILMET, S.; LEGSSYER, R.; WARD, R.J. Molecular and cellular mechanisms of iron homeostasis and toxicity in mammalian cells. **J. Inorg. Biochem.**, v. 91, p. 9-18, 2002.

EISENSTEIN, R.S.; BLEMING, K.P. Iron regulatory proteins, iron responsive elements and iron homeostasis. **J. Nutr.**, v. 128, p. 2295-2298, 1998.

EMERIT, J.; BEAUMONT, C.; TRIVIN, F. Iron metabolism, free radicals, and oxidative injury. **Biomed. Pharmacother.**, v. 55. p. 333-339, 2001.

FEELDERS, R.A.; KUIPER-KRAMER, E.P.A.; VAN EIJK, H.G. Structure, function and clinical significance of transferrin receptors. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v. 37, p. 1-10, 1999.

GANZ, T. Hepcidin – a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. **Best Practice Res. Clin. Haematol.**, v. 18, p. 171-182, 2005.

GIANNETTI, A.M.; SNOW, P.M.; ZAK, O.; BJORKMAN, P.J. Mechanism for multiple ligand recognition by the human transferrin receptor. **PLOS Biol.**, v. 1, p.341-350, 2003.

GOSWAMI T, ROLFS A, HEDIGER MA. Iron transport: emerging roles in health and disease. **Biochem. Cell. Biol.**, v. 80, p. 679-689, 2002.

HARRISON, P.M.; AROSIO, P. The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. **Bioch. Bioph. Acta**, v. 1275, p. 161-203, 1996.

LIEU, P.T.; HEISKALA, M.; PETERSON, P.A.; YANG, Y. The roles of iron in health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 22, p. 1-87, 2001.

MCKIE AT, BARROW D, LATUNDE-DADA GO, ROLFS A, SAGER G, MUDALY E. An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. **Science**, v. 291, p. 1755-1759, 2001.

NAPIER, I.; PONKA, P.; RICHARDSON, D.R. Iron trafficking in the mitochondrion: novel pathways revealed by disease. **Blood**, v. 105, p. 1867-1874, 2005.

PAIVA, A.A.; RONDÓ, P.H.C. & GUERRA-SHINOHARA, E.M. Parâmetros para a avaliação nutricional de ferro. **Rev. Saúde Pública**. v. 34, p. 421-426, 2000.

PAPANIKOLAOU, G.; PANTOPOULOS, K. Iron metabolism and toxicity. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v.15, p. 199-211, 2005.

PONKA, P.; BEAUMONT, C.; RICHARDSON, D.R. Function and regulation of transferrin and ferritin. **Sem. Hematol.**, v.35, p. 35-54, 1998.

ROY, C.N.; ENNS, C.A. Iron homeostasis: new tales from the crypt. **Blood**, v. 96, p. 4020-4027, 2000.

SRAI, S.K.S.; BOMFORD, A.; MCARDLE, H.J. Iron transport across cell membranes: molecular understanding of duodenal and placental iron uptake. **Best Practice Res. Clin. Haematol.**, v. 15, p. 243-259, 2002.

TESTA U. Recent developments in the understanding of iron metabolism. **Hematol. J.**, v. 3, p. 63-89, 2002.

THEIL, E.C. Ferritin: Structure, gene regulation, and cellular function in animals, plants, and microorganisms. **Annu. Rev. Biochem.**, v. 56, p.289-315, 1987.

TORTI, F.M.; TORTI, S.V. Regulation of ferritin genes and protein. **Blood**, v. 99, p.3505-3516, 2002.

YOU, S.A.; WANG, Q. Ferritin in atherosclerosis. **Clin. Chim. Acta**, v. 357, p. 1-16, 2005.

ESTIMATIVAS DE CORRELAÇÕES E ANÁLISE DE TRILHA EM POPULAÇÃO DE SOJA COM APTIDÃO PARA CULTIVO EM ÁREAS DE REFORMA DE CANAVIAL

ESTIMATES OF CORRELATIONS AND PATH ANALYSIS IN SOYBEAN POPULATION FOR PLANTING IN SUGAR CANE REFORMING AREAS*

Ivana Marino BÁRBARO^{1,2}; Maria Aparecida Pessôa da Cruz CENTURION²; Antonio Orlando DI MAURO²; Laerte Souza BÁRBARO JÚNIOR³; Marcelo TICELLI¹; Fernando Bergantini MIGUEL¹; Sandra Helena UNÊDA-TREVISOLI⁴; Marcelo Marchi COSTA²; Daniela Garcia Penha SARTI²

*Parte da tese de doutorado desenvolvida pelo primeiro autor na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP, Campus de Jaboticabal, SP. 2006.

¹Apta Regional Alta Mogiana. Av. Rui Barbosa, s/nº 14770-000. Colina, SP. E-mail: imarino@aptaregional.sp.gov.br; Autor responsável.

²Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP. Departamento de Produção Vegetal. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14884-900, Jaboticabal, SP.

³Faculdade Dr. Francisco Maeda, FAFRAM. Rodovia Jerônimo Nunes Macedo Km 1, 14500-000. Ituverava, SP.

⁴Apta Regional Centro Leste. Rod. SP 333, Km 321 - Anel Viário - Cx. Postal 271 14.001-970. Ribeirão Preto, SP.

RESUMO

A análise de trilha é uma estratégia disponível ao melhorista para entender as causas envolvidas nas associações entre caracteres através da decomposição da correlação existente em efeitos diretos e indiretos pela utilização de uma variável principal e das variáveis explicativas. Este trabalho pretende quantificar essas relações e possíveis critérios de seleção indireta quanto ao caráter produtividade de grãos através da avaliação de uma população F_6 de soja derivada do cruzamento entre FT-Cometa e IAC-8 com aptidão para cultivo em áreas de reforma de canavial, sendo que a mesma foi distribuída no campo no esquema de famílias intercaladas com cultivares-padrão, no ano agrícola 2004/05 em Jaboticabal, SP. As observações avaliadas foram as seguintes:

produtividade de grãos, número de vagens por planta, número de sementes por vagem, peso de uma semente, número de dias para o florescimento, número de dias para a maturação, altura de planta na maturação, altura de inserção da primeira vagem, número de nós e número de ramificações. O peso de uma semente e número de vagens por planta, como componentes primários da produção e número de ramificações e número de nós, como componentes secundários, figuram como os mais importantes no processo de seleção indireta para aumento da produtividade de grãos na população derivada do cruzamento entre FT-Cometa e IAC-8.

Palavras-Chave: *Glycine max*.L., associação, caracteres, genótipos, seleção indireta.

ABSTRACT

The “path analysis” is an available strategy to the breeders to understand the involved causes in the associations between traits through the decomposition of the existing correlation in direct and indirect effects for the use of a main variable and of the clarifying variable. This work intends to quantify these relations and possible criteria of indirect selection how much to the character productivity of grains through the evaluation of the F_6 population of soybean derived from the crossing between FT-Cometa and IAC-8 for planting in sugar cane reforming areas, being that the same one was distributed in the field in the project of families intercalated with checks, in agricultural year 2004/05 in Jaboticabal, SP. Where they were appraised the following traits: productivity of grains,

number of pods for plant, number of seeds for pod, weight of a seed, number of days at flowering, number of days to maturation, height of plant in the maturation, height of insertion of the first pod, number of nodes and number of ramifications. The weight of a seed and number of pods for plant, as a primary component of the production and number of ramifications and number of nodes, as secondary components, appear as the most important variables in the process of indirect selection for increase of the productivity of grains in the population derived from the crossing between FT-Comet and IAC-8.

Keywords: *Glycine max*. L., association, traits, genotypes, indirect selection.

INTRODUÇÃO

Em programas de melhoramento, a obtenção de genótipos mais produtivos, constitui-se num dos objetivos básicos, contudo a produtividade é um caráter complexo, de herança quantitativa, ou seja, governado por muitos genes e resultante da expressão e associação de diferentes componentes.

Assim, conhecimento da magnitude de associação entre caracteres é primordial, pois permite ao melhorista saber como a seleção de uma característica pode causar alterações em outras (JOHNSON et al. 1955, VENCOVSKY E BARRIGA, 1992). Também é possível estabelecer o melhoramento indireto de um caráter, que apresente herança complexa e baixa herdabilidade através da seleção de um outro caráter, com herança mais simples ou de maior herdabilidade. Todavia, a quantificação e a interpretação da magnitude de uma correlação, pode resultar em equívocos na estratégia de seleção, pois correlação alta em dois caracteres pode ser resultado do efeito, sobre estes, de um terceiro ou de um grupo de caracteres (CRUZ E REGAZZI, 1994). Com o intuito de entender melhor as causas envolvidas na associação entre caracteres, Wright (1921), propôs um método denominado de análise de trilha (“path analysis”) que desdobra as correlações estimadas em efeitos diretos e indiretos de caracteres sobre uma variável básica.

A compreensão do sistema causa-efeito entre as variáveis reside justamente no sucesso da análise de trilha (SCHUSTER, 1996), sendo o desdobramento das correlações dependente do conjunto de caracteres estudados, que normalmente são estabelecidos pelo conhecimento prévio do melhorista, através de sua importância e de possíveis inter-relações expressas em “diagramas de trilha” (CRUZ E REGAZZI, 1994).

Os objetivos do presente trabalho foram: avaliar as correlações simples ou fenotípicas entre produtividade de grãos e caracteres importantes em melhoramento da soja; estimar os efeitos diretos e indiretos de caracteres agrônômicos sobre a produtividade de grãos em soja, pela análise de trilha.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no ano agrícola 2004/05 em área experimental do Departamento de Produção Vegetal da FCAV-UNESP, campus de Jaboticabal/SP, sendo analisados os dados obtidos em uma população de soja na geração F_6 de endogamia, proveniente do cruzamento entre FT-Cometa e IAC-8, conduzida pelo método genealógico modificado e composta por 89 famílias.

A distribuição da população no campo seguiu o esquema de famílias intercaladas com testemunhas, sendo

que cada parcela foi constituída por uma fileira, com cinco metros de comprimento representada por uma família (progênie de uma planta selecionada na geração anterior), com espaçamento entrelinhas de 0,5 m e com densidade média na faixa de 15 a 20 plantas por metro. Foram utilizados dois cultivares-padrão a saber: COODETEC-205 e MSOY-7501, os quais foram intercalados a cada 10 linhas experimentais, com a mesma parcela experimental citada.

O solo foi preparado de maneira convencional, com uma aração e duas gradagens. Antes da última gradagem efetuou-se a aplicação de trifluralin e imazaquin, nas dosagens recomendadas, visando o controle de plantas daninhas de folhas estreitas e largas infestantes da área. Posteriormente, a área foi sulcada e adubada.

A adubação da área foi feita com base na interpretação dos resultados da análise química do solo, distribuindo-se no sulco de semeadura a quantidade de 400 kg ha^{-1} da fórmula 00-20-20.

As sementes foram tratadas com carboxim + thiram (Vitavax + Thiram 200 SC –nomes comerciais) e inoculadas com inoculante turfoso, de acordo com as recomendações da Embrapa (2005), sendo que a semeadura foi realizada manualmente.

Foi realizado após a semeadura, o desbaste, com o objetivo de ajustar a população inicial, e paralelamente complementou-se o controle das plantas daninhas através de capinas manuais, deixando-se a cultura livre da competição com essas plantas por todo ciclo.

Foram realizados também os controles para as lagartas e percevejos da soja, quando essas pragas atingiram o nível de dano econômico, seguindo-se as recomendações da Embrapa (2005). Para o controle foram utilizados endossulfam e monocrotophos, nas dosagens recomendadas.

O ensaio foi conduzido até as plantas atingirem o estágio de desenvolvimento R8 (FEHR E CAVINESS, 1977), onde efetuaram-se a colheita manualmente.

Para cada família semeada selecionaram-se quatro plantas fenotipicamente superiores para a avaliação dos seguintes caracteres agrônômicos considerados primários da produção (PG): número de vagens por planta (NV), número de sementes por vagem (NS) e peso de uma semente em g/semente (P1S) e como caracteres secundários: número de dias para o florescimento (NDF), número de dias para a maturação (NDM), altura de planta na maturação (APM), altura de inserção da primeira vagem (AIV), número de nós (NN) e número de ramificações (NR).

A correlação entre caracteres que pode ser diretamente medida em um ensaio é a fenotípica, que

apresenta causas genéticas e ambientais. Neste trabalho, foram consideradas somente as estimativas de correlações simples ou fenotípicas para a tomada de decisão quanto á eficiência da seleção indireta.

Não foram adicionados níveis de significância estatística às estimativas de correlações fenotípicas, pois existe uma tendência dos melhoristas de plantas valorizarem mais o sinal (positivo ou negativo) e a magnitude dos valores encontrados na interpretação das mesmas. Desta forma, um critério utilizado consiste na valorização das estimativas de abaixo -0,5 e acima de 0,5 (LOPES et al., 2002).

As estimativas de correlações simples ou fenotípicas entre famílias, foram obtidas conforme sugerem Vencovsky e Barriga (1992), além dos desdobramentos dessas correlações em efeitos diretos e indiretos dos caracteres de importância agrônômica para a soja (variáveis independentes do modelo de regressão) sobre a produtividade de grãos (variável básica ou dependente) sendo realizados por meio da análise de trilha desenvolvida por Wright (1921).

O diagrama causal em cadeia mostrando o inter-relacionamento das variáveis analisadas são apresentados na Figura 1.

O modelo matemático da produção é expresso por: $PG = NS \times NV \times P1S$, ou seja, é multiplicativo. Com a logaritmização esse modelo passa a ser aditivo, pois uma das premissas da análise de trilha é a aditividade (SANTOS et al., 1995). Após o estabelecimento das equações básicas da análise de trilha, a resolução na forma matricial foi obtida pelo sistema de equações normais, $X'X\hat{\beta} = X'Y$ em que: $X'X$ = matriz não singular das correlações entre as variáveis explicativas; $\hat{\beta}$ = vetor coluna de coeficientes de trilha (p_{xy}); e $X'Y$ = vetor coluna das correlações entre as variáveis explicativas.

A solução de quadrados mínimos desse sistema é dado por $\hat{\beta} = (X'X)^{-1} X'Y$.

O coeficiente de determinação para a análise dos caracteres sobre a produtividade de grãos (variável básica) é dado por $R^2 = p_1r_{1y} + p_2r_{2y} + \dots + p_nr_{ny}$, em que r_{iy} = correlação entre a variável principal (y) e a i-ésima variável explicativa; p_i = medida do efeito direto da variável i sobre a variável principal e p_jr_{ij} = medida do efeito indireto da variável i, via variável j, sobre a variável principal. Por sua vez, o efeito residual é expresso por $p_E = \sqrt{1 - R^2}$.

As análises foram realizadas com auxílio do programa computacional GENES (CRUZ, 2001). As estimativas de correlações simples ou fenotípicas foram estima-

das segundo Vencovsky e Barriga (1992) e posteriormente particionadas em efeitos diretos e indiretos pela análise de trilha (CRUZ E CARNEIRO, 2003).

Tabela 1. Estimativas dos efeitos diretos e indiretos dos caracteres primários (NS, NV e P1S) sobre PG, por meio da análise de trilha, em uma população F₆ de soja, Jaboticabal, SP. Ano agrícola 2004/05.

Caracteres	Efeitos
Efeito direto de NV sobre PG	0,378
Efeito indireto via P1S	0,470
Efeito indireto via NS	-0,018
TOTAL	0,830
Efeito direto de P1S sobre PG	0,690
Efeito indireto via NV	0,258
Efeito indireto via NS	-0,021
TOTAL	0,927
Efeito direto de NS sobre PG	0,190
Efeito indireto via NV	-0,036
Efeito indireto via P1S	-0,075
TOTAL	0,078
R ²	0,968
p _E	0,179

NV= número de vagens por planta; P1S= peso de uma semente; NS= número de sementes por vagem e PG= produtividade de grãos.

As situações mais favoráveis ao melhoramento são observadas para os caracteres P1S e NV respectivamente, que mostraram valores mais elevados e positivos na correlação fenotípica e no efeito direto, em detrimento do caráter NS, concordando em parte com os resultados obtidos por Santos et al. (1995) e Reis et al. (2001), que verificaram que o caráter NV apresentou maior efeito direto além de elevado coeficiente de correlação. O valor muito baixo encontrado para a estimativa de correlação entre NS e PG é ocasionado pelo efeito indireto, principalmente do caráter P1S.

O coeficiente de determinação obtido foi de 0,968 e o efeito residual de 0,179. Deste modo, o modelo explicativo adotado foi adequado para a compreensão da relação causa-efeito nas variáveis primárias.

As estimativas dos efeitos diretos e indiretos das variáveis secundárias sobre as primárias, são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Estimativas dos efeitos diretos e indiretos dos caracteres secundários sobre os primários, por meio da análise de trilha, em uma população F₆ de soja.

Descrição dos efeitos	Componentes primários		
	NV	P1S	NS
Efeito direto de NDF	0,213	-0,075	0,158
Efeito indireto via NDM	-0,029	-0,029	-0,039
Efeito indireto via APM	-0,016	0,025	-0,056
Efeito indireto via AIV	-0,050	-0,055	0,005
Efeito indireto via NN	0,177	0,234	0,006
Efeito indireto via NR	-0,080	-0,047	0,026
TOTAL	0,216	0,051	0,100
Efeito direto de NDM	-0,081	-0,082	-0,112
Efeito indireto via NDF	0,075	-0,027	0,056
Efeito indireto via APM	-0,025	0,039	-0,088
Efeito indireto via AIV	-0,081	-0,089	0,008
Efeito indireto via NN	0,261	0,344	0,009
Efeito indireto via NR	-0,190	-0,112	0,062
TOTAL	-0,042	0,072	-0,064
Efeito direto de APM	-0,044	0,066	-0,151
Efeito indireto via NDF	0,079	-0,028	0,058
Efeito indireto via NDM	-0,047	-0,048	-0,065
Efeito indireto via AIV	-0,081	-0,090	0,008
Efeito indireto via NN	0,351	0,463	0,012
Efeito indireto via NR	-0,289	-0,171	0,095
TOTAL	-0,031	0,193	-0,042
Efeito direto de AIV	-0,194	-0,215	0,020
Efeito indireto via NDF	0,055	-0,019	0,041
Efeito indireto via NDM	-0,034	-0,034	-0,046
Efeito indireto via APM	-0,018	0,028	-0,063
Efeito indireto via NN	0,210	0,276	0,007
Efeito indireto via NR	-0,279	-0,165	0,091
TOTAL	-0,261	-0,130	0,050
Efeito direto de NN	0,415	0,546	0,014
Efeito indireto via NDF	0,091	-0,032	0,068
Efeito indireto via NDM	-0,051	-0,052	-0,070
Efeito indireto via APM	-0,037	0,056	-0,128
Efeito indireto via AIV	-0,098	-0,109	0,010
Efeito indireto via NR	-0,141	-0,084	0,046
TOTAL	0,178	0,326	-0,060
Efeito direto de NR	0,662	0,392	-0,217
Efeito indireto via NDF	-0,026	0,009	-0,019
Efeito indireto via NDM	0,023	0,024	0,032
Efeito indireto via APM	0,019	-0,029	0,066
Efeito indireto via AIV	0,082	0,091	-0,008
Efeito indireto via NN	-0,088	-0,116	-0,003
TOTAL	0,672	0,370	-0,149
R²	0,620	0,354	0,062
p_E	0,616	0,804	0,969

NDF = número de dias para o florescimento; NDM = número de dias para a maturação; APM = altura da planta na maturidade; AIV = altura de inserção da primeira vagem; NN = número de nós; NR= número de ramifica-

ções; NV = número de vagens por planta; P1S = peso de uma semente e NS = número de sementes por vagem.

Para o caráter NV, as melhores combinações, ou seja, efeito direto positivo associado com correlação alta e positiva, ocorreu com os caracteres NR e NDF. Deste modo, um aumento do número de vagens por planta pode ser conseguido através da seleção correlacionada com esses caracteres.

Quanto ao caráter P1S, a variável mais importante além do já citado NR é o caráter NN. Já o NS, apresentou como caráter mais importante o NDF. Estes resultados estão concordando em parte com os resultados observados por Santos et al. (1995) que verificaram através dos valores dos efeitos diretos do NN e NDF sobre o NS, da APM sobre o P1S e do número de nós na floração (NNF) e NDM sobre o NV, os caracteres considerados mais importantes no processo de seleção indireta para aumento de produção de grãos de soja, via componentes primários. Igualmente, concordam em parte com os resultados encontrados por Carvalho et al. (2002), que notaram como mais importantes os caracteres NDM e altura de planta no florescimento (APF), individualmente, ou a combinação NDM, APF e NN, dependendo da época em que foi efetuada a semeadura das linhagens.

Verifica-se ainda na Tabela 2 que nos valores dos efeitos diretos de NDF e NDM sobre o P1S e NN sobre o caráter NS situação oposta á encontrada pelo coeficiente de correlação fenotípica, o que pode ser um indicativo de não adequação dos coeficientes de correlação nessas circunstâncias. Esses resultados mostram a importância da análise de trilha em revelar as verdadeiras relações de causa-efeito entre os caracteres avaliados. Santos et al. (1995) encontraram situação semelhante nos valores dos efeitos diretos dos caracteres NNF e APM sobre o NS, NNF sobre o P1S e NDF sobre o NV. Já Carvalho et al. (2002) verificaram a mesma circunstância no caráter NDF sobre PG avaliando linhagens de soja em diferentes épocas de semeadura.

Uma possível explicação para os coeficientes de correlação negativos encontrados entre NDM, APM, AIV com NV, AIV com P1S e NDM, APM, NN e NR com NS foi á influência de outras variáveis sobre o relacionamento em questão e a inadequação da correlação nessas situações.

Os efeitos diretos e indiretos dos caracteres secundários sobre a variável básica produtividade de grãos, passando pelos componentes primários, são apresentados na Tabela 3.

O estudo da avaliação da influência dos caracteres secundários sobre a variável básica é de grande interesse no melhoramento, uma vez que esses caracteres secundários geralmente são menos complexos, têm maiores herdabilidades e algumas vezes são mais fáceis de serem identificados, e ou, mensurados, tornando seu uso de grande interesse prático (CRUZ et al., 2004).

Observa-se no total dos efeitos que as variáveis NR e NN, respectivamente, comportaram-se melhor pela combinação de efeito direto e correlação, sendo verificado que a melhor situação dessas variáveis ocorre quando são consideradas as vias do P1S e NV.

Tabela 3. Estimativas dos efeitos diretos e indiretos de caracteres secundários sobre PG, por meio da análise de trilha em uma população F₆ de soja.

Descrição dos efeitos	Componentes primários			Total
	NV	P1S	NS	
Efeito direto.secundário de NDF	0,081	- 0,052	0,030	0,074
Efeito indireto via NDM	- 0,011	- 0,020	-0,008	-0,053
Efeito indireto.via APM	-0,006	0,017	- 0,011	-0,017
Efeito indireto.via AIV	-0,019	- 0,038	0,001	-0,054
Efeito indireto.via NN	0,067	0,161	0,001	0,240
Efeito indireto.via NR	-0,030	- 0,033	0,005	-0,056
TOTAL	0,082	0,035	0,019	0,134
Efeito direto secundário de NDM	- 0,031	- 0,057	- 0,021	-0,149
Efeito indireto via NDF	0,028	- 0,018	0,011	0,026
Efeito indireto via APM	-0,010	0,027	-0,017	-0,027
Efeito indireto via AIV	- 0,031	- 0,062	0,002	-0,087
Efeito indireto via NN	0,099	0,237	0,002	0,353
Efeito indireto via NR	-0,072	- 0,078	0,012	- 0,133
TOTAL	-0,016	0,050	-0,012	-0,018
Efeito direto secundário de APM	-0,017	0,046	-0,029	-0,047
Efeito indireto via NDF	0,030	- 0,019	0,011	0,028
Efeito indireto via NDM	-0,018	- 0,033	-0,012	-0,087
Efeito indireto via AIV	-0,031	- 0,062	0,002	-0,088
Efeito indireto via NN	0,133	0,319	0,002	0,475
Efeito indireto via NR	-0,109	- 0,118	0,018	-0,203
TOTAL	-0,012	0,133	-0,008	0,078
Efeito direto secundário de AIV	-0,073	- 0,149	0,004	-0,210
Efeito indireto via NDF	0,021	- 0,013	0,008	0,019
Efeito indireto via NDM	-0,013	- 0,023	-0,009	-0,062
Efeito indireto via APM	-0,007	0,019	-0,012	-0,020
Efeito indireto via NN	0,079	0,191	0,001	0,284
Efeito indireto via NR	-0,105	- 0,114	0,017	-0,195
TOTAL	-0,099	- 0,089	0,009	-0,184
Efeito direto secundário de NN	0,157	0,377	0,003	0,561
Efeito indireto via NDF	0,034	- 0,022	0,013	0,032
Efeito indireto via NDM	-0,019	- 0,036	-0,013	-0,094
Efeito indireto via APM	-0,014	0,039	-0,024	-0,040
Efeito indireto via AIV	-0,037	- 0,075	0,002	-0,106
Efeito indireto via NR	-0,053	- 0,058	0,009	-0,099
TOTAL	0,067	0,225	- 0,011	0,254
Efeito direto secundário de NR	0,250	0,270	- 0,041	0,464
Efeito indireto via NDF	-0,010	0,006	-0,004	-0,009
Efeito indireto via NDM	0,009	0,016	0,006	0,043
Efeito indireto via APM	0,007	- 0,020	0,013	0,021
Efeito indireto via AIV	0,031	0,063	-0,002	0,089
Efeito indireto via NN	-0,033	- 0,080	- 0,001	-0,120
TOTAL	0,254	0,255	-0,028	0,488

NDF = número de dias para o florescimento; NDM = número de dias para a maturação; APM = altura da planta na maturidade; AIV = altura de inserção da primeira vagem; NN = número de nós; NR= número de ramificações; NV = número de vagens por planta; P1S = peso de uma semente e NS = número de sementes por vagem.

CONCLUSÃO

O presente trabalho permite concluir que entre os componentes primários da produção de grãos, o peso de uma semente (P1S) e número de vagens por planta (NV) são os caracteres de maior potencialidade, e número de ramificações (NR) e número de nós (NN), como componentes secundários, figuram como os mais importantes no processo de seleção indireta para aumento da produtividade de grãos na população derivada do cruzamento entre FT-Cometa e IAC-8.

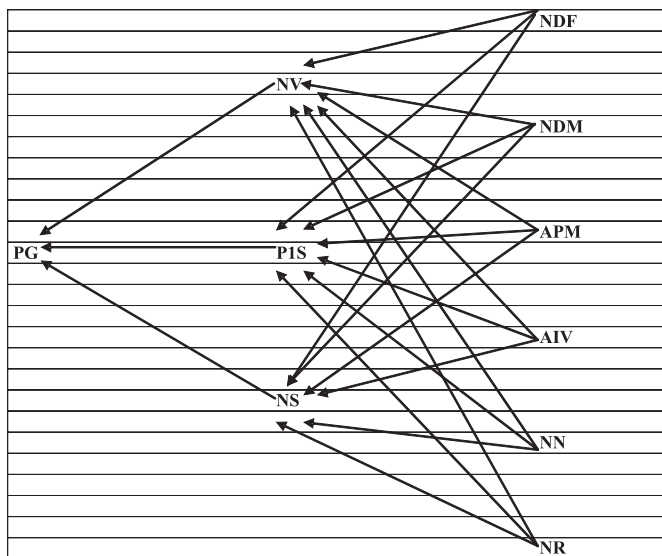


Figura 1- Diagrama causal em cadeia, demonstrando as influências de alguns componentes secundários sobre os componentes primários e, destes, sobre a produtividade de grãos de soja.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, C. G. P.; ARIAS, C. A. A.; TOLEDO, J. F. F.; OLIVEIRA, M. F.; VELLO, N. A. Correlações e análise de trilha em linhagens de soja semeadas em diferentes épocas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 37, p. 311-320, 2002.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV- Universidade Federal de Viçosa, 1994. 390p.

CRUZ, C. D. Programa Genes – Versão Windows – Aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV- Universidade Federal de Viçosa, 2001. 648p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV- Universidade Federal de Viçosa, 2003. 585p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 3ª ed. Viçosa: UFV- Universidade Federal de Viçosa, 2004. 480p.

EMBRAPA, 2005. Tecnologia de produção de soja – região central do Brasil- 2005. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste: Fundação Meridional, 2004. 239p.

FEHR, W. R.; CAVINESS, J. A. Stages of soybean development. Ames: Yowa State University, Cooperative Extension Service, 1977, 11p. (Special Report, 80).

JOHNSON, H. W.; ROBINSON, H. F.; COMSTOCK, R. E. Genotypic and phenotypic correlations in soybeans an their implications in selection. *Agronomy Journal*, Madison, v. 47, p. 477-483, 1955

LOPES, A. C. A.; VELLO, N. A.; PANDINI, F.; MOURA, R. M. M.; TSUTSUMI, C. Y. Variabilidade e correlações entre caracteres em cruzamentos de soja. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v.59, n.2, p.341-348, 2002.

REIS, E. F.; REIS, M. S.; CRUZ, C. D.; SEDIYAMA, T.; SEDIYAMA, C. S. Resposta esperada à seleção correlacionada em uma população F_6 de soja. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 48, p. 169-179, 2001.

SANTOS, C. A. F.; REIS, M. S.; CRUZ, C. D.; SEDIYAMA, C. S.; SEDIYAMA, T. Adequação de modelos no estudo do coeficiente de trilha nos componentes primários e secundários de progênies F_6 de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). *Revista Ceres*, Viçosa, v.42, p.111-121, 1995.

SCHUSTER, I. Correlações coeficientes de trilha, composição de gluteninas e qualidade do trigo para panificação. Viçosa: UFV- Universidade Federal de Viçosa, 1996. 98p.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. Genética biométrica no fitomelhoramento. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 486p.

WRIGHT, S. Correlation and causation. *Journal of Agricultural Research*, Australian, v. 20, p. 557-585, 1921.

DESEMPENHO DE LINHAGENS DE SOJA QUANTO A CARACTERES AGRONÔMICOS E REAÇÃO DE RESISTÊNCIA AO OÍDIO, MÍLDIO E DOENÇAS DE FINAL DE CICLO

PERFORMANCE OF SOYBEAN LINES FOR AGRONOMIC TRAITS AND RESISTANCE REACTION TO POWDERY MILDEW, DOWNY MILDEW AND LATE SEASON DISEASES*

Willian BIGHI¹, Maria Aparecida Pessoa da Cruz CENTURION², Ivana Marino BÁRBARO^{3,4}, Antonio Orlando DI MAURO⁵

* Parte do trabalho de graduação desenvolvido pelo primeiro autor, para conclusão do Curso de Agronomia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP, Campus de Jaboticabal, SP. 2004.

1- Engenheiro Agrônomo. E-mail: bighi@netsite.com.br

2- Professora da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP. Departamento de Produção Vegetal. Via de acesso Prof. Dr. Paulo Donato Castellane, Km 5, CEP: 14884-900, Jaboticabal-SP. E-mail: cidinha@fcav.unesp.br .

3- Pós-graduanda da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP. Departamento de Produção Vegetal. Via de acesso Prof. Dr. Paulo Donato Castellane, Km 5, CEP: 14884-900, Jaboticabal-SP.

4- Auto responsável - Pesquisadora Científica do APTA Regional Alta Mogiana. Avenida Rui Barbosa, s/nº, CEP: 14770-000, Caixa Postal 35, Colina-SP. Fone/Fax: (17) 3341-1400/1155; E-mail: imarino@apta regional. sp.gov.br

5- Professor da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP. Departamento de Produção Vegetal. Via de acesso Prof. Dr. Paulo Donato Castellane, Km 5, CEP: 14884-900, Jaboticabal-SP. E-mail: orlando@fcav.unesp.br

RESUMO

Avaliou-se, em condições de campo, caracteres agronômicos e reações ao oídio, míldio e doenças de final de ciclo em 23 linhagens de soja pertencentes ao Programa de Melhoramento da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal. Os ensaios foram instalados em dois locais, Jaboticabal/SP e Ipameri/GO, em blocos casualizados, sendo os resultados submetidos à análise de variância pelo teste F, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Com relação às doenças, foi verificada na maioria das linha-

gens reação de resistência, indicando que os genótipos são provavelmente provenientes de um programa de melhoramento visando resistência a doenças. De modo geral, todas as linhagens apresentaram bons atributos agronômicos e potencial produtivo para cultivo nos dois locais, destacando-se linhagens com valores de produtividades da ordem de 4 889 kg/ha em Ipameri e 3 546 kg/ha em Jaboticabal.

Palavras-chave: comportamento, genótipos, caracteres agronômicos, fungos fitopatogênicos.

ABSTRACT

Were evaluated under field conditions, reactions to powdery mildew, downy mildew and late season diseases and agronomic traits in 23 soybean lines from the breeding program of Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal/SP. The assays were placed in Jaboticabal/SP and Ipameri/GO, in a randomized block design. The results were submitted to variance analysis by F test, and the means compared by 5% of probability Tukey test. In terms of diseases, it was verified the resistance reaction for most lines, indicating that genotypes

are probably originated from a resistance diseases breeding program. In general, all the lines had showed good agronomic attributes and productive potential for culture in both places, being distinguished lines with productivity values by the order of 4889 kg/ha in Ipameri and 3546 kg/ha in Jaboticabal.

Keywords: behavior, genotypes, agronomic traits, phytopathogenic fungi.

INTRODUÇÃO

No Brasil o desenvolvimento de cultivares de soja (*Glycine max*. L. Merrill) mais produtivas, estáveis e melhor adaptadas às diferentes regiões e condições de cultivo tem representado uma importante contribuição no estabelecimento da soja como uma das principais culturas (ALMEIDA e KIIHL, 1998).

Pode-se citar como principais objetivos do melhoramento genético de soja: a obtenção de alta produtividade; o desenvolvimento de materiais com período juvenil longo; a resistência a doenças, a nematóides e a insetos; a boa qualidade fisiológica de sementes; a tolerância ao complexo acidez do solo e a melhoria da qualidade da soja como alimento entre outros (ARANTES e MIRANDA, 1993).

Alguns atributos agronômicos são relevantes para uma boa colheita da soja, sendo que, Bonetti (1983) recomenda que para diminuição das perdas, a altura das plantas deve ser igual ou superior a 0,65 metros, e a altura de inserção da primeira vagem, igual ou superior a 0,10 metros. O mesmo autor cita ainda que, acamamento acima de 50% impossibilita a recomendação da cultivar.

As doenças, um dos fatores limitantes à obtenção de maiores rendimentos em soja, têm sido destaque nos programas de melhoramento, visto que, com a expansão da soja para novas fronteiras, novos problemas têm surgido, bem como, tem ocorrido aumento na incidência de doenças já constatadas. Antes da introdução da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) no Brasil, as doenças foliares mais freqüentemente detectadas em lavouras de soja eram oídio, o míldio e as doenças de final de ciclo. Métodos de controle como o uso de cultivares resistentes principalmente, tratamento das sementes com fungicidas e rotação de culturas são importantes na minimização das perdas decorrentes destas.

Em resumo, os programas de melhoramento genético da soja, quer sejam da iniciativa pública ou privada, estão voltados à criação de cultivares mais produtivas, mais estáveis e melhor adaptadas às diversas regiões ecológicas e aos vários sistemas de cultivos existentes no Brasil, aliado a resistência genética as principais doenças. O desenvolvimento de cultivares, inegavelmente, tem sido uma das tecnologias que mais contribuem para os aumen-

tos de produtividade e estabilidade de produção sem acrescentar custos adicionais ao agricultor (ALMEIDA e KIIHL, 1998).

Neste trabalho objetivou-se avaliar algumas características agronômicas em 23 linhagens de soja pertencentes ao Programa de Melhoramento do Departamento de Produção Vegetal da FCAV/UNESP - Câmpus de Jaboticabal/SP, cultivadas em dois municípios Ipameri/GO e Jaboticabal/SP, ano agrícola 2002/03, além de avaliar a reação de resistência das mesmas ao oídio, míldio e doenças de final de ciclo.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram instalados, um em área experimental da Fazenda de Ensino e Pesquisa da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal/SP, UNESP, situado a 21°19' de latitude Sul, 47°33' de longitude Oeste e 616 m de altitude. O solo, latossolo vermelho eutrófico, típico textura argilosa com relevo suave. O outro, no município de Ipameri/GO, na Fazenda Lago Azul, situado a 17°15' de latitude Sul, 47°40' de longitude Oeste e 898 m de altitude, com solo, classificado segundo a Embrapa (1999) como latossolo vermelho-amarelo distrófico com relevo suave.

Segundo Köppen (2001), o clima para ambos os locais onde foram realizados os experimentos pode ser classificado como Cwa, ou seja, tropical de altitude com inverno seco, temperatura do mês mais quente maior que 22° C e temperatura do mês mais frio entre -3° e 18°C.

As 23 linhagens nas gerações F_{10} e F_{11} a serem estudadas, bem como a relação dos cruzamentos que as originaram são: Doko x Ocepar-4 (linhagens F_{11} JB 940306-1, JB 940306-2, JB 930310-1 e JB 930310-2); Doko x BR-15 (linhagens F_{11} JB 940413-1 e JB 940413-2 e linhagens F_{10} JB 9540021 e JB 9540026); Doko x Savana (linhagens F_{10} JB 9510031-1, JB 9510031-2, JB 9510035, JB 9510038 e JB 9510037); Doko x Bossier (linhagens F_{11} JB 940201 e JB 940210 e linhagem F_{10} JB 9520028); Doko x FT-Cristalina (linhagens F_{10} JB 9550027-1 e JB 9550027-2); Ocepar-4 x BR-15 (linhagens F_{10} JB 9590023-1 e JB 9590023-2); Ocepar-4 x Savana (linhagem F_{10} JB 95130025) e origem desconhecida para as linhagens JAB11 e JB 9354323.

Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso (DBC), com 25 tratamentos (23 linhagens e 2 cultivares-padrão) e 4 repetições. Cada parcela constituiu-se de 4 linhas de 4 metros, espaçadas de 0,45 m, sendo considerada como área útil da parcela, apenas as 2 linhas centrais, correspondente a 3,6 m².

As cultivares MG/BR 46 (Conquista) e BRS/MG 68 (Vencedora), foram utilizadas como padrão por possuírem boas características agronômicas, elevadas produtividades e recomendadas, segundo a Embrapa (2003) para ambas as regiões onde foram conduzidos os experimentos. Já a FT-Estrela, foi incluída intercaladamente em cada parcela, com o objetivo de uniformizar a fonte de inóculo de oídio, uma vez que, as reações das linhagens a essa doença seriam avaliadas.

Em ambos locais, o solo foi preparado de maneira convencional, com uma aração e duas gradagens. Antes da última gradagem efetuou-se a aplicação de trifluralin e imazaquin, nas dosagens recomendadas, visando o controle de plantas daninhas de folhas estreitas e largas infestantes da área. Posteriormente, a área foi sulcada e adubada.

A adubação das áreas foi feita com base na interpretação dos resultados das análises químicas dos solos, distribuindo-se no sulco de semeadura a quantidade de 400 kg/ha da fórmula 04-20-20, em ambos os locais.

As sementes foram tratadas com carboxim + thiram (Vitavax + Thiram 200 SC –nomes comerciais) e inoculadas com inoculante turfoso, de acordo com as recomendações da Embrapa (2003), sendo que a semeadura foi realizada manualmente nos dias 21/11/2002 e 23/11/2002, em Jaboticabal/SP e Ipameri/GO, respectivamente.

Foi realizado após a semeadura, o desbaste, com o objetivo de ajustar a população inicial para 360.000 plantas/ha, o que corresponde, no espaçamento de 0,45 m entrelinhas, a 16 plantas por metro, e paralelamente complementou-se o controle das plantas daninhas através de capinas manuais, deixando-se a cultura livre da competição com essas plantas por todo ciclo.

Em ambos os locais foram feitos os controles para as lagartas e percevejos da soja, quando essas pragas atingiram o nível de dano econômico, seguindo-se as recomendações da Embrapa (2003). Para o controle foram

utilizados endossulfam e monocrotophos, nas dosagens recomendadas.

O ensaio foi conduzido até as plantas atingirem o estágio de desenvolvimento R8 (FEHR e CAVINESS, 1977), onde efetuou-se a colheita manualmente.

Foram avaliados os níveis de infecção de míldio, oídio, e doenças de final de ciclo (cercosporiose e septoriose). As doenças foram avaliadas utilizando-se a escala de notas de 0 a 5, de acordo com a área foliar infectada (AFI) proposta por Yorinori (1997), em que: nota 0 – sem sintomas; 1- traços a 10 % de AFI; 2- 11 a 25 % de AFI; 3- 26 a 50 % de AFI; 4- 51 a 75 % de AFI e 5- acima de 75% de AFI, sendo consideradas como resistentes as notas de 0 a 2; 3-moderadamente resistente; 4-suscetível e 5- altamente suscetível. A cada linhagem foi atribuída a reação de resistência correspondente ao nível de infecção observado no campo. As avaliações foram realizadas em três pontos por parcela, visualizando-se as plantas inteiras, e, sendo as notas de cada parcela resultado da média dos três pontos.

No momento da colheita realizaram-se as avaliações: estande final (SF), contando todas as plantas da parcela útil ao serem arrancadas; ciclo (Ci) e acamamento das plantas (Ac) caráter avaliado através de uma escala de notas visuais, variando de 1 (planta ereta) a 5 (planta prostrada) (BONETTI, 1983).

Após a colheita foram realizadas as seguintes avaliações em 10 plantas ao acaso por parcela: altura de plantas na maturação (APM): medida em cm; altura de inserção da primeira vagem (AIV): medida em cm; número de ramos (NR); número de vagens (NV); número de nós na haste principal (NN) e peso de 100 sementes (PCS): através do valor médio do peso de 100 sementes em quatro repetições por parcela.

A partir dos valores médios referentes a produção das parcelas de cada tratamento, calculou-se a produtividade (PG) das linhagens, em quilogramas/ha.

Os resultados obtidos para Ac, APM, AIV, PCS e PG foram submetidos à análise de variância pelo teste F, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, através do programa computacional Estat (s.d.), desenvolvido pelo Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP/Jaboticabal.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comportamento das linhagens de soja cultivadas em Ipameri/GO e Jaboticabal/SP

Os resultados obtidos para as características agronômicas das linhagens de soja cultivadas em Ipameri/GO e Jaboticabal/SP, estão apresentados nas Tabela 1 e 2, onde pode-se observar que de maneira geral, todas as linhagens avaliadas apresentaram características agrônômicas desejáveis.

Observando-se os resultados relativos ao caráter ciclo em Ipameri/GO pode-se verificar que a maioria das linhagens (13) podem ser consideradas de ciclo médio, de acordo com a classificação da Embrapa (2003) para o estado de Goiás. Cinco das linhagens apresentaram ciclo tardio e cinco, ciclo precoce. Para Jaboticabal/SP podem ser consideradas de ciclo semiprecoce (8) e ciclo médio (13), e apenas duas com ciclo semitardio segundo a classificação da Embrapa (2003) para o estado de São Paulo.

Independentemente das classificações utilizadas em geral, houve reduções no ciclo das linhagens, quando cultivadas em Jaboticabal (Tabela 2). Estes resultados podem ser atribuídos aos efeitos dos fatores climáticos, principalmente do fotoperíodo.

O SF apresentou variação em relação ao inicial tanto em Ipameri quanto em Jaboticabal após o desbaste que era de aproximadamente 360 000 plantas/ha. As linhagens em Ipameri que apresentaram maiores variações foram JB 940413-1 e JB 9510031-1, com respectivamente, 270 139 e 263 194 plantas/ha. Isso representa uma perda de aproximadamente 25% em relação ao estande inicial. Esta redução deveu-se a ocorrência de lagarta elasma (*Elasmopalpus lignosellus*) durante o período de estiagem no início de desenvolvimento das plantas. Outro fator que contribuiu para este decréscimo, foi a ocorrência do cancro-da-haste (*Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*) em algumas linhagens.

Tabela 1. Características agronômicas de linhagens de soja cultivadas em Ipameri/GO, ano agrícola 2002/03.

Linhagens	CP	1,4/Ci (dias)	1,4/SF (pl/ha)	1,3,4/Ac	1,4/APM	1,4/AIV	1,4/NN	1,4/NR	1,4/NV	1,4/PCS (g)	1,4/PG (kg/ha)
JB 9354323	M	146	362 500	2,25 ^{abcd}	95,28 ^a	28,60 ^a	16,25	3,08	45,73	13,94 ^{cdefgh}	4 169 ^{abcd}
JB 940201	M	149	342 361	2,00 ^{bcd}	81,70 ^{abcdefg}	26,45 ^{abc}	13,50	3,90	43,15	14,51 ^{abcdef}	4 306 ^{abcd}
JB 940306-1	C	131	315 278	2,25 ^{abcd}	83,28 ^{abcdefg}	20,18 ^{abcdefg}	13,70	4,20	50,80	13,79 ^{cdefgh}	4 140 ^{abcd}
JB 940306-2	M	146	332 639	2,50 ^{abc}	85,18 ^{abcde}	21,70 ^{abcdefg}	14,78	3,00	49,93	12,61 ^{ighi}	3 998 ^{abcd}
JB 930310-1	C	149	340 972	1,50 ^{cd}	78,35 ^{bcdefgh}	24,13 ^{abcde}	13,38	5,43	61,65	14,44 ^{abcdefg}	4 889 ^a
JB 930310-2	M	146	327 083	1,25 ^{cd}	84,03 ^{abcdefgh}	25,60 ^{abcd}	13,40	4,28	44,50	14,39 ^{abcdefg}	4 410 ^{ab}
JB 940413-1	M	131	270 139	2,00 ^{bcd}	81,28 ^{abcdefgh}	23,15 ^{abcdef}	13,18	4,40	55,98	13,98 ^{cdefgh}	3 195 ^d
JB 940413-2	M	131	318 056	1,75 ^{bcd}	78,85 ^{bcdefgh}	25,75 ^{abcd}	13,08	4,38	48,55	14,00 ^{cdefgh}	3 215 ^{cd}
JB 9510031-1	M	131	263 194	2,25 ^{abcd}	79,95 ^{bcdefgh}	22,18 ^{abcdefg}	13,83	3,55	60,65	15,07 ^{abd}	3 297 ^{bcd}
JB 9510031-2	M	131	341 667	2,50 ^{abc}	83,80 ^{abcdefg}	19,03 ^{bcdefg}	12,75	3,85	52,53	13,18 ^{cdefghi}	3 793 ^{abcd}
JB 9510035	M	131	304 861	2,50 ^{abc}	86,18 ^{abcd}	20,88 ^{abcdefg}	11,83	5,20	55,03	14,79 ^{abcde}	3 599 ^{abcd}
JB 9510038	M	137	379 861	2,50 ^{abc}	91,50 ^{ab}	20,88 ^{abcdefg}	15,75	3,70	51,48	15,02 ^{abcde}	3 913 ^{abcd}
JB 9520028	M	121	343 056	2,50 ^{abc}	67,03 ^{hij}	21,05 ^{abcdefg}	10,65	4,58	56,45	12,27 ^{hi}	3 469 ^{abcd}
JB 9540021	M	137	327 778	3,25 ^{ab}	89,38 ^{abc}	23,98 ^{abcdef}	14,90	3,78	53,50	15,12 ^{abcd}	4 119 ^{abcd}
JB 9540026	M	131	327 778	2,00 ^{bcd}	84,68 ^{abcdef}	20,26 ^{abcdefg}	15,05	4,30	66,48	12,99 ^{cdefghi}	4 374 ^{abc}
JB 9550027-1	C	128	316 667	1,75 ^{bcd}	80,03 ^{abc}	17,28 ^{cdefg}	13,90	4,28	59,03	14,14 ^{bcdefgh}	4 177 ^{abcd}
JB 9550027-2	M	124	342 361	3,75 ^a	77,05 ^{cdefghij}	21,58 ^{abcdefg}	13,98	4,28	74,18	13,91 ^{cdefgh}	3 642 ^{abcd}
JB 9590023-1	C	128	351 389	1,88 ^{bcd}	63,80 ^{ij}	13,68 ^g	11,43	4,25	54,23	11,71 ⁱ	3 677 ^{abcd}
JB 9590023-2	M	124	345 833	1,50 ^{cd}	62,73 ^j	14,70 ^{fg}	11,65	4,13	53,98	12,43 ^{ghi}	3 626 ^{abcd}
JB 940210	M	131	331 944	2,25 ^{abcd}	86,68 ^{abcde}	26,85 ^{ab}	16,68	3,93	46,85	15,50 ^{abc}	4 294 ^{abcd}
JB 9510037	C	131	313 194	1,25 ^{cd}	77,40 ^{bcdefghi}	20,68 ^{abcdefg}	13,68	5,13	53,03	16,20 ^a	3 578 ^{abcd}
JB 95130025	C	121	306 250	1,00 ^d	70,25 ^{efghij}	15,90 ^{efg}	11,73	3,63	56,73	14,89 ^{abcde}	3 483 ^{abcd}
JAB 11	C	124	345 833	1,00 ^d	70,28 ^{ghij}	17,05 ^{defg}	15,06	4,30	48,98	12,59 ^{fghi}	3 406 ^{abcd}
^{5/} MG/BR 46	M	128	325 694	1,50 ^{cd}	72,48 ^{cdefghij}	21,55 ^{abcdefg}	11,15	4,38	44,55	16,04 ^{ab}	4 285 ^{abcd}
^{6/} BRS/MG 68	M	121	356 944	1,75 ^{bcd}	70,45 ^{fghij}	22,48 ^{abcdefg}	11,23	3,63	54,45	14,06 ^{bcdefgh}	4 532 ^a
^{2/} F											
Blocos	-----	-----	-----	2,21n.s	4,45**	1,91n.s	-----	-----	-----	3,82*	1,94n.s
Tratamentos	-----	-----	-----	5,49**	10,23**	4,76**	-----	-----	-----	9,59**	3,83**
D.M.S	-----	-----	-----	0,4652	14,3737	9,313	-----	-----	-----	2,0349	1162,0255
CV	-----	-----	-----	11,03	6,71	16,15	-----	-----	-----	5,38	11,11

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra na coluna não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ^{2/} ns = não significativo (p < 0,05); ** = valor significativo (p < 0,01); ^{3/} Escala de notas proposta por Bonetti (1983); ^{4/} Médias de quatro repetições; ^{5/} Conquista; ^{6/} Vencedora; Ci = ciclo; SF= estande final; APM= altura da planta na maturação; Ac= acamamento; AIV= altura de inserção da 1ª vagem; NN= número de nós; NR= número de ramos; NV= número de vagens; PCS= peso de 100 sementes; PG= produtividade e CP= cor da pubescência sendo, M= marrom e C= cinza.

Tabela 2. Características agrônômicas de linhagens de soja cultivadas em Jaboticabal/SP, ano agrícola 2002/03.

Linhagens	CP	^{1,4/} Ci (dias)	^{1,4/} SF (pl/ha)	^{1,3,4/} Ac	^{1,4/} APM	^{1,4/} AIV	^{1,4/} NN	^{1,4/} NR	^{1,4/} NV	^{1,4/} PCS (g)	^{1,4/} PG (kg/ha)
JB 9354323	M	137	275 000	1,75 ^{ab}	96,95 ^{abcde}	27,28 ^{abc}	18,58	3,15	79,18	10,56 ^f	3 332 ^{abc}
JB 940201	M	145	261 806	1,25 ^{ab}	90,95 ^{bcdefg}	25,23 ^{abcd}	15,28	5,05	97,83	14,19 ^{ab}	2 888 ^{abc}
JB 940306-1	C	128	240 278	1,25 ^{ab}	92,10 ^{abcdef}	18,53 ^{bcd}	16,70	4,05	92,00	11,67 ^{cdef}	3 070 ^{abc}
JB 940306-2	M	131	237 500	1,00 ^b	100,45 ^{abcd}	23,33 ^{abcd}	16,70	3,50	79,68	10,95 ^{ef}	3 157 ^{abc}
JB 930310-1	C	141	272 222	2,25 ^{ab}	86,45 ^{cdefgh}	23,60 ^{abcd}	17,08	4,80	92,25	11,45 ^{def}	3 158 ^{abc}
JB 930310-2	M	137	259 028	1,25 ^{ab}	91,20 ^{bcdefg}	26,88 ^{abc}	15,93	4,00	75,95	10,16 ^f	2 973 ^{abc}
JB 940413-1	M	137	248 611	1,00 ^b	91,13 ^{bcdefg}	24,38 ^{abcd}	14,75	4,28	87,55	13,43 ^{abcd}	2 876 ^{abc}
JB 940413-2	M	131	204 861	1,00 ^b	93,25 ^{bcdefg}	30,88 ^a	15,40	3,65	85,80	11,63 ^{cdef}	2 708 ^{bc}
JB 9510031-1	M	131	224 306	1,25 ^{ab}	94,13 ^{abcdef}	21,75 ^{abcd}	16,88	3,28	86,58	11,26 ^{def}	2 620 ^{bc}
JB 9510031-2	M	131	206 944	1,25 ^{ab}	102,43 ^{abcd}	25,60 ^{abcd}	16,25	3,25	75,43	11,73 ^{cdef}	2 235 ^c
JB 9510035	M	131	231 250	1,00 ^b	94,30 ^{abcdef}	29,15 ^{ab}	15,35	3,55	61,60	12,22 ^{bcdef}	2 273 ^c
JB 9510038	M	137	225 000	1,25 ^{ab}	109,48 ^a	25,88 ^{abcd}	19,58	4,33	92,23	14,03 ^{abcd}	3 546 ^{abc}
JB 9520028	M	121	244 514	1,25 ^{ab}	76,70 ^{fgh}	24,93 ^{abcd}	12,05	4,38	72,93	12,23 ^{bcdef}	3 153 ^{abc}
JB 9540021	M	137	245 833	2,50 ^{ab}	98,98 ^{abcd}	29,30 ^{ab}	17,58	3,80	81,58	12,78 ^{bcdef}	2 784 ^{abc}
JB 9540026	M	131	231 250	2,00 ^{ab}	100,38 ^{abcd}	21,03 ^{abcd}	16,75	3,68	91,03	11,53 ^{def}	3 315 ^{abc}
JB 9550027-1	C	128	295 833	1,00 ^b	104,68 ^{ab}	18,48 ^{bcd}	16,75	4,53	97,00	12,14 ^{bcdef}	3 135 ^{abc}
JB 9550027-2	M	124	232 639	3,25 ^a	89,83 ^{bcdefgh}	23,85 ^{abcd}	14,73	5,03	101,75	13,25 ^{abcde}	3 224 ^{abc}
JB 9590023-1	C	128	243 750	1,25 ^{ab}	72,05 ^h	14,75 ^d	14,83	2,40	80,60	11,15 ^{def}	2 893 ^{abc}
JB 9590023-2	M	124	245 139	1,25 ^{ab}	79,80 ^{efgh}	16,30 ^{cd}	11,00	2,55	67,70	11,36 ^{def}	2 752 ^{abc}
JB 940210	M	131	263 194	1,00 ^b	103,88 ^{abcd}	31,58 ^a	15,98	4,70	75,85	13,40 ^{abcd}	3 281 ^{abc}
JB 9510037	C	131	267 361	1,00 ^b	90,25 ^{bcdefg}	25,80 ^{abcd}	14,98	3,95	74,50	14,08 ^{ab}	2 892 ^{abc}
JB 95130025	C	121	270 139	1,25 ^{ab}	73,88 ^{gh}	18,75 ^{bcd}	12,53	2,75	63,33	15,54 ^a	2 872 ^{abc}
JAB 11	C	124	271 528	1,00 ^b	87,20 ^{defgh}	18,58 ^{bcd}	15,18	4,23	64,73	10,92 ^{ef}	3 026 ^{ab}
^{5/} MG/BR 46	M	128	275 000	1,50 ^{ab}	85,88 ^{cdefgh}	27,18 ^{abc}	13,95	3,03	66,75	15,55 ^a	3 856 ^{abc}
^{6/} BRS/MG 68	M	121	258 333	1,75 ^{ab}	95,20 ^{abcde}	19,25 ^{bcd}	14,60	3,55	118,75	12,33 ^{bcdef}	4 075 ^a
^{2/} F											
Blocos		-----	-----	0,69n.s	2,02n.s	0,79n.s	-----	-----	-----	1,60n.s	2,47n.s
Tratamentos		-----	-----	1,94*	8,08*	4,61**	-----	-----	-----	10,72**	2,79**
D.M.S		-----	-----	0,6491	18,0991	11,4051	-----	-----	-----	2,4145	1340,498
CV		-----	-----	17,74	7,32	17,89	-----	-----	-----	7,25	16,36

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra na coluna não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ^{2/} ns = não significativo (p < 0,05); ** = valor significativo (p < 0,01); ^{3/} Escala de notas proposta por Bonetti (1983); ^{4/} Médias de quatro repetições; ^{5/} Cultivar-padrão Conquista; ^{6/} Cultivar-padrão Vencedora; Ci = ciclo; SF= Stand final; APM= altura da planta na maturação; Ac= acamamento; AIV= altura de inserção da 1ª vagem; NN= número de nós; NR= número de ramos; NV= número de vagens; PCS= peso de 100 sementes; PG= produtividade e CP= cor da pubescência sendo, M= marrom e C= cinza.

Em Jaboticabal, as linhagens que apresentaram maiores variações foram a JB 940413-2 e JB 9510031-2, com respectivamente, 204 861 e 206 944 plantas/ha, representando uma perda de aproximadamente 40%, sendo a mesma superior quando comparada a Ipameri, ocasionada por uma forte chuva e a ocorrência de morte de plântulas logo após a semeadura, devido à ação de fungos patogênicos presentes na área. Aliada a presença da doença cancro-da-haste em algumas linhagens, fato também observado em Ipameri. Gonçalves (1999) verificou pelo método do palito-de-dente proposto por Yorinori (1996), reação de moderada resistência apenas no genótipo JB 940210, quando avaliado em casa-de-vegetação em gerações anteriores, porém na maioria dos genótipos testados foi constatada reações de susceptibilidade ao referido patógeno, confirmando a presença da referida doença nas linhagens susceptíveis como contribuidor para redução do estande.

Em relação ao Ac apenas os materiais JB 9550027-2 e JB 9540021 em Ipameri e JB 9550027-2 em Jaboticabal apresentaram níveis altos. De acordo com Bonetti (1983), acamamento de 50% impossibilita a recomendação da cultivar, sendo que tal fato pode estar associado ao porte das plantas, o que pode acarretar em maior dificuldade de colheita, dado o grau de inclinação das plantas, podendo levar a prejuízos consideráveis. Altos níveis de Ac podem ser reduzidos, diminuindo-se a densidade de semeadura. No caso da linhagem JB 9550027-2, o alto nível de Ac pode estar relacionado ao diâmetro do caule, uma vez que, não se tratam de plantas muito altas (89,83 cm em média), além do que, o SF estava abaixo da média recomendada pela Embrapa (2003), de 300.000 plantas/ha, no geral. Gonçalves (1999) verificou que apenas o genótipo JB 940210, quando avaliado em gerações anteriores, em condições de campo em

Jaboticabal/SP, apresentou alta porcentagem de Ac. Já Silveira (2002) estudando os mesmos genótipos nas gerações F_8 e F_9 em Jaboticabal, observou que as maiores notas foram atribuídas aos genótipos JB 9590023-2, JB 9550027-2, JB 9540021, JB 940210 e JB 9510031-1, concordando em parte com o presente estudo.

Quanto a APM, quase todas as linhagens cultivadas em Ipameri, com exceção de duas, apresentaram alturas desejáveis de acordo com a proposta de Bonetti (1983), sendo que a linhagem JB 9354323 apresentou a maior média de altura (95,28 cm). Por sua vez, em Jaboticabal, todas as linhagens, apresentaram alturas satisfatórias, sendo que as linhagens JB 9510031-2, JB 9510038, JB 9550027-1 e JB 940210 apresentaram as maiores médias de altura de plantas, ficando todas acima de 100 cm, fato não desejável, uma vez que, segundo Sedyama et al. (1999) plantas acima de 100 cm tendem ao acamamento e, além de dificultarem a eficiência das colhedoras, tendem a produzir menos.

Considerando a AIV tanto em Ipameri como em Jaboticabal, todas as linhagens testadas superaram a altura mínima recomendada por Bonetti (1983) de 10 cm, acima da qual evitam-se perdas consideráveis durante a colheita. Em Ipameri, a maior AIV foi observada na linhagem JB 9354323 (28,60 cm), e, a menor, na linhagem JB 9590023-1 (13,68 cm). Em Jaboticabal, a maior AIV foi verificada na linhagem JB 940210 (31,58 cm), e, a menor, na linhagem JB 9590023-1 (14,75 cm).

Quanto maior a APM e menor a AIV, dentro dos critérios recomendados, maior a possibilidade de se obter maiores produtividades. Por outro lado, maior a APM, pode ser indicativo de maior porcentagem de Ac. Comparando-se as APM e AIV das linhagens cultivadas em Jaboticabal (Tabela 2) e em Ipameri (Tabela 1), pode-se observar uma redução geral nos valores obtidos em Ipameri. Estes resultados provavelmente decorrem das diferenças climáticas existentes em ambos os locais.

Em Ipameri, a linhagem JB 940210 apresentou o maior NN (16,68) e JB 9520028 apresentou o menor (10,65). Para NR, a JB 930310-1 apresentou o maior valor (5,43) e JB 940306-2, o menor (3,00). Os valores médios encontrados para as cultivares-padrão, BRS/MG 68 (Vencedora) foram 3,63 ramificações e MG/BR 46 (Con-

quista), 4,38 ramificações. Por sua vez, em Jaboticabal para NN, o maior valor obtido, foi para a linhagem JB 9510038 (19,58), e o menor, foi para a linhagem JB 9590023-2 (11,00). Quanto ao NR, o maior valor foi verificado na linhagem JB 940201 (5,05) e o menor para JB 9590023-1 (2,40). Por sua vez, Silveira (2002) verificou que o genótipo JAB 11 avaliado em gerações anteriores apresentou o menor valor de NN (11,50) e JAB 9510031-1 o maior (18,53).

O NV em Ipameri variou de 43,15 a 74,18 entre as linhagens, enquanto foi verificado para as cultivares-padrão, BRS/MG 68 (Vencedora) com 54,45 e para MG/BR 46 (Conquista) com 44,55 vagens/planta. Em Jaboticabal, o NV variou de 61,60 a 101,75 entre as linhagens. As cultivares-padrão BRS/MG 68 (Vencedora) e MG/BR 46 (Conquista) produziram 118,75 e 66,75 vagens/planta, respectivamente. Silveira (2002) observou que para o mesmo caráter houve variação de 36,50 a 95,00 vagens entre os genótipos. Segundo Câmara (1998) as cultivares brasileiras produzem em média 30 a 80 vagens/planta.

Houve diferenças estatísticas significativas para o caráter PCS em Ipameri e Jaboticabal, sendo o maior valor, 16,20 g obtidos para a linhagem JB 9510037, e, o menor 11,71 g para JB 9590023-1 e o maior valor, 15,55 g obtidos para JB 95130025; e o menor 10,16 g, para JB 930310-2, respectivamente, concordando com Silveira (2002) que encontrou a maior média (16,40 g) para a linhagem JB 9510037 quando avaliada na geração F_8 em Jaboticabal/SP.

A linhagem JB 930310-1 em Ipameri destacou-se por apresentar a maior PG (4 889 kg/ha), não diferindo significativamente da cultivar BRS/MG 68 (Vencedora), com 4 532 kg/ha, sendo que todas as linhagens, com exceção de três, não apresentaram diferenças estatísticas significativas em relação às cultivares-padrão. Já em Jaboticabal, a linhagem JB 9510038 destacou-se por apresentar a maior PG (3 546 kg/ha), também não diferindo significativamente dos padrões. As outras, com exceção da JB 940413-2, JB 9510031-1, JB 9510031-2 e JB 9510035 também não apresentaram diferenças estatísticas significativas em relação às cultivares-padrão.

Segundo os estudos de Gonçalves (1999), o

genótipo JB 940210 avaliado em gerações anteriores, destacou-se por apresentar boas características agronômicas, porém, alta porcentagem de acamamento. Já Silveira (2002) relata que os genótipos JB 95130025 e JAB 11 apresentaram os melhores desempenhos, e, conseqüentemente poderiam ser recomendados para o cultivo na região de Jaboticabal/SP.

Com exceção das linhagens JB 940413-1 em Ipameri, JB 9510031-2 e JB 9510035 em Jaboticabal e JB 940413-2 e JB 9510031-1 em ambos locais por apresentarem desempenho inferior às cultivares-padrão é demonstrado o potencial produtivo das várias linhagens pertencentes ao programa de melhoramento do Departamento de Produção Vegetal da FCAV/UNESP/Jaboticabal para cultivo em Ipameri, Estado de Goiás e em Jaboticabal, Estado de São Paulo.

Reação das linhagens às doenças

Os resultados das avaliações das doenças estão apresentados na Tabela 3. Todas as linhagens estudadas

em Ipameri/GO e Jaboticabal/SP apresentaram baixos níveis de infecção e reação de resistência ao oídio, míldio e doenças de final de ciclo, exceto as linhagens JB 95130025 e JAB 11 em Jaboticabal que apresentaram-se como moderadamente resistentes ao oídio. Estes resultados evidenciaram que sob as condições climáticas do ano agrícola em que o estudo foi realizado, as linhagens apresentaram alto nível de sanidade, o que provavelmente é fruto de um programa de melhoramento, que busca materiais com níveis de resistência a doenças. Isso pode provocar uma economia considerável, uma vez que, não haveria necessidade de aplicações com fungicidas para proteção da parte aérea das plantas.

Franco et al. (2002) citam que os genótipos JB 940210, JB 9510038, JB 9510031-2, JB 940306-1, JB 940306-2 e JB 9354323 apresentaram-se como resistentes ao oídio da soja. Entretanto, Gonçalves (1999) relata que o genótipo JB 940210 em condições de campo, casa-de-vegetação e folha destacada, se destaca por apresentar reação de resistência ao oídio na primeira condição e moderada resistência nas duas últimas condições.

Tabela 3. Níveis de infecção (NI) e reações de linhagens de soja cultivadas em Jaboticabal/SP e Ipameri/GO, ao oídio (*Microsphaera diffusa*), ao míldio (*Peronospora manshurica*) e às doenças de final de ciclo (*Septoria glycines* e *Cercospora kikuchii*).

Linhagens	Ipameri/GO						Jaboticabal/SP					
	1/Oídio		1/Míldio		1,2/DFC		1/Oídio		1/Míldio		1,2/DFC	
	3/NI	4/RE	3/NI	4/RE	3/NI	4/RE	3/NI	4/RE	3/NI	4/RE	3/NI	4/RE
JB 9354323	0,42	R	1,00	R	1,00	R	0,83	R	1,25	R	1,00	R
JB 940201	0,58	R	0,92	R	0,75	R	1,08	R	1,17	R	1,00	R
JB 940306-1	0,83	R	0,50	R	1,00	R	0,92	R	1,00	R	1,42	R
JB 940306-2	0,66	R	0,92	R	1,08	R	0,92	R	1,00	R	1,08	R
JB 930310-1	0,83	R	0,42	R	1,00	R	1,00	R	0,50	R	1,00	R
JB 930310-2	1,00	R	0,83	R	1,00	R	1,00	R	0,92	R	1,00	R
JB 940413-1	0,83	R	0,91	R	0,83	R	1,00	R	1,50	R	1,08	R
JB 940413-2	0,75	R	1,00	R	1,00	R	1,00	R	1,08	R	1,00	R
JB 9510031-1	1,00	R	1,25	R	0,92	R	1,25	R	1,25	R	1,08	R
JB 9510031-2	0,75	R	1,00	R	1,08	R	1,08	R	1,08	R	1,00	R
JB 9510035	0,83	R	0,92	R	1,00	R	1,00	R	1,00	R	1,00	R
JB 9510038	0,83	R	1,08	R	0,91	R	1,08	R	1,00	R	1,00	R
JB 9520028	1,08	R	0,92	R	1,16	R	1,00	R	1,17	R	2,00	R
JB 9540021	0,75	R	1,16	R	1,17	R	0,75	R	1,50	R	0,83	R
JB 9540026	0,58	R	0,92	R	1,00	R	1,00	R	1,00	R	1,00	R
JB 9550027-1	0,92	R	0,92	R	1,00	R	1,08	R	1,00	R	1,16	R
JB 9550027-2	0,66	R	1,08	R	1,00	R	1,00	R	1,25	R	1,75	R
JB 9590023-1	0,83	R	0,92	R	1,08	R	1,16	R	1,08	R	1,50	R
JB 9590023-2	1,00	R	1,00	R	1,25	R	1,00	R	1,00	R	1,83	R
JB 940210	0,92	R	1,00	R	1,00	R	1,25	R	1,00	R	1,00	R
JB 9510037	1,08	R	0,92	R	1,00	R	1,16	R	1,00	R	1,25	R
JB 95130025	1,37	R	0,75	R	1,46	R	2,75	MR	1,00	R	2,33	MR
JAB 11	1,00	R	1,00	R	0,83	R	3,08	MR	1,25	R	1,08	R
5/MG/BR 46	0,92	R	0,92	R	1,08	R	1,33	R	1,25	R	1,50	R
6/BRS/MG 68	1,00	R	1,25	R	1,25	R	1,00	R	1,92	R	1,25	R

1/Média de quatro repetições; 2/Doenças de final de ciclo; 3/ Nível de infecção; 4/ Reação, sendo R= resistente; MR= Moderadamente resistente; 5/ Cultivar-padrão Conquista; 6/Cultivar-padrão Vencedora.

O desenvolvimento de linhagens de soja com resistência múltipla a doenças é de suma importância, uma vez, que dispensa os sojicultores da realização de pulverização da parte aérea com fungicidas, diminuindo desta forma os custos, e, conseqüentemente aumentando a rentabilidade.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados e de acordo como o que foi discutido, pode-se concluir que: todas as linhagens estudadas apresentaram altos níveis de resistência ao oídio, míldio e doenças de final de ciclo tanto em Jaboticabal/SP como em Ipameri/GO, bem como bons atributos agrônômicos e potencial produtivo para cultivo em ambos locais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, L.A.; KIIHL, R.A.S. Melhoramento da soja no Brasil – desafios e perspectivas. In: CÂMARA, G.M.S. (Coord.). Soja: tecnologia da produção. Piracicaba: Publique, 1998. p. 40-45.

ARANTES, N.E.; MIRANDA, M.A.C. Melhoramento genético e cultivares de soja para o cerrado da região sudeste do Brasil: In: ARANTES, N.E., SOUZA, P.I.M. (Ed). Cultura da soja nos cerrados. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e Fósforo, 1993. p.209–227.

BONETTI, L.P. Cultivares e seu melhoramento genético. In: VERNETTI, F. J. (Coord.) Soja: genética e melhoramento. Campinas: Fundação Cargill, 1983. p. 742-800.

CÂMARA, G.M.S. Origem, difusão geográfica e importância da soja. In: CÂMARA, G. M. S. (Coord.). Soja: tecnologia da produção. Piracicaba: Publique, 1998. p. 1-25.

EMBRAPA. Tecnologias de produção de soja – região central do Brasil 2004. Londrina: Fundação Triângulo, 2003. 237 p.

EMBRAPA. Sistema brasileiro de classificação de solo. Brasília: Produção de Informações, 1999. 412 p.

ESTAT. Sistema para análises estatísticas. (V.2.0). Pólo Computacional/Departamento de Ciências Exatas/UNESP-FCAV, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, SP [s.d.].

FEHR, W.R.; CAVINESS, J.A. Stages of soybean development. Ames: Iowa State University, Cooperative Extension Service, 1977, 11p. (Special Report, 80).

FRANCO, H.B.J. TRABUCO, M.; CENTURION, M.A.P.C.; DI MAURO, A.O.; NEPOMUCENO, M.P. Comportamento de genótipos de soja cultivados no município de Jaboticabal/SP, safra 2002/2001. In: XXIV REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL., 2002, Londrina, PR. Anais... Londrina: Embrapa Soja, 2002. p. 59 - 60.

GONÇALVES, E.C.P. Avaliação das características agrônômicas e das reações ao cancro da haste e ao oídio em genótipos de soja. 1999. 64 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

KÖPPEN, W. Climatologia. In: PEREIRA, A.R.; ANGELOCCI, L.R.; SENTELHAS, P.C. (ED). Agrometeorologia: fundamentos e aplicações práticas. Guaíba: Agropecuária, 2001. 478 p.

SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R. C. & REIS, M. S. Melhoramento da soja. In: BOREM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa: Editora UFV, 1999. p. 487 – 533.

SILVEIRA, G.D. Seleção de genótipos de soja para a região de Jaboticabal-SP. 2002. 38 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

YORINORI, J.T. Cancro da haste da soja: epidemiologia e controle. Londrina: EMBRAPA/CNPSo, 1996. 76p. (Circular Técnica, 14).

YORINORI, J.T. Oídio da soja. Londrina: Embrapa – soja. Oidiosoja.Doc., 1997. 13 p.

YORINORI, J.T.; HIROMOTO, D.M. Determinação de perdas em soja causadas por doenças fúngicas. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Resultados de pesquisa da Embrapa Soja, 1997. Londrina, p. 112-114, 1997. (Documentos, 118).

YORINORI, J.T. Controle integrado das principais doenças da soja. In: CÂMARA, G.M.S. (Coord.). Soja: tecnologia da produção II, Piracicaba: ESALQ/LPV, 2000. p. 203–12.

EFEITOS DA LUZ VISÍVEL EMITIDA POR UM APARELHO FOTOPOLIMERIZADOR SOBRE A CÓRNEA, A ÍRIS E A RETINA DE COELHOS

EFFECTS OF THE VISIBLE LIGHT OF A RESIN-CURING POLYMERIZATION DEVICE ON CORNEA, IRIS AND RETINA.

Fábio PETROUCIC¹, Ueide Fernando FONTANA², Sebastião HETEM³, Carla Raquel FONTANA⁴

1 - Cirurgião-Dentista. Doutor pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2 - Profº da Disciplina de Dentística da Faculdade de Odontologia de Barretos – FEB

3 - Profº da Disciplina de Histologia e Embriologia da Faculdade de Odontologia de Barretos – FEB.

4 - Cirurgiã-Dentista. Mestre em Física pela USP – São Carlos.

RESUMO

Foram utilizados, neste trabalho, 21 coelhos adultos da raça Nova Zelândia divididos em 2 grupos: 1) grupo controle – que não recebeu qualquer tratamento; 2) grupo tratado – dividido em 6 subgrupos de 3 animais cada, que tiveram seus olhos expostos à luz de um fotopolimerizador por tempos que variaram de 10 segundos uma única vez a 20 minutos diariamente durante 180 dias. Após as aplicações, os animais foram sacrificados e os globos oculares removidos, fixados em líquido de Bouïn, incluídos em parafina, cortados com 5 µm de espessura e corados pelo método da hematoxilina e eosina para análise em microscopia de luz. Os resultados não mostraram alterações na córnea,

na íris e na retina pela análise comparativa entre os grupos controle e tratado. Assim, concluiu-se que a luz emitida pelo aparelho fotopolimerizador utilizado neste trabalho não causou danos perceptíveis à córnea, à íris ou à retina quer em função do tempo quer em função do número de aplicações e que os atuais aparelhos fotopolimerizadores estão satisfatoriamente projetados de modo a não lesar as estruturas do olho tanto do profissional quanto de seus auxiliares.

Palavras-chave: Luz azul, aparelho fotopolimerizador, histologia comparada, córnea, íris, retina.

ABSTRACT

Twenty one adult rabbits were divided in two groups: group 1 – control – 3 animals did not received any treatment; group 2 – treated group – 6 subgroups, 3 animals in each one, have had their eyes exposed to the light of a polymerization device during times ranged from 10 seconds only one time till 20 minutes daily during 180 days. After the exposures the animals were sacrificed and their ocular globes removed, fixed in Bouïn's liquid, paraffin embedded, cut 5 µm thick and stained through hematoxylin and

eosin method for analysis in light microscopy. The results did not show any change between the control and treated groups either in the cornea, iris or retina. Thus, it was concluded that the light of the photopolymerization device used in this paper did not produce perceptible damages to the cornea, iris or retina.

Keywords: Blue light, light cure unit, histological changes, cornea, iris, retina

INTRODUÇÃO

A energia luminosa com curtos comprimentos de onda passou a ser aproveitada nas indústrias de materiais odontológicos, no início da década de 70, para suprir certas características consideradas indesejáveis presentes nas resinas compostas quimicamente ativadas utilizadas para restaurações, nas quais a mistura da pasta base à pasta catalisadora, apresentava um tempo de trabalho pouco definido. Assim, a energia luminosa passou a ser usada para ativar reações químicas que iniciam a polimerização das resinas compostas, denominadas fotoativas, quando elas apresentam em sua composição substâncias químicas que se sensibilizam por certos comprimentos de onda permitindo, dessa maneira, um tempo de trabalho que atenda à necessidade clínica de cada cirurgião – dentista.

Desde então as resinas compostas vêm sofrendo modificações tanto na sua composição, quanto na técnica de utilização, permitindo a sua aplicação no atendimento de um número cada vez maior de casos clínicos. Hoje as resinas compostas apresentam-se com muitas formulações e três mecanismos de polimerização: o sistema quimicamente ativado, o dual e o fotoativado, sendo necessária, nestes dois últimos sistemas, a presença de uma unidade geradora e transmissora de ondas que emana uma energia luminosa capaz de ativar os fotorreceptores presentes nessas resinas e iniciar a sua polimerização.

As lâmpadas atualmente mais utilizadas no sistema de polimerização por ondas de luz visível são lâmpadas do tipo halógena, um tipo incandescente mais eficiente, duradoura e econômica, além de ser capaz de reproduzir todas as cores com muito mais precisão do que os outros tipos de lâmpada existentes no mercado. Essas lâmpadas geralmente apresentam-se com bulbo de quartzo com um filamento de tungstênio à frente de um espelho de vidro e são similares às utilizadas em projetores de slides e refletores odontológicos, são de baixa tensão (12 V), o que exige a presença de um transformador, e tornam-se de cor azul quando o feixe de luz branca emitido passa por filtros ópticos existentes nos aparelhos fotopolimerizadores, localizados entre a lâmpada halógena e o cabo de fibras ópticas ou haste transmissora de luz (modelos tipo pistola, mais modernos). Dessa forma, o filtro procura eliminar a luz com comprimentos de onda

menores de 400 nm, situada próximo da região ultravioleta, que contribui muito pouco para o processo de cura dos materiais e, ainda, é prejudicial aos tecidos e aos olhos¹². Da mesma forma, elimina a luz com comprimento de ondas acima de 550 nm que, além de muito pouco contribuir para o processo de cura, gera muito calor, o que pode afetar a integridade do órgão pulpar e dos tecidos moles vizinhos.

Os efeitos da luz azul emitida por um aparelho fotopolimerizador sobre a pele do lábio do coelho foram descritos (PETROUCIC et al, 2004), entretanto, é escassa, a literatura existente sobre os efeitos causados por esse comprimento de onda de luz visível emitida pelos aparelhos fotopolimerizadores atuais (intensidade de 400 mW/cm² a 1.200 mW/cm²) sobre os olhos quer do profissional, quer da equipe assistente que, muitas vezes, trabalham sem os óculos de proteção apesar de preconizado pela American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) (CALKINS e HOCHHEIMER, 1980), fica difícil explicar corretamente algumas alterações clínicas como: olhos vermelhos, cefaléia, cansaço visual, sensação de corpo estranho e dor nos olhos, além de não estar ainda definido o que é seguro ou perigoso em relação ao tempo de exposição.

Dessa forma, considerando o exposto e nossa ansiedade clínica e científica, fomos motivados a estudar os efeitos dessa luz, que tem um comprimento de onda que a torna da cor azul e que é emitida por aparelhos fotopolimerizadores que utilizam lâmpadas halógenas com intensidades próximas a 450 mW/cm² o que condiz com a realidade dos aparelhos utilizados pela quase totalidade dos cirurgiões–dentistas, e quais seriam as possíveis alterações causadas sobre os olhos dos seres vivos após tempos pré-estabelecidos de exposições.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 21 coelhos adultos, da raça Nova Zelândia, brancos, pesando em torno de 2,5Kg e com idade de 4 meses, provenientes do Setor de Cunicultura do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, dotadas de comedouros fixos e bebedouros auto-

máticos, recebiam alimentação e água ad libitum e foram divididos em 2 grupos:

1. Grupo controle: constituído por 3 animais que não foram expostos à luz emitida pelo aparelho fotopolimerizador e permaneceram em seus viveiros até serem sacrificados;

2. Grupo tratado: constituído por 6 subgrupos de 3 animais cada, que foram submetidos à exposição da luz emitida pelo aparelho fotopolimerizador, na seguinte conformidade:

Subgrupo-2.1

olho direito - uma aplicação de 10 segundos;

olho esquerdo – uma aplicação de 30 segundos.

Subgrupo-2.2

olho direito-10 segundos diariamente durante 7 dias;

olho esquerdo - 30 segundos diariamente durante 7 dias.

Subgrupo-2.3

olho direito- 2 minutos diariamente durante 7 dias;

olho esquerdo – 3 minutos diariamente durante 7 dias.

Subgrupo-2.4

olho direito- 4 minutos diariamente durante 7 dias;

olho esquerdo – 5 minutos diariamente durante 7 dias.

Subgrupo-2.5

olho direito-10 minutos diariamente durante 30 dias;

olho esquerdo – 20 minutos diariamente durante 30 dias

Subgrupo-2.6

olho direito-10 minutos diariamente durante 180 dias;

olho esquerdo – 20 minutos diariamente durante 180 dias.

Os animais eram mantidos em caixas de madeira, desenvolvidas especialmente para cunicultura, as quais tinham um único furo que mantinha a cabeça do animal do lado de fora da caixa, limitando ao seus movimentos.

A emissão da luz foi proporcionada por dois aparelhos fotopolimerizadores novos (Ultraluxâ-Dabi Atlante), que apresentavam intensidade de luz próxima de 500 mW/cm², após 5 segundos do início da iluminação.

Durante a exposição à luz, a ponteira óptica era mantida cerca de 10 cm de distância dos olhos dos animais.

Em períodos superiores a 50 segundos de exposição localizada, a aplicação obedecia o seguinte esquema: olho direito 50 segundos, olho esquerdo 50 segundos; em seguida retornava a aplicação ao olho direito e assim por diante, até completar, no máximo, seis aplicações em cada olho. A seguir o animal permanecia por 30 minutos sob luz ambiente, para receber novas aplicações até completar o tempo total diário.

A cada 30 minutos de exposição, a intensidade da luz do aparelho era testada e a lâmpada substituída quando a intensidade fosse inferior a 420 mW/cm². A alimentação dos animais foi renovada diariamente quando então eram observados o seu comportamento, o seu estado geral e as suas condições oculares, sendo descartados os que apresentavam qualquer tipo de alteração de ordem geral e substituídos por outros animais.

Após 24 horas da última aplicação pré-estabelecida para cada grupo, os animais foram sacrificados por inalação excessiva de éter sulfúrico e os globos oculares removidos com auxílio de bisturi, tesoura e pinça cirúrgicas. Os globos oculares foram fixados em líquido de Bouin por 24 horas, a 4°C. Após a fixação, os globos oculares foram processados para inclusão em parafina. As peças foram cortadas com 5µm de espessura, coradas pelo método da hematoxilina e eosina e examinadas em microscopia de luz. Por análise comparativa entre as peças provenientes dos animais tratados e controle procurou-se verificar a presença de possíveis alterações nas estruturas do olho, em particular na córnea, na íris e na retina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na descrição das estruturas do olho, foram considerados o epitélio anterior, o estroma e o epitélio posterior da córnea, a íris e, na retina, a camada de células ganglionares, a camada nuclear interna dos neurônios bipolares e a camada nuclear externa dos núcleos dos cones e bastonetes.

1. Grupo Controle

Córnea – o epitélio anterior mostrou-se do tipo pavimentoso estratificado não queratinizado, constituído por três a quatro camadas de células, sendo as da camada basal cilíndricas baixas com núcleo para-basal arredondado ou ligeiramente alongado no sentido do longo eixo da célula e as células das camadas mais superficiais cada vez mais achatadas com núcleos que acompanhavam essa morfologia.

O estroma constituía, praticamente, 90% da espessura da córnea e era composto por várias camadas de placas de fibras colágenas não muito espessas, dispostas paralelamente entre si em cada placa. As placas apresentaram diferença de orientação e ligadas de maneira oblíqua umas em relação às outras e entre elas havia grande número de núcleos de fibroblastos, alongados dispostos paralelamente a elas. Não havia presença de vasos ou pigmentos e alguns linfócitos devem ter migrado por difusão.

O epitélio posterior da córnea era do tipo pavimentoso simples, com núcleos achatados e dispostos paralelamente a essa superfície (Figura 1)

Íris- apresentou grande quantidade de vasos de pequeno calibre na sua parte posterior e a superfície anterior revestida por epitélio pavimentoso simples, irregular, com cristas e sulcos; abaixo desse epitélio, havia um tecido conjuntivo frouxo, pouco vascularizado mais superficialmente e altamente vascularizado na sua parte mais profunda. Revestindo-a posteriormente havia uma camada epitelial celular dupla (Figura 2).

Retina- a camada de células ganglionares apresentou-se como uma camada única com disposição nuclear mais para apical, de forma arredondada. Na camada nuclear interna, dos neurônios bipolares, havia de quatro a cinco fileiras de células arredondadas com escassa quantidade de citoplasma, núcleos superpostos e de tamanho intermediário.

A camada nuclear externa, região dos cones e bastonetes, mostrou-se constituída por seis a sete fileiras de células, com núcleos pequenos, arredondados, de difícil individualização e escassa quantidade de citoplasma (Figura 3).

2. Grupo Tratado

Córnea- pela análise dos resultados encontrados na córnea dos animais do grupo tratado, foi possível verificar que houve repetição do quadro encontrado quando da análise dos animais do grupo controle, apesar da variação na metodologia empregada no tratamento entre os grupos. A córnea apresentou o epitélio anterior formado por quatro a cinco fileiras de células do tipo pavimentoso estratificado; o estroma constituído por fibras colágenas delicadas que acompanhavam a direção do contorno ocular, ligeiramente oblíquas umas em relação às outras, com fibroblastos de núcleos alongados entre elas; o epitélio corneano posterior do tipo pavimentoso simples (Figuras 4, 5 e 6)

Íris- mostrou externamente um epitélio pavimentoso simples recobrimdo um tecido conjuntivo frouxo, altamente vascularizado na sua parte mais profunda e internamente um epitélio estratificado com duas fileiras de células, a mais interna com núcleos alongados e perpendiculares à superfície e a mais externa com núcleos arredondados e volumosos. (Figuras 7, 8 e 9).

Retina- a camada de células ganglionares apresentou núcleos volumosos, próximos uns dos outros ou às vezes, espaçados, conforme a área analisada. A camada nuclear interna mostrou aproximadamente quatro fileiras de núcleos de tamanho intermediário. Os núcleos da camada nuclear externa, de pequenos tamanhos, apresentaram-se muito juntos e de difícil individualização (Figuras 10, 11 e 12).

Não foram encontradas nos olhos dos animais tratados características de áreas lesadas ou de infiltrados inflamatórios.

Desde o aparecimento do primeiro sistema fotopolimerizador que utilizava a luz ultravioleta, com comprimento de onda variando entre 320 nm e 360 nm, houve a preocupação dos pesquisadores com as possíveis alterações patológicas que essa luz poderia provocar nas estruturas vitais próximas à resina que estava sendo polimerizada, como a gengiva e os dedos das mãos dos profissionais ou mesmo com os olhos das pessoas que trabalhavam com esse tipo de aparelho (BIRDSELL et al., 1977; GLADSTONE e TASMAN, 1978; PARRISH, 1975; ROISENBLATT, 1999; SPENCER

e AMONETTE, 1998) principalmente, pterígio, fragmentação do epitélio corneano, fotoceratite, opacificação do cristalino, retinite, degeneração macular, pois tal sistema fotopolimerizador vinha adquirindo um número cada dia maior de usuários.

O aparecimento do sistema de fotopolimerização de resina composta, inicialmente com luz ultravioleta e atualmente com luz azul, promoveu uma verdadeira revolução nos consultórios, na relação paciente/profissional/ indústria, no desenvolvimento de novas técnicas restauradoras e de pesquisa.

Todas essas alterações decorrentes da evolução tecnológica produziram mudanças radicais em vários aspectos da odontologia restauradora, resultando numa acen-tuada importância do fator estético somado à racionaliza-ção do tempo de trabalho nas atividades profissionais do cirurgião-dentista. A evolução técnica caminhou no senti-do de prevenir possíveis problemas que a luz ultravioleta, devido ao seu pequeno comprimento de onda, pudesse ocasionar aos olhos dos que se beneficiavam desse siste-ma fotorestaurador.

Surgiram, então, novos aparelhos fotopolime-rizadores com emissão de luz visível, com comprimentos de onda maior (400 a 520 nm), que, além de minimizarem os efeitos da luz ultravioleta, aumentaram o poder de pe-netração nos materiais fotopolimerizáveis, melhorando as suas propriedades. As lâmpadas halógenas utilizadas nes-ses aparelhos são de menor custo e têm uma vida útil maior do que as lâmpadas com o bulbo de mercúrio (ERIKSEN et al, 1987; POLLACK e LEWIS, 1984).

Mesmo os aparelhos atuais, que utilizam lâmpadas halógenas de alta intensidade luminosa emitem luz em di-ferentes comprimentos de onda, que vão desde o ultravioleta ao infravermelho, (CALKINS e HOCHEIMER, 1980; FAN et al., 1987; FERRACANE et al., 1986), que poderiam causar problemas nos olhos ou na pele. Mesmo que com menor escala de agressividade precisam ter os efeitos da luz por eles emitida bem estu-dados, para que medidas de segurança possam ser toma-das conscientemente, (BARGHI et al., 1994; BIRDSELL et al., 1977), face à sua marcante utilização nas ativida-des clínicas de consultório e tendência a aumentar no fu-turo.

O modelo dos aparelhos evoluiu com a tecnologia e a necessidade de utilização variada, passando de apare-lhos tipo bancada, geradores de muito calor, para modelos tipo pistola, nos quais a ponta óptica rígida e curta trans-mite uma intensidade de luz sem considerável perda,(APARELHOS FOTOPOLIMERIZADORES, 2000; ERIKSEN et al., 1987; ROCK, 1974) que são mais simples de operar. Tal evolução dos aparelhos vai ao encontro da busca de um equipamento que polimerize com mais eficiência, seja de mais fácil utilização, de custo mais baixo e que use menor tempo para foto- polimerizar os materiais.

Os efeitos fototóxicos produzidos pela emissão de luz ultravioleta foram minimizados pelo aumento do com-primento da onda proporcionado pela luz azul produzida pelas lâmpadas halógenas. Entretanto, permanecem obs-curas as possíveis alterações sobre os olhos que poderi-am resultar do uso crescente dessa nova forma de polimerização. Por meio de comprovações científicas que medem o espectro das radiações emitidas pelas lâmpadas halógenas, foi possível verificar uma grande quantidade de comprimentos de onda, incluindo as UVB e UVC (BLOOM et al, 1996; VOLLMER, 2000), cancerígenas quando a irradiação é feita muito próxima da pele por lon-gos períodos (ELDER, 1974; PADILHA GONÇALVES, 1984; PAUSTENBACH, 1987; SPENCER e AMONETTE, 1998), além de possuírem uma ação des-truidora sobre o olho humano (ROISENBLATT, 1999).

Para tornar-se de cor azul, a luz emitida pelas lâm-padas halógenas passa por filtros ópticos que eliminam as ondas infravermelho (CASTRO et al., 2000; COSTA et al., 1996) e ultravioleta, a intensidade do calor (CAS-TRO et al., 2000) e são polarizadores para a cor azul. Juntos esses filtros, aparentemente, eliminaram totalmen-te os comprimentos de onda que poderiam causar altera-ções nas estruturas dos olhos dos coelhos por nós subme-tidos à ação da luz, uma vez que não foram verificados, neste trabalho, efeitos lesivos sobre as mesmas após 180 dias de exposição à luz, 20 minutos diariamente, em expo-sições intercaladas.

A córnea é um dos tecidos que mais se renovam no organismo, e a presença de mitoses é uma constante para renovar a camada de células do seu epitélio anterior que

se encontra exposto ao meio ambiente; está permanentemente sujeita a cortes, abrasões e outros tipos de lesões e, por tratar-se do primeiro filtro de luz do olho, a córnea está sujeita a problemas provocados por estímulos luminosos (ARIAS, 1993; CALKINS e HOCHEIMER, 1980; GRAYSON, 1979).

O aparecimento de pterígio em animais que foram submetidos a longos tempos de exposição à luz pode ter surgido como resposta do organismo na tentativa de filtrar a luz ultravioleta (MIRANDA e GARCIA, 1985). A fragmentação nuclear do epitélio corneano ou a perda de coesão entre o epitélio corneano e o estroma, a fotoceratite, foram descritas em olhos de primatas (BIRDSSELL et al., 1977; CALKINS e HOCHEIMER, 1980; FLANNERY e FISHER, 1979; HAM e MOON, 1978) ou de coelhos (MATIELLO, 1987; MOSES, 1981) expostos à luz de um aparelho de solda, que emite vários tipos de comprimento de ondas. Já os aparelhos fotopolimerizadores, possuem filtros bloqueadores e ainda se encontram a uma distância relativamente segura dos olhos do profissional e do assistente e o paciente não o observa em ação (ELLINGSON et al., 1986; PARRISH et al., 1975). Estas observações são corroboradas pelos nossos resultados, considerando-se a ausência de alterações histológicas na córnea quando da comparação entre os achados dos animais controle e tratados.

A córnea não é um bom filtro térmico e ondas de comprimento próximo ao infravermelho podem atingir a íris, constituída por um tecido conjuntivo frouxo bastante vascularizado, revestida em ambas as superfícies por tecido epitelial que funciona como escudo natural contra comprimentos de onda entre 300 nm e 400 nm (MOSES, 1981; PETROUCIC et al., 2004). A íris é uma estrutura bastante resistente, capaz de permanecer ilesa, tanto quanto a córnea, sob severas condições de iluminação (ADAM, 1991; BURTON, 1998), o que foi também observado neste trabalho.

O aparecimento de queimaduras na retina devido ao aumento da temperatura ocular (FLANNERY e FISHER, 1979; HAM et al., 1984; MOSELEY et al., 1987; VAN BEST et al., 1997) pode ocorrer quando o epitélio pigmentar retiniano absorver energia luminosa

capaz de elevar sua temperatura em torno de 10°C (HAM et al., 1984). Tais observações não estão em consonância com os nossos achados, pois as características das células da camada ganglionar, da camada nuclear interna e da camada nuclear externa não apresentaram diferenças de forma ou de espessura, o que poderia indicar sinal de alteração (ADAM, 1991); não foram encontradas nas retinas dos animais tratados áreas lesadas ou que apresentassem sinais de ruptura, degeneração ou infiltrados inflamatórios, indicando que não houve agressão grave sobre as mesmas. Não encontramos também, quer vacuolização das células das camadas da retina o que é descrito em olhos de primatas como efeito da luz ultravioleta e da luz azul de pequeno comprimento de onda refletidas pela neve, levando à cegueira da neve, (GLADSTONE e TASMAN, 1978; MESSNER et al., 1978; SLINEY, 1983) quer degeneração macular senil que se traduz por falta de padrão de normalidade (ADAM, 1991; ELLINGSON et al., 1986; MIRANDA e GARCIA, 1985; SLINEY e WOLBORSHT, 1980).

Como a agressão térmica sobre o olho pode ocorrer quando uma luz de baixa intensidade e de longa duração é potencializada por comprimentos de onda de pequeno comprimento, abaixo de 500 nm, é prudente observar as diretrizes determinadas para proteção dos olhos do cirurgião-dentista (AMERICAN DENTAL ASSOCIATION, 1985), como o uso de óculos, raquetes e ponteiros que filtram a luz ultravioleta e a azul de pequeno comprimento de onda e, ainda, anulam a alta intensidade luminosa.

Os filtros dos atuais aparelhos fotopolimerizadores impedem a passagem de comprimentos de onda superiores a 550 nm, os quais não beneficiam o processo de cura dos materiais (AMERICAN DENTAL ASSOCIATION, 1985), porém aumentam a temperatura dos tecidos, informação que reforça os nossos achados, pois, ao lado de não termos encontrado alterações nas estruturas do olho analisadas, muitas das alterações descritas na literatura são atribuídas ao aumento da temperatura ao nível dos tecidos. O aumento da temperatura levaria, no mínimo, ao aumento do fluxo sanguíneo e conseqüente vaso-dilatação, o que não foi por nós observado nas estruturas do olho, nem nas da pele conforme estudo realizado utilizando-

do metodologia semelhante (PETROUCIC et al., 2004).

Os resultados encontrados neste trabalho, face à ausência de alterações das estruturas analisadas falam favoravelmente ao contínuo e provável aumento da utilização dos aparelhos fotopolimerizadores na clínica odontológica, em função da maneira como eles são utilizados e de como a luz atinge o olho do profissional, de seus auxiliares e do próprio paciente.

CONCLUSÃO

Com base na metodologia empregada e nos resultados encontrados neste trabalho pôde-se concluir que a luz emitida pelo fotopolimerizador não causou alterações identificáveis na córnea, na íris ou na retina do olho do coelho.

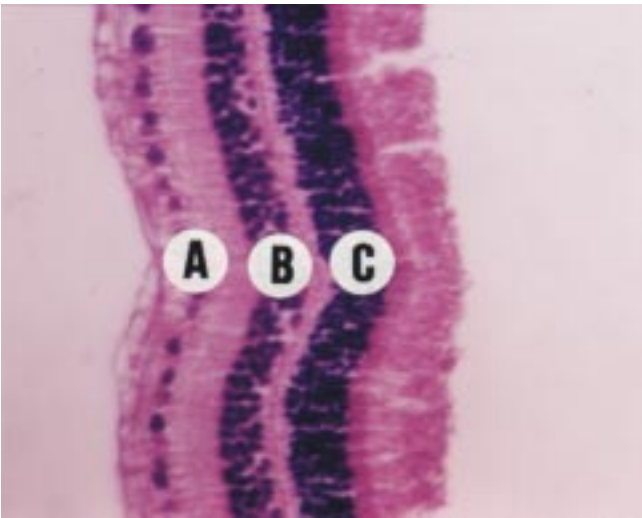


Figura 3 - Grupo 1. Animal controle: retina H-E 66X A – Células ganglionares; B – Camada nuclear interna; C – Camada nuclear externa

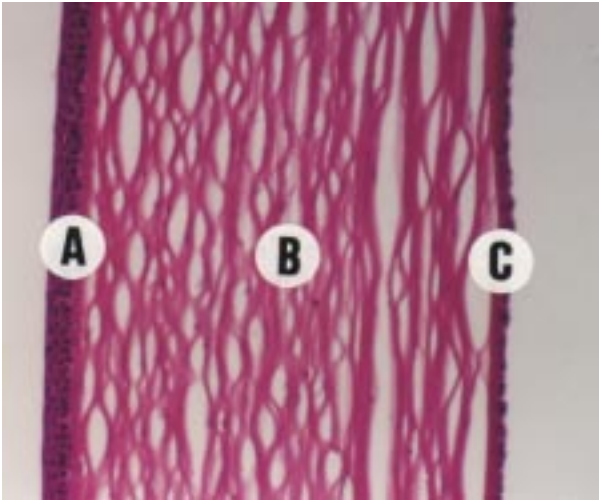


Figura 1 – Grupo 1. Animal controle: córnea H-E 66X A – Epitélio anterior; B – Estroma; C – Epitélio posterior

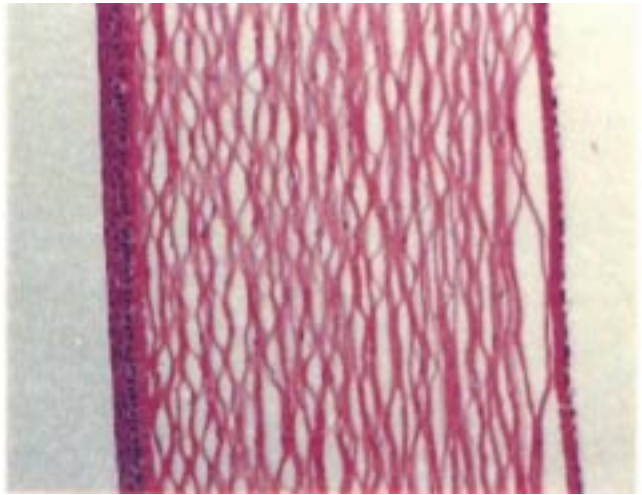


Figura 4 – Grupo 2. Animal tratado: córnea 30 segundos diariamente durante 7 dias HE 66X

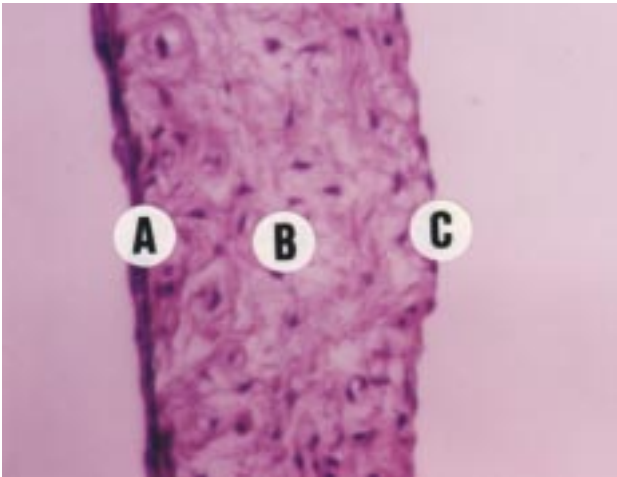


Figura 2 - Grupo 1. Animal controle: íris H-E 66X A – Superfície posterior; B – Tecido Conjuntivo; C – Superfície anterior

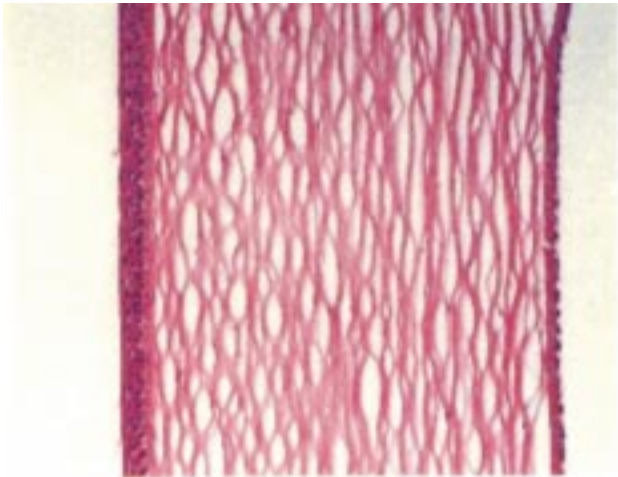


Figura 5 – Grupo 2. Animal tratado: córnea 5 minutos diariamente durante 7 dias HE 66X

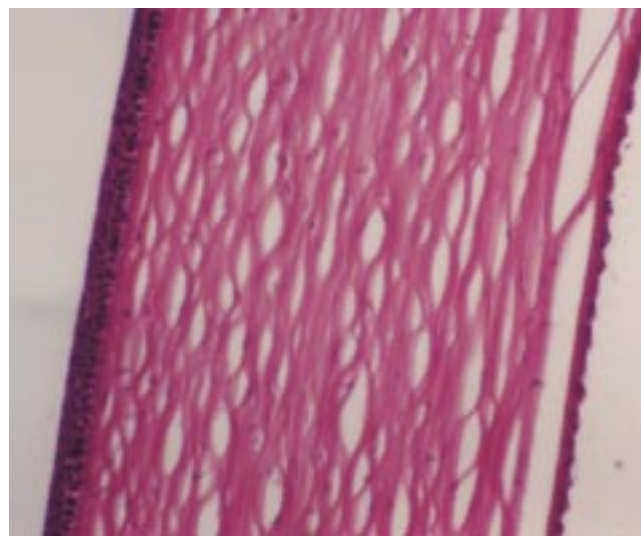


Figura 6 – Grupo 2. Animal tratado: córnea 10 minutos diariamente durante 180 dias HE 66X

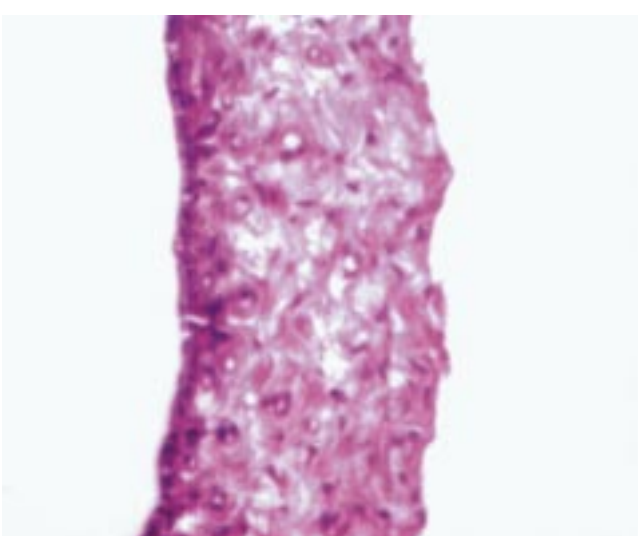


Figura 9 – Grupo 2. Animal tratado: íris 20 minutos diariamente durante 180 dias HE 66X

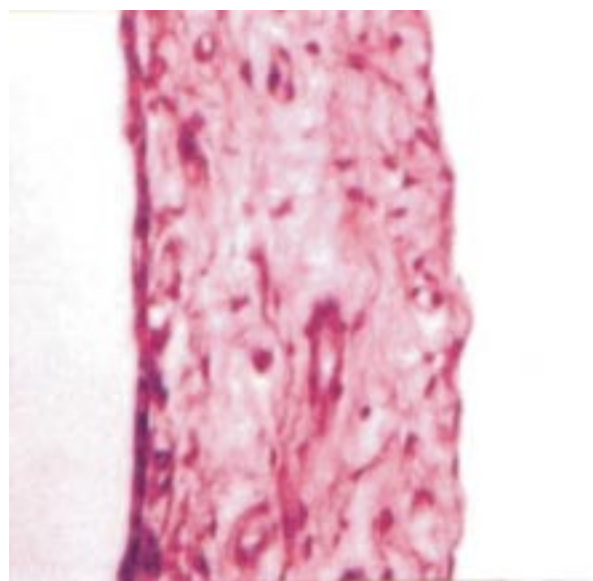


Figura 7 – Grupo 2. Animal tratado: íris 30 segundos diariamente durante 7 dias HE 66X

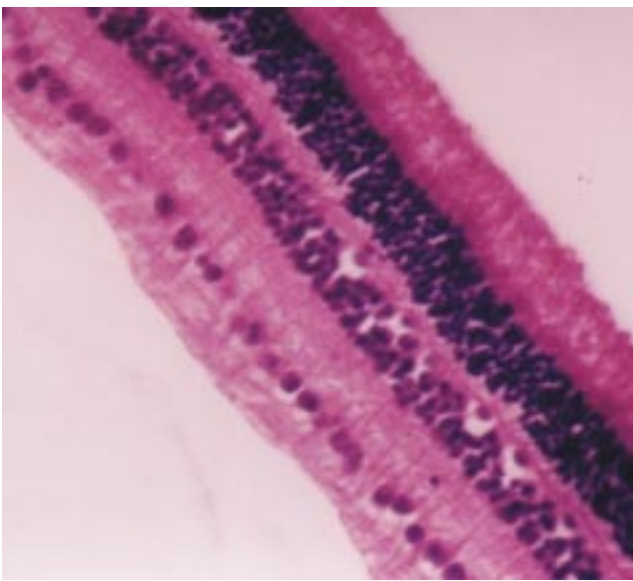


Figura 10 – Grupo 2. Animal tratado: retina 30 segundos durante 7 dias HE 66X

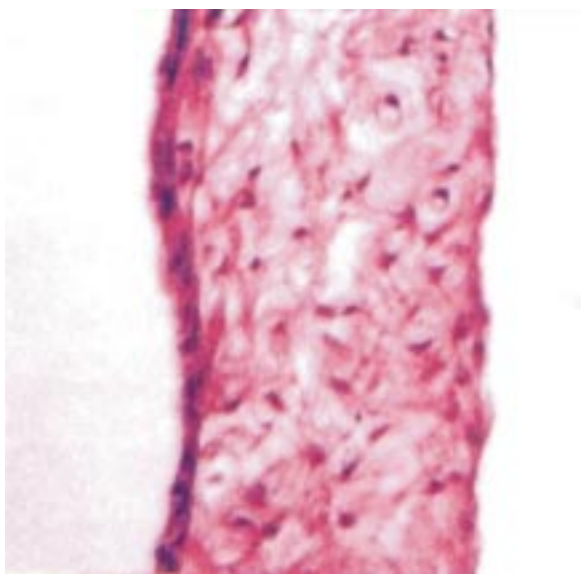


Figura 8 – Grupo 2. Animal tratado: íris 20 minutos diariamente durante 30 dias HE 66X

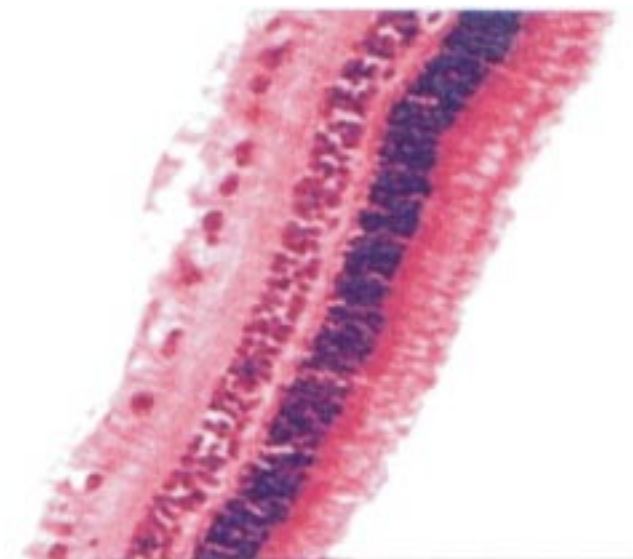


Figura 11– Grupo 2. Animal tratado: retina 20 minutos diariamente durante 30 dias HE 66X

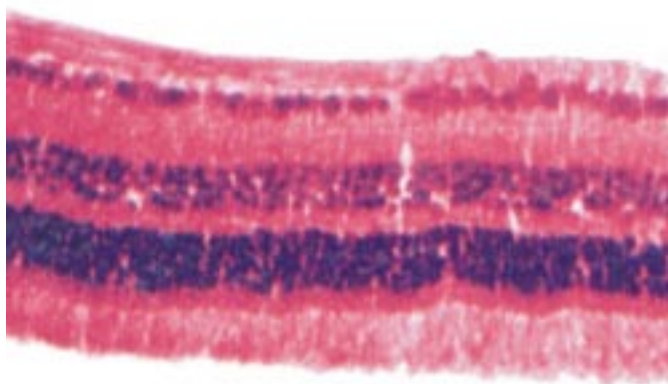


Figura 12 – Grupo 2. Animal tratado: retina 10 minutos diariamente durante 180 dias HE 66X

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM NETO A. Efeitos agudos da luz fluorescente sobre as estruturas do bulbo ocular. Ribeirão Preto, 1981. 64p. Dissertação (Mestrado em Oftalmologia) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. Council of Dental Materials. Instruments and Equipment. Visible light-cured composites and activating units. J. Am. Dent. Assoc., 1985, 110: 100 – 3.

APARELHOS FOTOPOLIMERIZADORES. The Dental Advisor, 2000,7, (2): 16-17.

ARIAS MLA. Efectos lesivos potenciales de la luz de polimerización sobre el órgano de la visión Rev. Fac. Odont. Univ. Antioquia, 1993, 4(2): 31–7.

BARGHI N, BERRY T, MALTON C. Evaluating intensity out put of curing lights in private dental offices. J. Am. Dent. Assoc., 1994, 259: 92-6.

BIRDSSELL DC, BANNON PJ, WEBB RB. Harmful effects of near ultraviolet radiation used for polymerization of a sealant and a composite resin, J.Am.Dent.Assoc., 1977,94: 311–4.

BLOOM E et al. Phototoxicity. Dermatology, 1996, 193::207– 11.

BURTON JF. Presbyopia and the dentist: the effect of age on clinical vision. Int.Dent.J., 1990.40: 303-12.

CALKINS JL, HOCHEIMER BF. Retinal exposure from ophthalmoscopes, slit lamps and overhead surgical lamps. An analysis of potencial hazards. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1980, 19: 1009–15.

CASTRO FLA, CRUZ CAS, ESTRELA C.. Avaliação da intensidade de energia luminosa e do calor produzidos por aparelhos fotopolimerizadores. Rev. Bras. Odontol. 2000, 57.

COSTA LJ, PINTO RHR, MARCUCCI G.. Xeroderma pigmentosa: aspectos gerais e apresentação de casos clínicos. RPG.1996, 3: 123–6.

CULLEN AP, CHOU BR, AHMEDBHAN N. Light-curing units and protective filters. J.Can Dent. Assoc. 1986, 11:939-41

ELDER RL.Hazard of ultraviolet radiation from fluorescent lamps to infant during phototherapy. J. Pediatr. 1974, 84: 145.

ELLINGSON OL, LAND RJ, BOSTROM RG. An evaluation of optical radiation emissions from dental visible photopolymerization devices. J. Am. Dent. Assoc. 1986, 112: 67–72.

ERIKSEN P et al. Optical hazard evaluation of dental curing lights. Community Dent. Oral Epidemiol., 1987, 15: 19 –201.

FAN P et al. Irradiance of visible light-curing units and voltage variation effects. J. Am. Dent. Assoc. 1987, 115: 442–5.

FERRACANE JL et al. Relationship between shade and depth of cure for light-.activated dental composite resins. Dent. Mater, 1986, 2: 80–4.

FLANNERY JG, FISHER SK. Light triggered red – disc shedding in xenopus retina in vitro. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1979, 18: 638 – 40.

GLADSTONE GJ., TASMAN W. Solar retinitis after minimal exposure. Arch. Ophthalmol. 1978, 96: 1368 – 9.

GRAYSON M. Disease of the cornea. St. Louis: C.V. Mosby, 1979, 191,274,.

HAM JR WT. et al. Basic mechanisms underlying the production of photochemical lesions in the mammalian retina. *Curr. Eye Res.* 1984, 3: 165 – 74.

HAM JR WT, MOON ME Histologic analysis of photochemical lesions produced in rhesus retina by short wavelength light. *Invest. Ophthalmol .Vis. Sci.*, 1978, 17: 1029 –35.

MATIELLO D. Retinal damage after prolonged exposure to visible light. *Am. J. Ophthalmol.* 1987, 109: 65 –7.

MESSNER KH, MAISELS MJ, LEURE–DUPREE AE.. Phototoxicity to the newborn primate retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1978, 17: 178 – 82.

MIRANDA M, GARCIA R. Retinal Stimuli in ocular accomodation. *Bol. Asoc.Med.PR.* 1985, 77: 368 – 70.

MOSELEY H, STRANG R, MACDONALD I. Evaluations of the risk associated with the use of blue light polymerizing sources. *J. Dent.*, 1987, 15: 12 – 5.

MOSES RA. Alder’s physiology of the eye. St. Louis: Mosby, 1981, 40 – 58.

PADILHA GONÇALVES A. Dermatites elastótica solaris. *Arch. Dermatol.*, 1984, 120: 1613 –9.

PARRISH JA, PITTS DG, URBACH F. Safety of an ultraviolet – emitting instrument used in dentistry for polymerising resin systems I. *Dentsply International*, 1975.

PAUSTENBACH DJ. Accessing the potencial human heath risk of contaminated soil. *Cosmments Toxicol* 1987, 1: 184 – 220.

PETROUCIC F, FONTANA UF, HETEM S, FONTANA CR – Efeitos da luz visível emitida por um aparelho fotopolimerizador sobre a pele do lábio de coelho. *Rev. Odontol UNESP*, 2004, 33 (3): 101 – 8.

POLLACK BF, LEWIS HL. Visible light curing generators: an update. *Gen. Dent.*, 1984, 32: 193 – 7.

ROCK WP. The use of ultra – violet radiation in dentistry. *Br. Dent. J.*, 1974, 136: 455 – 8.

ROISENBLATT J. CUIDE – se bem: profissional saudável não tem idade. *Rev. Ass. Paul. Cir. Dent.*, 1999, 53; 85 – 97.

SLINEY DH. Eye protective techniques for bright lights. *Ophthalmology*, 1983, 90: 937 – 44.

SLINEY DH, WOLBORSHT ML.. Safety satandards and measurement techniques for high intensity light sources. *Visin Res.*, 1980, 20: 1133 – 41.

SPENCER JM, AMONETTE R. Tanning beds and skin cancer: artificial sun + old skin = real risk. *Clin. Dermatol.*, 1998. 16: 487 – 501.

VAN BEST JA et al. Function and morphology of the retinal pigment epithelium after light – induced damage. *Microsc Tes. Tech.*, 1997, 36: 77 – 88.

VOLLMER S. Trabalhos frente a computadores. *Rev. CIPA*, 2000: 56 – 8.

PRODUÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS POR VIA ENZIMÁTICA: REVISÃO DOS PRINCÍPIOS TECNOLÓGICOS DO PROCESSO

Parte 1: Aspectos nutracêuticos e características da tecnologia atual de hidrólise

PRODUCTION OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS BY ENZYMATIC ROUTE: REVIEW OF THE TECHNOLOGICAL ASPECTS

Part 1: Nutraceutical aspects and characteristics of the current hydrolysis technology

Larissa FREITAS¹, Tânia BUENO¹, Victor H. PÉREZ¹, Julio C. SANTOS¹, Heizir F.de CASTRO*¹

1 - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo - Rod. Itajubá-Lorena, km 74,5, 12600-970, CP 116, Lorena-SP - E-mail: decastro@dglnet.com.br

RESUMO

A aplicação da tecnologia enzimática em óleos e gorduras desempenha um importante papel na substituição dos processos químicos tradicionais. Entretanto, a hidrólise enzimática desses materiais, ou lipólise é um processo ainda não bem elucidado e seu domínio tecnológico pode permitir a produção de ácidos graxos com alto valor agregado e baixo consumo energético. O presente trabalho tem por objetivo revisar os conceitos tecnológicos

envolvidos na produção de ácidos graxos especiais (ômega 3 e 6) para fins industriais, utilizando lipase como biocatalisador, enfatizando os aspectos nutracêuticos e as rotas de obtenção desses ácidos.

Palavras-chave: óleo vegetal, hidrólise enzimática, lipases, ácidos graxos poliinsaturados.

ABSTRACT

The application of the enzymatic technology for oil and fat modifications can be considered a useful tool to replace the traditional chemical processes. However, the enzymatic hydrolysis these materials or lipolysis is not a well elucidated process and its better understating can allow producing fatty acids with high added value and low energy consumption. The aim of this work was to review the

technological concepts involved in the polyunsaturated fatty acids (PUFAs) production (omega 3 and 6) using lipase as biocatalyst, given special attention to the nutraceutical aspects and various methods to produce these fatty acids.

Keywords: vegetable oil, enzymatic hydrolysis, lipases, polyunsaturated fatty acids.

INTRODUÇÃO

A produção mundial anual de óleos e gorduras em 2000 foi da ordem de 107 milhões de toneladas e para 2010 está prevista uma produção de 135 milhões de toneladas, um crescimento de 21%, o que torna essa classe de materiais importantíssima no contexto econômico internacional (KUEN SOON, 2001). Sua maior parte destina-se ao setor alimentício, no entanto, é crescente o interesse de obter produtos químicos de maior valor agregado a partir dessas matérias químicas (CASTRO et al., 2004).

Um dos primeiros passos para a obtenção de derivados químicos de óleos vegetais é a hidrólise, que conduz a glicerol, mono e diglicerídeos e uma mistura de ácidos graxos. As transformações de óleos e gorduras são predominantemente baseadas em processos químicos convencionais (ROONEY e WEATHERLEY, 2001). No caso da hidrólise, o processo mais utilizado é o Colgate-Emery, que opera sob temperaturas e pressões elevadas, ocasionando reações secundárias que exigem posteriores operações de separação e purificação (GUNSTONE, 1999; ROONEY e WEATHERLEY, 2001).

A hidrólise enzimática de óleos e gorduras constitui-se numa alternativa que procura superar os inconvenientes associados aos processos químicos. Utilizando lipases e promovendo a reação em condições brandas de temperatura e pressão é possível obter produtos com baixo custo energético (GANDHI, 1997; GUNSTONE, 1999; CASTRO et al., 2004). Adicionalmente, a utilização de lipases no processamento de óleos e gorduras ultrapassa os interesses da simples hidrólise, contemplando diversas transformações como esterificação e interesterificação (NASCIMENTO et al., 2001; CASTRO et al., 2004). Esta habilidade catalítica tem sido explorada tanto para substituir processos existentes quanto para produzir uma série de produtos originalmente considerados como praticamente inviáveis de serem obtidos por via química convencional (NASCIMENTO et al., 2001).

Em vista deste grande potencial, pesquisas voltadas a esta área têm relatado a aplicação crescente de métodos enzimáticos visando a obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados, a partir de óleos de diferentes fontes, embora esta tecnologia ainda não esteja operando em escala industrial. Neste contexto, o pre-

sente trabalho descreve os aspectos tecnológicos envolvidos no processo enzimático de obtenção destes ácidos graxos, os quais possuem elevado valor agregado e podem ser obtidos a partir de substratos de fácil disponibilidade comercial. Serão abordadas questões referentes às aplicações nutraceuticas destes ácidos graxos, bem como limitações tecnológicas do processo de hidrólise.

Fontes de ácidos Graxos Poliinsaturados

Os componentes mais expressivos dos óleos e gorduras são os triglicerídeos e suas propriedades físicas dependem da estrutura e distribuição dos ácidos graxos presentes (CLAUSS, 1996). Os óleos e gorduras naturais podem ser o único constituinte de um produto ou podem fazer parte da mistura de diversos constituintes em um composto. Existem casos, entretanto, que se torna necessário modificar as características desses materiais, para adequá-los a uma determinada aplicação. Portanto, esse setor industrial, tem desenvolvido diversos processos para manipular a composição das misturas de triglicerídeos (CASTRO et al., 2004; WARD e SINGH, 2005).

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos obtidos, geralmente, da hidrólise de óleos e gorduras. Estes são classificados em saturados, monoinsaturados e poliinsaturados, dependendo da presença e número de duplas ligações na cadeia dos ácidos graxos (CARVALHO et al., 2003).

Há dois grupos distintos de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa: a série ômega 3 (ou n-3), na qual a primeira dupla ligação, a partir do grupo metil terminal, está localizada entre o terceiro e o quarto átomo de carbono na cadeia do ácido graxo e a série ômega 6 (ou n-6), na qual a primeira dupla ligação é observada entre o sexto e o sétimo átomo de carbono na cadeia do ácido graxo.

Os ácidos graxos podem ser sintetizados no organismo do ser humano, com exceção dos ácidos linolênico (ômega 3) e linoleico (ômega 6). Entretanto, estes possuem funções indispensáveis ao metabolismo. A partir destes ácidos graxos são sintetizados outros ácidos (poliinsaturados) de importância fundamental para o organismo: o ácido araquidônico (formado por dessaturação e alongamento da cadeia do ácido linoleico), o ácido

eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA) - ambos formados por dessaturação e alongamento da cadeia do ácido linolênico (HORNSTRA et al., 1995; BROADHURST et al., 1998). O EPA é um precursor do DHA. Assim, estes ácidos graxos são considerados essenciais para o organismo e devem estar presentes na dieta.

As fontes dos ácidos graxos ômega 3 e 6 (BROADHURST et al., 1998) são:

Ômega 3:

- ácido linolênico: encontrado em folhas verdes e em sementes oleaginosas, como também na semente da linhaça, mostarda e óleo de soja.

- ácido docosahexaenóico (DHA) e ácido eicosapentaenóico (EPA): presentes principalmente em peixes de águas frias (como a cavala, o arenque e o salmão). Os peixes brancos magros (como o bacalhau e o linguado) contêm apenas pequenas quantidades de DHA e EPA (SCHMIDT e DYERBERG, 1994). O DHA apresenta 22 carbonos na cadeia com seis duplas ligações (22:6, ômega 3) e o EPA apresenta 20 carbonos, com cinco duplas ligações (20:5, ômega 3).

Ômega 6:

- ácido linoleico: encontrado em sementes oleaginosas (por exemplo, nozes, pistaches, amendoins, sementes de abóbora) e óleos vegetais (por exemplo, algodão, milho, girassol, soja, canola). Devido a grande quantidade de alimentos a base de óleos vegetais, o ácido linoleico é muito mais prevalente nas dietas atuais que no passado.

- ácido araquidônico: os alimentos mais ricos são a gema do ovo, as vísceras e a carne de animais terrestres e também na carne dos peixes tropicais.

Aspectos Nutracêuticos dos Ácidos Graxos Poliinsaturados

Os ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 e 6 podem influenciar em uma ampla variedade de funções biológicas porque são incorporados às membranas celulares, onde são elementos lipídicos estruturais de importância, sendo fundamentais na formação de novos tecidos, além de serem essenciais para o crescimento e manutenção das funções fisiológicas do organismo.

Os dois tipos não são interconvertíveis e podem

até antagonizar a ação um do outro. Por exemplo, como competem entre si por determinadas enzimas, a presença do ômega 6 pode inibir a produção de alguns metabólitos do ômega 3, incluindo os precursores dos eicosanóides (LANDS, 1986). Desta forma, alterações nas proporções desses ácidos na dieta podem levar a alterações profundas nos processos biológicos que envolvem os eicosanóides (prostaglandinas e tromboxanos), incluindo a inflamação e a coagulação do sangue. Assim, os ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 e 6 influenciam nas funções bioregulatorias importantes do organismo, sendo essenciais para a saúde humana.

Os ácidos ww-3 (ácido linolênico) e ww-6 (ácido linoleico) são fundamentais na prevenção e no tratamento das doenças cardiovasculares além de outras atuações importantes na hipertensão arterial, diabetes, artrites e doenças autoimunes (CARVALHO et al., 2003). Esses ácidos graxos são também empregados em terapia farmacológica, potencializando o efeito de certas drogas e no crescimento e no desenvolvimento de crianças (CARVALHO et al., 2003).

Após a ingestão, os ácidos graxos, são absorvidos pelas células e tecidos e podem ser dessaturados ou alongados a outros ácidos poliinsaturados de cadeia longa. Os processos de alongação e dessaturação do ácido linoleico e linolênico ocorrem nos animais e, vagarosamente, nos homens originando diversos metabólitos, como representado na Figura 1 (CARVALHO et al., 2003; ZAREVÚCKA et al., 2003).

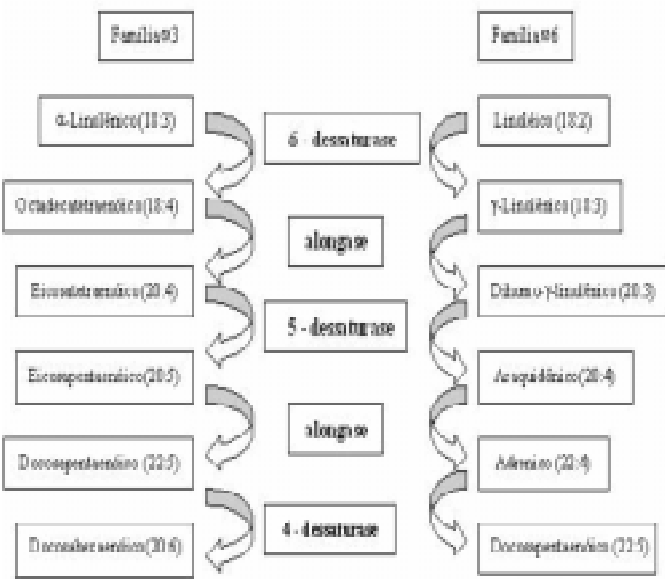


Figura 1. Metabolismo de ácidos graxos essenciais

Embora os ácidos graxos poliinsaturados possam ser sintetizados no corpo a partir da biotransformação dos ácidos graxos essenciais por reações de alongação e dessaturação, a ingestão direta dos metabólitos ativos tem se mostrado eficiente, principalmente para gestantes, idosos, lactantes, crianças prematuras (INNIS, 2000) e para indivíduos que apresentem insuficiência da enzima DD6-dessaturase, decorrente de carências nutricionais ou do próprio envelhecimento (CARVALHO et al., 2003).

O mercado mundial apresenta uma gama bastante ampla de suplementos alimentares (encapsulados) de ácidos graxos poliinsaturados, principalmente ww3 e ww6 e de produtos, nos quais estes ácidos são incorporados, em leite e derivados, fórmulas lácteas infantis, pães, ovos, massas e sucos de frutas. A Tabela 1 apresenta uma lista parcial de empresas que estão pesquisando, desenvolvendo, manufaturando ou comercializando produtos contendo ácidos graxos essenciais (WARD e SINGH, 2005).

Em vista deste grande potencial, pesquisas voltadas a esta área têm relatado a aplicação de diferentes métodos físicos, químicos e enzimáticos visando à obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados, a partir de óleos vegetais e marinhos.

Tabela 1. Listagem de algumas empresas que estão pesquisando, desenvolvendo, manufaturando ou comercializando produtos contendo ácidos graxos essenciais

Aventis S.A.
BASF A.G.
Gist-brocades
Heinz-Wattie's
Hoffmann-LaRoche A.G.
Jamieson
Laboratórios Ordesa
Maarbarot
Martek Inc.
Mead Johnson Nutritionals
Nagase and Co.
Nestle S.A.
Novartis
Nutricia
Nutrinova Celanese A.G.
Pronova
Ross Products (Div of Abbott)
Suntory Ltd.

Fonte: WARD e SINGH (2005).

Óleos Vegetais como Fonte de Ácidos Poliinsaturados

O ácido linoleico (ww-6) é o ácido graxo poliinsaturado mais abundante, presente em diversos óleos vegetais como de soja, girassol, canola e milho (Tabela 2). Entretanto, o ácido linolênico (ww-3) só é encontrado em porcentagens superiores a 5% nos óleos de soja e canola. Os EPA (ácido eicosapentaenóico, C20:5) e DHA (ácido docosahexaenóico, C22:6) estão presentes tanto em óleos marinhos como os de atum, sardinha e baleia (CARVALHO et al., 2003), como também em alguns óleos vegetais, em menores concentrações, sendo o óleo de soja o que apresenta a maior concentração (8,3%).

Entre os diversos óleos vegetais, o de soja pode ser destacado pela grande abundância no Brasil. A soja é uma planta de origem oriental consumida em larga escala nos países asiáticos, sob as mais diversas formas. Nos Estados Unidos da América do Norte e no Brasil, é a principal fonte de matéria-prima para a extração de óleo vegetal comestível para uso na alimentação humana.

A cultura da soja no Brasil ocupa uma posição de destaque, com uma previsão de produção de mais de 62 milhões de toneladas de grãos na safra 2005/2006, o que representará em torno de 10,1 milhões de toneladas de óleo. A principal utilização da soja é a obtenção do óleo comestível e do farelo para ração animal. Seus grãos possuem em média, 40% de proteína, sendo uma alternativa à proteína de origem animal, pelo elevado teor nutritivo, baixo conteúdo de gorduras e não contêm colesterol nem lactose.

Tabela 2. Estrutura química e porcentagem de ácidos graxos presentes em diferentes óleos vegetais

Ácido Graxo			Óleo Vegetal			
Nome	Estrutura	Fórmula	Soja	Girassol	Canola	Milho
Mirístico	14:0	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	0,1	0	0	0
Palmitico	16:0	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	10,5	7,0	5,1	11,5
Estearico	18:0	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	3,2	3,3	2,2	2,2
Oléico	18:1	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	22,3	14,3	57,7	26,6
Linoleico	18:2	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	54,5	75,4	22,5	58,7
Linolênico	18:3	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	8,3	0	6,9	0,8
Eicosanóico	20:0	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	0,2	0	0	0,2
Eicosenóico	20:1	C ₂₀ H ₃₉ O ₂	0,9	0	0	0

Fonte: SONNTAG (1979).

HIDRÓLISE DE ÓLEOS E GORDURAS

Triglicerídeos, em presença de água e catalisador, sofrem hidrólises reversíveis, liberando glicerol e ácidos graxos. Os catalisadores podem ser ácidos, bases ou enzimas lipolíticas e a esterificação é a reação inversa à hidrólise (DIECKELMANN e HEINZ, 1988).

Os catalisadores ácidos geralmente beneficiam as reações de esterificação, enquanto os catalisadores alcalinos formam sabões que se dissolvem rapidamente na fase glicerídeo, incrementando a velocidade de reação, especialmente em altas temperaturas (DIECKELMANN e HEINZ, 1988). A hidrólise enzimática por lipases é também denominada de lipólise (FENNEMA, 1993), enquanto a hidrólise por catalisador químico é denominada hidrólise química, cisão ou desdobramento. A cisão ou hidrólise dos triglicerídeos é representada na Figura 2 (MARKLEY, 1960).



Figura 2. Esquema global da hidrólise de triglicerídeos

A hidrólise de óleos e gorduras é uma reação de equilíbrio e caracteriza-se por um aumento gradual na velocidade de reação, devido ao aumento da solubilidade da água nos glicerídeos (mono e di). Os principais fatores que afetam esta reação são temperatura, tipo de catalisador, teor de água no meio reacional e a concentração de glicerol liberado na fase aquosa (DIECKELMANN e HEINZ, 1988). A reação procede em estágios, que ocorrem simultaneamente em velocidades diferentes. Nas reações de hidrólise química ou enzimática, os triglicerídeos são convertidos para diglicerídeos e monoglicerídeos e estes em glicerol e ácidos graxos. Todas essas reações são reversíveis.

Na indústria oleoquímica, geralmente são utilizados catalisadores químicos inorgânicos (Tabela 3), tempera-

turas (100 a 280°C) e pressões elevadas (700 psi). O catalisador promove uma maior solubilização dos ácidos graxos em água e um maior contato entre os reagentes, em decurso da formação de emulsões na etapa inicial do processo de hidrólise de glicerídeos (RITTNER, 1996). Na hidrólise química uma menor quantidade de cisão ocorre pela ação da água dissolvida na fase glicerídeo.

Tabela 3. Catalisadores químicos e inorgânicos

Catalisador	Índice de atividade
Óxido de zinco	6,0
Óxido de magnésio	3,1
Óxido de cálcio	2,3
Hidróxido de lítio	2,0
Hidróxido de sódio	1,7
Hidróxido de potássio	1,4
Hidróxido de amônia	1,1

Normalmente o rendimento da hidrólise química é superior a 97% e a mistura final deve ser destilada para remover os subprodutos formados durante a reação (RITTNER, 1996). A hidrólise química de óleos e gorduras é de caráter homogêneo e se desenvolve mediante a dissolução de água nos glicerídeos presentes. A água é mais solúvel nos ácidos graxos do que nos glicerídeos e a solubilidade aumenta com o incremento da temperatura (RITTNER, 1996).

MECANISMO DAS REAÇÕES DE HIDRÓLISE

O mecanismo da hidrólise dos óleos e gorduras é o mesmo dos ésteres de ácidos graxos e depende do tipo de catalisador, podendo ser ácidos (ácidos sulfônicos aromáticos), alcalinos (ZnO, MgO, CaO) ou enzimáticos (lipases) (BELITZ e GROSCH, 1985).

Na hidrólise alcalina, o íon hidróxido atua como nucleófilo e o mecanismo é de substituição nucleofílica, conforme esquematizado na Figura 3.

Na hidrólise ácida, o mecanismo é praticamente idêntico sendo que os prótons se ligam ao oxigênio da carbonila e tornam a molécula vulnerável ao ataque nucleofílico pela água (Figura 4).

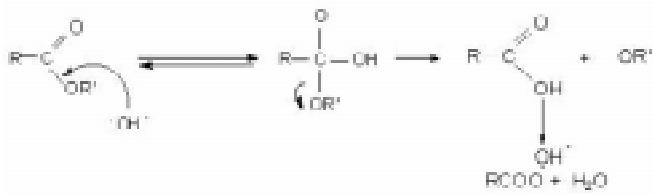


Figura 3. Esquema representativo da hidrólise alcalina de triglicerídeos

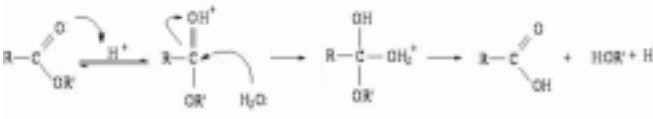


Figura 4. Esquema representativo da hidrólise ácida de triglicerídeos

Na hidrólise enzimática a reação é catalisada por lipases (EC 3.1.1.3), que compreendem um grupo de enzimas hidrolíticas que atuam na interface orgânica – aquosa, catalisando a hidrólise de ligações éster – carboxílicas de acilgliceróis para liberar ácidos orgânicos e glicerol, podendo a reação inversa (síntese) ocorrer em ambientes pobres em água (JAEGER e REETZ, 1998).

A hidrólise de ésteres de triglicerídeos ocorre por clivagem sequencial dos grupos acila no triglicerídeo (Figura 5), de tal forma, que num dado momento, a mistura reacional contém não somente triglicerídeos, água, glicerol e ácidos graxos, como também diacilgliceróis e monoacilgliceróis (GUSTONE, 1999; CASTRO et al., 2004).

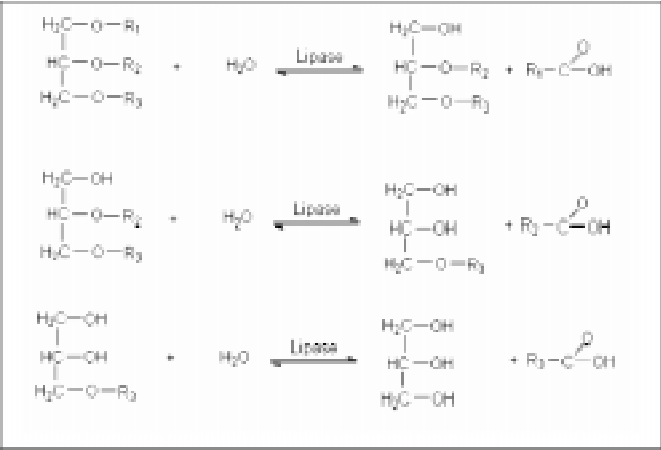


Figura 5. Esquema representativo da hidrólise enzimática de triglicerídeos

A hidrólise enzimática pode ser realizada em condições amenas (20 a 40 °C e pressão atmosférica), redu-

zindo o gasto energético em comparação aos processos físico-químicos. Nesta técnica, uma solução aquosa de lipase entra em contato com o óleo, formando uma dispersão líquido-líquido. A produção de ácidos graxos, por cisão enzimática compreende três etapas: preparo da enzima, formação da emulsão e separação do ácido graxo da água. A produção de ácidos graxos inicialmente é muito rápida devido a alta velocidade de formação $d(RCOOH)/dt$ e diminui com a mudança cinética da reação. Os ácidos graxos obtidos apresentam cor clara e podem ser separados da fase aquosa com uma solução ácida (RITTNER, 1996).

CONCLUSÃO

Neste trabalho foram discutidos os principais aspectos referentes à importância do consumo de ácidos graxos poliinsaturados na dieta humana. As características específicas da tecnologia de hidrólise atualmente empregada no setor industrial de óleos e gorduras também foram apresentadas. Em função das claras vantagens do emprego da tecnologia enzimática do ponto de vista de energético e os outros benefícios geralmente associados ao emprego de processos biotecnológicos, como a não geração de subprodutos ou resíduos tóxicos, o emprego de lipases tem despertado grande interesse como uma alternativa potencial para a obtenção de produtos de alto valor agregado, como os ácidos graxos poliinsaturados. Devida a complexa natureza do processo enzimático, informações mais específicas das características bioquímicas e cinéticas de lipases de diferentes fontes, bem como das particularidades referentes ao processo enzimático serão fornecidas em artigo complementar, visando facilitar um melhor entendimento da hidrólise enzimática de óleos e gorduras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. Química de los alimentos. 2 nd.ed. Zaragoza: Acribia, 1985. p. 75 –131 e 153 – 154.

BROADHURST, C. L.; CUNNANE, S. C.; CRAWFORD, M. A. Rift Valley lake fish and shellfish provided brain-specific nutrition for early Homo. British Journal of Nutrition, v.79, n. 1, p.3-21, 1998.

BROCKERHOFF, H., JENSEN, R. G. Lipolytic Enzymes, NY: Academic Press, 1974. p. 34-89.

BROCKMAN, H. L. General features of lipolysis: Reaction scheme, interfacial structure and experimental approaches. Borgstrom, B.; Brockman, H. L. ed. Lipases. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1984. p. 1- 46.

BUEHLER, M.; WANDREY, C. Continuous use of lipases in fat hydrolysis. *Feet Wissenschaft Technologie Fat Science Technology*, v. 89, n. 14, p. 598-605, 1987.

CARVALHO, P. D.; CAMPOS, P. R. B.; NOFFS, M. D.; OLIVEIRA, J. G.; SHIMIZU, M. T.; SILVA, D. M. Application of microbial lipases to concentrate polyunsaturated fatty acids. *Química Nova*, v. 26, n.1, p. 75-80, 2003.

CASTRO, H. F.; MENDES, A. A.; SANTOS, J. C.; AGUIAR, C. L. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. *Química Nova*, v. 27, n. 1, p. 146-156, 2004.

CLAUSS, J. Interesterificação de óleo de palma. *Óleos & Grãos*, v. 5, p. 31-37, 1996.

DIECKELMANN, G., HEINZ, H. J. The basics of industrial oleochemistry. A comprehensive survey of selected technologies based on natural oils and fats. 1ª ed. Mulheim/Ruhr, Germany: Peter Pomp GmbH, 1998. p.13 –37 e 177 – 180.

FENNEMA, O. R. *Química de los alimentos*. 2nd. ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 1993. p. 497 – 498.

GANDHI, N. N. Application of lipase. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.74, n. 6, p. 621-634, 1997.

GUNSTONE, F. D. Enzymes as biocatalysts in the modification of natural lipids, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.79, n. 12, p. 1535-1549, 1999.

HORNSTRA, G.; AL, M. D. M.; VON HOUWELINGEN, A. C. Essential fatty acids in pregnancy and early human development. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology*, v. 61, n. 1, p. 57-62, 1995.

INNIS, S. M. Essential fatty acids in infant nutrition: Lessons and limitations from animal studies in relation to

studies on infant fatty acid requirements. *Journal of the Clinical Nutrition*, v. 71, n.1, p. 238-244, 2000.

JAEGER, K. E.; REETZ, M. Microbial lipases from versatile tools for biotechnology, *Trends in Biotechnology*, v. 16, p. 396-403, 1998.

KUEN SOON, T. An overview of the Asean olechemical market. *Malasyan Oil Science and Technology*, v.10, p 59-71, 2001.

LANDS, W. E. M. *Fish and human health*. Orlando, FL: Academic Press, Chapter 18, 1986, p. 138-148.

MARKLEY, K. S. *Fatty acids: Their chemistry, properties, production, and uses*. 2 ed. New York: Interscience Publishers, 1960. p. 714.

NASCIMENTO, M. G.; COSTA NETO, P.R.; MAZZUCO, L. M. Biotransformação de óleos e gorduras. *Biotechnology Ciência e Desenvolvimento*, v. 17, p. 28-31, 2001.

RITTNER, H. Óleo de palma: Processamento e utilização. 1 ed. São Paulo, 1996. p. 311 – 320.

ROONEY, D.; WEATHERLEY, L.R. The effect of reaction conditions upon lipase catalysed hydrolysis of high oleate sunflower oil in a stirred liquid-liquid reactor. *Process Biochemistry*, v.36, n. 10, p. 947-953, 2001.

SCHMIDT, E. B.; DYERBERG, J. Omega-3 fatty acids. Current status in cardiovascular medicine. *Drugs*, v.47, n. 3, p. 405-424, 1994.

SONNTAG, N. O. V. Structure and composition of fats and oils. *Bailey's industrial oil and fat products*. 4 nd. ed. New York : Swern, D. John Wiley and Sons, 1979. p. 1-343.

WARD, O. P.; SINGH, A. Omega -3/6 fatty acids: Alternative sources of production. *Process Biochemistry*, v.40, n.12, p.3627-3652, 2005.

ZAREVÚCKA, M.; VACEK, M.; WIMMER, Z.; STRÁNSKÝ, K.; DEMNEROVÁ, K. Enzymic transformations of blackcurrant oil: Enrichment with gamma linolenic acid and alpha linolenic acid. *Chemicke Listy*, v. 97, n. 4, p. 206-213, 2003.

PRODUÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS POR VIA ENZIMÁTICA: REVISÃO DOS PRINCÍPIOS TECNOLÓGICOS DO PROCESSO

Parte 2: Importantes aspectos da alternativa biotecnológica

PRODUCTION OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS BY ENZYMATIC ROUTE: REVIEW OF THE TECHNOLOGICAL ASPECTS

Part 2: Important aspects on the biotechnological alternative

Larissa FREITAS¹, Tânia BUENO¹, Victor H. PÉREZ¹, Julio C. SANTOS¹, Heizir F.de CASTRO*¹

1 - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo - Rod. Itajubá-Lorena, km 74,5, 12600-970, CP 116, Lorena-SP E-mail: decastro@dglnet.com.br

RESUMO

No artigo anterior foram descritos os aspectos nutracêuticos dos ácidos graxos poliinsaturados, bem como as diversas rotas de obtenção desses ácidos. Neste presente trabalho, são abordadas as particularidades da via biotecnológica, que apresenta claras vantagens quando comparada ao processo químico. Devida a complexa natureza do processo enzimático, inicialmente são fornecidas informações sobre as características das lipases de diferentes fontes e suas propriedades bioquímicas e cinéticas, visando facilitar um melhor entendimento da hidrólise enzimática de óleos e gorduras. Essa descrição

é complementada pela análise de alguns dos fatores que podem afetar esta reação, com ilustração de exemplos de processos hidrolíticos catalisados por lipases a partir de lipídeos de diferentes fontes. Para fornecer uma visão geral desse processo, algumas alternativas referentes à etapa de separação dos ácidos graxos obtidos por hidrólise enzimática são também revisadas.

Palavras-chave: óleo vegetal, hidrólise enzimática, lipases, ácidos graxos poliinsaturados.

ABSTRACT

In the previous article, nutraceutical related aspects of polyunsaturated fatty acids and various methods to produce these fatty acids were reviewed. In the present work, special emphasis is given to the biotechnological route, which has many advantageous compared to the chemical process. Considering the complex features of the enzymatic process, information regarding to the characteristics of lipases from different sources and their biochemical and kinetic properties is, initially, given aiming to provide tools to better understand the enzymatic hydrolysis of oils and

fats. This is complemented by analyzing variables that can influence the enzymatic process giving also examples of the lipase mediated hydrolytic processes from different lipid sources. For the overall appreciation of this process, alternatives for the separation of the fatty acids produced by enzymatic hydrolysis were also reviewed.

Keywords: vegetable oil, enzymatic hydrolysis, lipases, polyunsaturated fatty acids.

INTRODUÇÃO

A hidrólise de óleos e gorduras por via química apresenta elevado custo energético, uma vez que requer o uso de condições drásticas de pressão e temperatura. Além disso, a inespecificidade dos catalisadores metálicos empregados resulta em reações secundárias, o que encarece o processo global em vista da necessidade de etapas de purificação mais intensivas (GUNSTONE, 1999; ROONEY e WEATHERLEY, 2001). Além disso, dentro do contexto mundial da busca de rotas ambientalmente amigáveis, é fundamental a busca por rotas de produção alternativas, entre as quais destacam-se as biotransformações. Assim, a hidrólise enzimática de óleos e gorduras catalisada por lipases tem despertado grande interesse de diversos pesquisadores e indústrias.

O procedimento usual da hidrólise enzimática é realizado em reatores agitados, contendo gordura na fase líquida e solução aquosa da enzima. A duração global do processo é de aproximadamente 72 h, sendo alcançadas taxas de conversão variando entre 90-95% e concentrações finais de glicerol na fase aquosa entre 10-20%. A empresa japonesa Miyoshi Oil and Fat Co adota esse processo em escala industrial para produção de sabão, utilizando lipase de *Candida rugosa* (CASTRO et al., 2004).

Do ponto de vista comercial, a reação de hidrólise de óleos e gorduras catalisada por lipase, é aparentemente menos econômica que a técnica convencional. Entretanto, considerando a possibilidade da obtenção de produtos específicos de alto valor agregado, como por exemplo, ácidos graxos poliinsaturados dos tipos ômega-3 e ômega-6, a partir da hidrólise de óleos vegetais ou marinhos por lipases, este tipo de processo pode tornar-se viável economicamente (GUNSTONE, 1999; CASTRO et al., 2004; WARD e SINGH, 2005).

No artigo anterior, foram discutidos os principais aspectos referentes à importância do consumo de ácidos graxos poliinsaturados na dieta humana. As características específicas da tecnologia de hidrólise atualmente empregada no setor industrial de óleos e gorduras também foram revisadas. No presente trabalho, em função das vantagens da hidrólise enzimática, serão abordados os principais aspectos relacionados com a utilização de lipases como catalisadores para obtenção de ácidos graxos poliinsaturados.

Lipases

A definição clássica de lipases descreve estas enzimas como glicerol éster hidrolases (E.C. 3.1.1.3) que atuam sobre ligações ésteres presentes em acilgliceróis, liberando ácidos graxos e glicerol (JAEGER e REETZ, 1998), constituindo uma classe especial de esterases. As esterases (E.C. 3.1.1.1) são enzimas largamente distribuídas na natureza e sua atividade enzimática está restrita à hidrólise de ligações ésteres em substratos solúveis em água.

A diferenciação entre lipases e esterases, entretanto, ainda não está completamente definida. Sarda e Desnuelle (1958) definiram as lipases a partir de sua característica cinética: a propriedade de ativação na presença de substratos insolúveis em água e emulsionados, ou seja, na presença de uma interface lipídeo/ água. Segundo estes autores, as lipases seriam ativadas na presença de ésteres emulsionados, enquanto as esterases não apresentariam esta ativação, exercendo sua função hidrolítica sobre substratos solúveis em água.

As lipases têm sido definidas, nos trabalhos mais recentes, simplesmente como carboxilesterases que hidrolisam acilgliceróis de cadeia longa, ou seja, com cadeia acila com mais de 10 átomos de carbono. Enzimas que apresentam capacidade de apenas hidrolisar acilgliceróis de cadeia menor que 10 carbonos são tidas genericamente como esterases (JAEGER e REETZ, 1998).

A diferenciação entre lipases e esterases também tem sido feita pela diferença de especificidade preferencial dessas duas enzimas. Os substratos naturais para lipases são óleos e gorduras contendo triacilgliceróis constituídos de ácidos graxos de cadeia longa, ou seja, ligações ésteres tríplexes, enquanto esterases atuam sobre ligações ésteres únicas, liberando ácidos graxos de baixa massa molar (BROCKMAN, 1984). Deve-se enfatizar, entretanto, que a maioria das lipases podem hidrolisar os substratos de esterases, enquanto o inverso não é verdadeiro (JAEGER e REETZ, 1998).

Um grande número de livros textos e artigos referentes à produção de lipases e suas aplicações estão disponíveis (GANDHI, 1997; FABER, 1997; KAZLAUSKAS e BORNSCHEUER, 1998; SHARMA et al., 2001; CASTRO et al., 2004).

Fontes de Lipases

As lipases encontram-se largamente distribuídas na natureza, isto é, em animais, vegetais e microorganismos. Apresentam massa molecular entre 25-75 kDa com cerca de 300 resíduos de aminoácidos. São glicoproteínas, nas quais a parte glicosilada hidrofóbica circunda o sítio ativo. As lipases provenientes de microorganismos são as mais utilizadas industrialmente porque além de apresentarem procedimentos mais simples de isolamento a partir do caldo fermentativo são, geralmente, mais estáveis e com propriedades bem mais diversificadas que as lipases de outras fontes. São em sua maioria extracelulares, favorecendo sua extração, isolamento e purificação (BROCKMAN, 1984). As lipases microbianas podem ser produzidas por leveduras dos gêneros *Candida* e *Torulopsis* (BENZONAN e ESPOSITO, 1971), pelos fungos filamentosos *Rhizopus*, *Geotrichum* (IWAI et al., 1975) e *Humicola* (IBRAIM et al., 1987) e pelas bactérias do gênero *Pseudomonas* (SUGIURA et al., 1977) e *Staphylococcus* (ALFORD et al., 1964). De origem animal as mais utilizadas são as lipases de pâncreas de porco. As de origem vegetal são extraídas da soja, do centeio e do algodão (FABER, 1997).

Especificidade das Lipases

A literatura relata que a especificidade das lipases é controlada pelas propriedades moleculares da enzima, estrutura do substrato e por fatores que afetam a ligação enzima-substrato (JENSEN et al., 1983), como a seguir descrito:

- **Especificidade para substrato:** Essa característica se refere a diferentes velocidades de reação apresentadas por uma mesma lipase sobre triglicerídeos, diglicerídeos e monoglicerídeos, contendo ácidos graxos de cadeia longa ou curta. A lipase pancreática apresenta maior taxa de hidrólise sobre o triglicerídeo (TG) e a atividade hidrolítica vai decrescendo na ordem dos substratos 1,2 (2,3) diglicerídeo (DG), 1,3 – DG e 1 (3) monoglicerídeo (MG) (BROCKERHOFF e JENSEN, 1974). O aparecimento de 1,3 DG e 1 (3) MG é dado pela migração espontânea do grupo acila. KHAN et al. (1967), relatam que a lipase do leite apresenta maior atividade sobre a tributirina do que a trioleína, ao passo que a lipase do *Achromobacter*

lipolyticum exibe atividade oposta sobre aqueles substratos. Outra importante característica da especificidade para substrato está relacionada com a forma física do substrato, em solução ou emulsificada.

- **Especificidade posicional:** Essa propriedade é proporcionada pela capacidade em hidrolisar ésteres primários e secundários, com ou sem especificidade. A especificidade posicional em relação ao ácido graxo tem grande importância no emprego das enzimas lipolíticas na produção de ácidos graxos livres a partir de gorduras e óleos, nas reações de interesterificação de óleos e gorduras e na esterificação de ácidos graxos com álcoois.

Algumas lipases hidrolisam preferencialmente ácidos graxos esterificados nos carbonos 1 ou 3 do glicerol, liberando ácidos graxos e 1, 2 (2,3) – DG e 2 – MG. Os 1,2 (2,3) – DG e 1 (3) MG podem sofrer migração acila espontânea convertendo-se em 1-3-DG e 1(3)-MG, os quais são substratos para as lipases. Assim, incubações por tempos prolongados, podem levar a uma completa hidrólise do TG (BROCKERHOFF e JENSEN, 1974). A especificidade posicional 1,3 é observada nas lipases produzidas por *Aspergillus niger* e *Rhizopus delemar*, *Pseudomonas fragi*, *Humicola lanuginosa* e lipase pancreática (BROCKERHOFF e JENSEN, 1974).

- **Enzimas não específicas:** Existem lipases que não apresentam especificidade e todos os ácidos graxos, independentemente da posição no glicerol, são hidrolisados em concentrações equimolares. São incluídas as lipases do *Geotrichum candidum*, *Candida cylindracea*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas fluorescens* (MACRAE e HAMMOND, 1985).

Propriedades Bioquímicas

A maioria das lipases apresenta uma faixa ótima de atividade e estabilidade entre pH 6,0 e 8,0 e temperatura ótima para atividade máxima entre 40 e 60 °C (Tabela 1). Estas propriedades, entretanto, podem variar significativamente, dependendo da origem, ou mesmo entre isoformas produzidas por um mesmo microorganismo. Estas variações também dependem do método e do substrato utilizados e das condições do ensaio, como pH e temperatura, tornando difícil a comparação apenas com os dados disponíveis na literatura ou fornecidos pelos fabricantes.

Tabela 1. Propriedades bioquímicas de lipases de diferentes fontes

Propriedades	Fontes de lipases				
	<i>Candida rugosa</i>	Lipase pancreática	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Humicola lanuginosa</i>	<i>Rhizopus delemar</i>
Massa molecular (kDa)	65	50	54	27,5	44
Especificidade	não específica	1,3 específica	não específica	1,3 específica	1,3 específica
Temperatura ótima (°C)	40	45	40	60	-
pH ótimo	7,5	8,0	6,3	8,0	5,6
Termo-estabilidade (°C)	37 (pH 7)	40 (pH 8 por 30')	55 (pH 6 por 15')	60 (pH 8 por 20')	65 (pH 6 por 15')

Fontes: KAZLAUSKAS e BORNSCHEUER (1998); IWAI e TSUJISAKA (1984)

Propriedades Cinéticas

A velocidade de uma reação enzimática depende das concentrações da enzima e do substrato. A catálise enzimática baseada no estudo clássico de Michaelis-Menten é entendida como a análise quantitativa do efeito de cada um dos fatores que influenciam a atividade enzimática, e avaliada por meio do aumento ou redução da velocidade da reação catalisada. A atividade da enzima, portanto a cinética enzimática é determinada pela concentração da enzima, concentração de substrato e sua disponibilidade, concentração de co-fatores, concentração e tipo de inibidores (quando presentes), e ainda pH e temperatura.

A Equação 1 de Michaelis-Menten propõe o modelo acima citado, como modelo de reação enzimática para apenas um substrato. A partir deste modelo, foi deduzida uma equação, que permite demonstrar como a velocidade de uma reação varia com a concentração do substrato (BAILEY e OLLIS, 1986).

$$v = \frac{[S]}{[S] + k_m} V_{max}$$

(1)

em que: k_m = constante de afinidade de Michaelis-Menten;
 V_{max} = velocidade máxima da reação;
 $[S]$ = substrato.

Baseando-se nesta equação pode-se expressar graficamente, e representar o efeito da concentração de substrato sobre a velocidade de reação enzimática. O k_m de um substrato para uma enzima específica é característico, e fornece um parâmetro de especificidade deste substrato em relação à enzima. Quanto menor o k_m , maior a especificidade, e vice-versa.

Vários mecanismos têm sido propostos para reações de hidrólise catalisadas por lipases. O modelo cinético mais simples é baseado no clássico mecanismo de Michaelis-Menten aplicado a sistemas emulsificados óleo/ água (GAN et al., 2000; MALCATA et al., 1990). Entretanto, resultados de pesquisas recentes sobre lipases, têm mostrado que é necessário ter prudência na extrapolação de algumas características cinéticas e estruturais observadas para todas as lipases em geral. As atividades catalíticas de muitas enzimas lipolíticas medida na síntese de ésteres carboxílicos, os quais são parcialmente solúveis em água, apresentam diferentes perfis cinéticos, conforme pode ser observado na Figura 1.

Benzonan e Desnuell (1968) compararam as velocidades de lipólise de emulsões mais densas e menos densas e verificaram que as constantes de Michaelis-Menten diferem e não se relacionavam diretamente com as proporções massas/ volume do substrato. No entanto, quando a concentração do substrato foi expressa em área/ volume, as curvas de Lineweaver-Burk para as diferentes emulsões do mesmo substrato coincidiram, e um simples valor de k_m foi obtido independente do grau de dispersão do substrato.

A importância da determinação de um k_m interfacial tendo como dimensões área/ volume ao invés de massa/ volume foi, por outro lado, questionada por Gan et al., (2000), argumentando que a orientação da molécula éster na interface óleo/ água e a especificidade da enzima para o substrato são os fatores principais na determinação da velocidade de hidrólise. Isto torna claro para ambos os argumentos que o valor interfacial de k_m não tem significado se a interface lipídeo/ água comportar-se como uma superfície não específica. Essa situação é muito mais complexa se for considerado que a quantidade de enzima lipolítica adsorvida varia com as diferentes interfaces

lipídeo/ água.

Complicações adicionais podem ocorrer a partir da mudança da área interfacial durante o curso da reação lipolítica, devido, por exemplo, à formação de ácidos graxos livres. Consequentemente, as características físico-químicas do sistema emulsificado variam em função do tempo, resultando numa mudança da disponibilidade da interface pela enzima e de novos substratos. Devido a estas complexidades mencionadas, a verdadeira cinética da lipase num sistema bifásico dinâmico ainda não está completamente entendida.

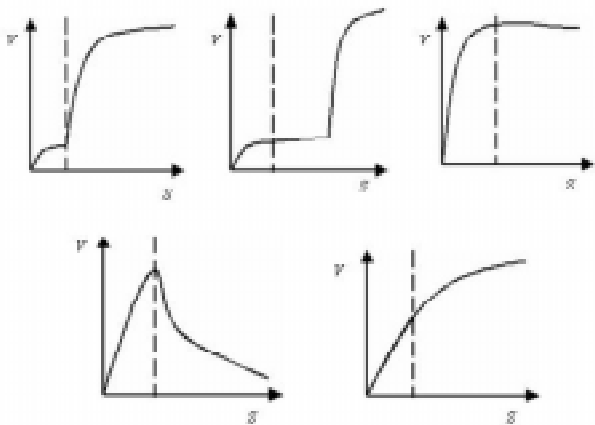


Figura 1. Velocidade de reação de hidrólise (V) em função da concentração do substrato (S) parcialmente solúvel em água. Linhas verticais representam a solubilidade máxima ou concentração miscelar crítica do substrato (éster) usado. Esses perfis observados para diferentes lipases foram baseados em resultados publicados (Adaptado de RANSAC et al., 1995)

Tabela 2. Parâmetros cinéticos da lipase de *Candida rugosa* em diferentes substratos

Substrato	k_m	V_{max}	Referência
Óleo de Oliva	11,9 mg/mL	24 U/mg	VIRTO <i>et al.</i> , 1995
	0,42 mM	38,5 U/mg	PEREIRA <i>et al.</i> , 2001
	560 mM	3938 U/mg	FREITAS <i>et al.</i> , 2003
Óleo de Palma	8,2 mM	1,3 U/mg	KNEZEVICK <i>et al.</i> , 1998
Óleo de Girassol	4,6 mg/L	1,11 g/L.h	GAN <i>et al.</i> , 2000

Hidrólise Enzimática de Óleos e Gorduras

Na Tabela 3 estão sumarizadas algumas pesquisas efetuadas nos últimos dez anos que demonstram o grande interesse na obtenção dos ácidos graxos saturados e poliinsaturados a partir de óleos e gorduras.

Os trabalhos pioneiros de hidrólise enzimática iniciaram-se com Bottino et al. (1967), que demonstraram que os componentes dos ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosaexaenóico (DHA) presentes em óleo de baleia resistiam à ação hidrolítica por lipase pancreática, resultando acilgliceróis parciais com níveis aumentados em ácidos graxos poliinsaturados (AGPI). Considerando que, em sua maioria, os AGPI dos óleos de peixe e outros óleos vegetais estão localizados na posição sn-2 do triacilglicerol (STAUFFERT, 2000) os acilgliceróis resultantes da hidrólise parcial por lipases com especificidade posicional sn-1 e sn-3 perdem os ácidos saturados e monoinsaturados normalmente presentes nestas posições, resultando em um aumento no conteúdo de AGPI e permitindo, por exemplo, a obtenção de sn-2 eicosapentaenol glicerol e sn-2 docosaexaenol glicerol após hidrólise com a lipase obtida de *Mucor miehei* (CARVALHO et al., 2003).

Na hidrólise enzimática de óleos e gorduras são mencionadas diversas lipases como catalisador, como por exemplo, *Aspergillus niger*, *Candida rugosa*, *Rhizopus arrhizus*, *Pseudomas* sp. e lipase pancreática, sendo mais aconselhável utilizar enzimas não específicas como *Candida rugosa*, porque hidrolisam as três posições do triglicerídeo (MUKHERJEE, 1995). As lipases com especificidade para as posições 1 e 3 convertem triacilgliceróis em diacilgliceróis 1,2 (2,3) e ácidos graxos. Os intermediários na posição 2 produzem, por migração do grupo acila, diglicerídeos e monoglicerídeos 1 ou 3. A migração do grupo acila ocorre devido à instabilidade química dos diglicerídeos (1,2) e (2,3) e um prolongado período de hidrólise leva ao acúmulo de glicerol e ácidos graxos com desaparecimento dos intermediários.A atuação da lipase inespecífica de *Candida rugosa* chegou a triplicar a concentração original de DHA após 60% de hidrólise do óleo de peixe. Isso foi atribuído à hidrólise preferencial de alguns ácidos saturados e poliinsaturados à possível “discriminação” desta enzima em relação ao DHA, baseado na especificidade quanto ao tipo de ácido graxo pela enzima (CARVALHO et al., 2003), ou, conforme descrito posteriormente, à especificidade da molécula inteira de TG que contenha o DHA. Esta lipase mostrou-se mais eficiente no enriquecimento de DHA do óleo de atum quando comparada com outras lipases inespecíficas obti-

das de *Aspergillus niger*, *Chromobacterium viscosum*, *Pseudomas* sp. e com lipase de *Geotrichum candidum* (específica de ácido graxo) e de *Rhizopus delemar* (sn-1,3 específica). Níveis superiores em AGPI ww3 a partir de óleo marinho foram também obtidos utilizando lipase de *Candida rugosa* na forma imobilizada (RICE et al., 1999).

Tabela 3. Exemplos de processos de hidrólise enzimática de lipídeos

Tipo de óleo ou gordura	Lipase	Proporção óleo: água	Condições reacionais	Objetivo	Referência
Óleo de babaçu	<i>Candida rugosa</i>	3:1	T = 45-55 °C, Tempo = 6-8 h [E] = 300 U/g de óleo Agitação = 650 rpm pH = 7,2 - 8,0	Seleção de lipase para hidrólise enzimática do óleo de babaçu e otimização do processo em reatores agitados	QUEIROZ <i>et al.</i> (1996)
Óleo de babaçu	<i>M. miehei</i> e <i>C. rugosa</i>	1:3 a 1:1,6	T = 45 °C [E] = 0,50 –1,67 g/m2 Meio Tamponado	Estudo de hidrólise enzimática do óleo de babaçu por lipase imobilizada em reator de membrana em regime contínuo	MERÇON <i>et al.</i> (1996)
Azeite de oliva	<i>Candida rugosa</i> imobilizada em Celite	1:8 1:4	T = 37 °C [E]=2 mg do sistema imobilizado Agitação = 120 rpm pH = 7,0	Parâmetros cinéticos da LCR na hidrólise enzimática do azeite de oliva	FADIOGLU e SOYLEMEZ, (1998)
Azeite de oliva	Lipase pancreática Sigma e Nuclear	1:4	T = 37 °C, pH = 8,0 Tempo = 3 h [E] = 1% em relação ao substrato	Determinação de um modelo experimental para reação de hidrólise empregando lipase pancreática	TORALLES, (1998)
Óleo de babaçu	Lipase FAP - Amano	1:5	T = 40°C Tempo = 1-31h [E] = 3-327 U/mL de emulsão	Otimização da hidrólise parcial do óleo de babaçu por planejamento fatorial	OLIVEIRA <i>et al.</i> (1999)
Óleo de pescado	Lipase pancreática-Sigma	1:4	T= 38 °C Tempo = 3h [E] = 1,22% em relação ao substrato	Estudo da viabilidade técnica para a produção de ácidos graxos essenciais a partir do óleo de pescado.	STAUFFERT, (2000)
Gorduras de fontes animais	<i>Candida rugosa</i> imobilizada em palha de arroz	1:1	T= 40 °C Tempo = 8h [E] = 0,50g Agitação = 200 rpm	Verificar o desempenho da lipase imobilizada na hidrólise de gorduras de animais com diferentes composições em ácidos graxos	FREITAS et al. (2003)

Outros AGPI importantes como linolênico e o ácido araquidônico, têm recebido considerável atenção. Hills et al. (1990), efetuaram uma série de estudos visando concentrar o ácido linolênico a partir de óleos vegetais. Os autores descreveram a hidrólise de óleo de prímula (*Oenothera biennis* L. contendo 9,5% de ácido linolênico) catalisada por lipase vegetal (*Brassica napus* L.). Nas frações MG e DG, o conteúdo de ácido linolênico resultante foi de 45 e 28%, respectivamente, demonstrando a resistência do ácido linolênico à atuação enzimática. Syed

Rahmatullah et al. (1994), relataram posteriormente que lipase de *Candida rugosa* também se mostrou eficiente para o enriquecimento de ácido linolênico após hidrólise parcial do óleo de semente de prímula (*Oenothera biennis* L.) e borragem (*Barogo officinallis* L).

Fatores que Interferem no Processo de Hidrólise Enzimática

Em geral, as lipases requerem uma ativação interfacial para sua total atividade catalítica, mecanismo este, originalmente estabelecido por Sarda e Desnuelle

(1958). Várias hipóteses têm sido propostas para explicar a ativação nas interfaces, incluindo: i) uma mudança conformacional induzida interfacialmente gerando uma enzima mais ativa (isso é explicado pelo fato de que nos sítios ativos de adsorção na interface, a lipase assume uma nova conformação espacial); ii) uma maior concentração do substrato local; iii) uma orientação mais favorável do substrato; iv) um menor grau de hidratação do substrato, tendo em vista que a hidratação das moléculas de lipídeos representa uma proteção às ligações ésteres.

A existência de uma interface (independente de sua natureza) é crítica, mesmo em presença de solventes hidrofóbicos existe uma pequena quantidade de água ao redor da estrutura da enzima e essa camada de hidratação no sítio ativo fornece a interface necessária local para a ativação da lipase. É importante ressaltar que, a atividade catalítica das lipases é sensivelmente reduzida na ausência de uma interface, o que é evidenciado pela baixa conversão das hidrólises de ésteres solúveis em água pelas lipases. Portanto, uma das principais dificuldades na compreensão do mecanismo da lipólise é devido ao fato da atividade das lipases depender fortemente de como os substratos lipofílicos são apresentados à enzima, isto é, das propriedades físicas da emulsão que é necessário estabelecer (BROCKMAN, 1984).

Diferentes parâmetros podem influenciar o desempenho da hidrólise de óleos e gorduras e, conseqüentemente diversas técnicas têm sido utilizadas para aumentar a taxa de hidrólise de óleos e gorduras usando lipases como catalisadores. Alguns aspectos estudados são (BUEHLER e WANDREY, 1987): i) Relação fase aquosa/ fase oleosa; ii) Eventual ação inibitória dos produtos formados; iii) Efeito dos íons cálcio e sódio na velocidade de reação; iv) Influência do tipo de agente emulsificante na cinética do processo e; v) Efeito da agitação na velocidade de reação.

Os sais exercem uma influência na atividade enzimática das lipases, podendo aumentar ou reduzir a sua ação hidrolítica. Dependendo da fonte de lipase, existem diferenças na atuação dos íons Ca^{2+} , Na^+ , Cl^- e sais biliares na atividade enzimática. No caso da lipase de pâncreas de porco, o NaCl parece ser essencial em concentrações de 7 mM, na qual mostra um máximo de ativida-

de. Para concentrações superiores a 7 mM a velocidade da reação decresce. É possível que o NaCl promova a ionização do ácido graxo em pH alcalino. Outras lipases como a do pâncreas bovino, não mostram essa necessidade (SHAHANI, 1975).

Com relação à influência dos íons cálcio, nos trabalhos pioneiros de Benzonan e Desnuell (1968), relativos a hidrólise enzimática de óleos, já se estudava o efeito de íons sobre a velocidade de reação. Em pesquisas posteriores alguns aspectos importantes sobre esse tema foram elucidados, comprovando a importância do papel de íons como o cálcio sobre a atuação no centro catalítico de alguns tipos de lipases (WANG et al., 1988). O íon cálcio pode estimular a catálise hidrolítica por lipases pelos seguintes mecanismos: i) pela ativação da lipase por meio da alteração da conformação da enzima; ii) pelo aumento da adsorção da lipase na interface óleo/ água; iii) pela remoção de ácidos graxos da interface óleo/ água de tal forma que a lipase pode agir em outras moléculas de água. Entretanto, dados descritos na literatura são contraditórios. Enquanto alguns trabalhos descrevem o íon cálcio como agente estimulante, outros relatam sua ação inibitória. Essa inconsistência pode resultar das diferentes condições testadas como pH e teor de cálcio, principalmente quando goma arábica é usada como agente tensoativo (cálcio é um possível contaminante de algumas preparações comerciais de goma arábica). Para concentrações de íons cálcio entre 0 e 5 mM, o efeito estimulante do íon cálcio foi mais significativo para reações conduzidas em pH 7 quando comparadas com reações realizadas em pH 5 (WANG et al., 1988).

O tipo de triglicerídeo também pode interferir na atividade de uma preparação de lipase, de acordo com sua especificidade e definido por Jensen et al. (1983), como uma diferença comparativa nas velocidades de catálises de certas reações. Por exemplo, se um substrato contém três diferentes ácidos graxos A, B e C, eles podem ser hidrolisados em três diferentes velocidades. O monitoramento da velocidade de aparecimento de A, B e C, permite determinar a velocidade aparente de A, B e C, tendo como vantagem verificar a habilidade da enzima em discriminar entre os diferentes ácidos graxos. Se A é hidrolisado mais rápido do que B, e B é hidrolisado mais

rápido do que C, então o produto da reação de hidrólise será uma mistura de fração de ácidos graxos, contendo principalmente A e B, uma quantidade mínima de C e uma fração de glicerídeos enriquecido em C. Um destes ácidos pode ser separado em duas frações com o objetivo de produzir o ácido graxo C, quando este for de interesse.

Separação dos Produtos obtidos por Hidrólise

Os ácidos graxos obtidos por hidrólise, geralmente podem ser submetidos a processos físicos de separação por destilação simples ou fracionada, solidificação e prensagem, cristalização fracionada direta ou em solventes (SONNTAG, 1984; HARALDSSON, 1991).

Os ácidos graxos purificados podem ainda ser submetidos a vários processos de transformação química como hidrogenação, esterificação, etoxilação, sulfatação, sulfonação, oxidação e condensação (MEFFERT, 1984; MARKLEY, 1960). O glicerol recuperado pode ser utilizado na indústria de cosméticos, fumo, adesivos, emulsificantes e na fabricação de resinas.

Em escala de laboratório a separação dos produtos da hidrólise, geralmente é efetuada por adição de solventes polares como clorofórmio ou diclometano. Na fase aquosa encontram-se o glicerol, os diglicerídeos e monoglicerídeos, enquanto na fase orgânica os ácidos graxos. A quantificação dessas frações pode ser efetuada por cromatografia de fase gasosa.

Cromatografia de fase gasosa separa os componentes voláteis de uma mistura, de acordo com suas tendências relativas entre adsorver-se no material inerte da coluna cromatográfica e a volatilizar-se e mover-se através da coluna, carregados por um gás inerte. Alguns glicerídeos são naturalmente voláteis, porém a maioria deve ser transformada em um derivado mais volátil. Para a análise e determinação dos ácidos graxos, por exemplo, estes devem ser inicialmente convertidos a ésteres metílicos e em seguida injetados em coluna cromatográfica apropriada (HARTMAN e LAGO, 1973). Os ésteres de ácidos graxos mais solúveis no material da coluna dissolvem-se nesse material e aqueles menos solúveis são carregados pela corrente de gás de arraste e emergem primeiro na coluna. Usando-se esta técnica, misturas de ácidos graxos com vários comprimentos de cadeia e vários

graus de insaturação, podem ser completamente separadas e quantificadas (FOWLIS, 1995).

CONCLUSÃO

Idealmente sistemas catalíticos com lipase devem ser tratados caso a caso e generalizações devem ser praticadas com cautela. Os maiores obstáculos na competição deste processo com a prática corrente da rota química são: o alto custo dos biocatalisadores e sua baixa estabilidade operacional. Entretanto, diversas formas de melhoramentos desta eficiência e redução dos custos operacionais estão sendo pesquisadas. O custo energético está aumentando; o que aumentará o custo dos processos químicos existentes, os quais exigem altas temperaturas operacionais. As vantagens do uso de enzimas associado ao sucesso de trabalhos de pesquisa assegurarão um brilhante futuro para aplicação da lipase.

Neste contexto, neste trabalho foram discutidas questões relevantes que podem afetar o processo de obtenção de ácidos graxos poliinsaturados a partir da hidrólise de óleos vegetais usando lipases, tais como: aplicações e mecanismo de reação de forma geral. Especial ênfase foi dada as características das lipases, tendo em vista seu complexo mecanismo de atuação. Embora as lipases pertençam ao grupo de enzimas de maior aplicação industrial, o enriquecimento de ácidos graxos essenciais é ainda um procedimento pouco elucidado. Desta forma, um melhor entendimento do processo de obtenção de ácidos graxos poliinsaturados por via enzimática constitui a maior contribuição deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFORD, J. A.; SUGGS, F. G.; PIERCE, D. A. Activity of microbial lipases on natural fats and synthetic triglycerides. *Journal of Lipid Research*, v.5, n. 3, p. 390, 1964.
- AL-ZUHAIR, S.; RAMACHANDRAN, K. B.; HASAN, M. High enzyme concentration model for the kinetics of hydrolysis of oil by lipase. *Chemical Engineering Journal*, v. 103, n. 1-3, p. 7-11, 2004.
- BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. *Biochemical Engineering Fundamentals*, 2 nd. ed. McGraw-Hill, 1986, p.180-222.

- BENZONAN, G., ESPOSITO, S. Positional and chain specificities of *Candida cylindracea* lipase. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 231, n. 1, p. 15-22, 1971.
- BENZONAN, G.; DESNUELL, P. Action of some effectors on hydrolysis of long-chain triglycerides by pancreatic lipase. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 164, n. 1, p. 47, 1968.
- BOTTINO, N. R.; VANDENBU, G. A.; REISER, R. Resistance of certain long chain polyunsaturated fatty acids of marine oils to pancreatic lipase hydrolysis. *Lipids*, v.2, n. 6, p. 489-493, 1967.
- BROCKERHOFF, H., JENSEN, R. G. *Lipolytic Enzymes*, Academic Press, (N.Y.), 1974. p. 34-89.
- BROCKMAN, H. L. General features of lipolysis: Reaction scheme, interfacial structure and experimental approaches. Borgstrom, B.; Brockman, H. L. ed. *Lipases*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1984, p. 1- 46.
- BUEHLER, M.; WANDREY, C. Continuous use of lipases in fat hydrolysis. *Fett Wissenschaft Technologie Fat Science Technology*, v. 89, n. 14, p. 598-605, 1987.
- CARVALHO, P. D.; CAMPOS, P. R. B.; NOFFS, M. D.; OLIVEIRA, J. G.; SHIMIZU, M. T.; SILVA, D. M. Application of microbial lipases to concentrate polyunsaturated fatty acids. *Química Nova*, v. 26, n.1, p. 75-80, 2003.
- CASTRO, H. F.; MENDES, A. A.; SANTOS, J. C.; AGUIAR, C. L. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. *Química Nova*, v.27, n. 1, p. 146-156, 2004.
- FABER, K. *Biotransformation in Organic Chemistry: A textbook*, 3 rd ed. Springer Produktions-Gesellschaft, Berlim, cap. 1,2 e 3, 1993.
- FADIOGLU, S.; SOYLEMEZ, S. Olive oil hydrolysis by Celite immobilized *Candida rugosa* lipase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, p. 3411-3414, 1998.
- FREITAS, L.; MENDES, A. A.; CASTRO, H. F. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação com lipase imobilizada em resíduo agroindustrial. *Anais da Associação de Brasileira de Química*, v. 52, n. 3, p. 124-128, 2003.
- FOWLIS, I. A. *Gas chromatography*, Analytical Chemistry, John Wiley, New York., 1995.
- GÁMEZ-MEZA, N.; NORIEGA-RODRÍQUEZ, J. A.; MEDINA-JUÁREZ, L. A.; ORTEGA- GARCÍA, J.; MONROY-RIVERA, J.; TORO-VÁZQUEZ, F. J.; GARCÍA, H. S.; ANGULO-GUERRERO, O. Concentration of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid from fish oil by hydrolysis and urea complexation. *Food Research International*, v.36, p. 721-727, 2003.
- GAN, Q.; BAYKARA, F.; RAHMAT, H.; WEATHERLEY, L.R. Analysis of a direct contact membrane reactor for lipase catalysed oil hydrolysis in a dynamic emulsion system. *Catalysis Today*, v. 56, n.1-3, p. 179-190, 2000.
- GANDHI, N. N. Application of lipase. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.74, n. 6, p. 621-634, 1997.
- GUNSTONE, F. D. Enzymes as biocatalysts in the modification of natural lipids, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.79, n. 12, p. 1535-1549, 1999.
- HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids, *Laboratory Practice*, v. 22, n. 8, p. 473, 1973.
- HARALDSSON, G. G. The applications of lipases for modification of fats and oils, including marine oils. *Marine Lipids Biotechnology*, cap. 7, 1991. p. 337-352.
- HILLS, M. J.; KIEWITT, I.; MUKHERJEE, K. D. Enzymatic fractionation of fatty acids – Enrichment of gamma linolenic acid and docosahexaenoic acid by selective esterification catalyzed by lipases. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.67, n. 9, p. 561-564, 1990.
- IBRAHIM, C. O., HAYASHI, M., NAGAI, S. Purification and some properties of a thermostable lipase from *Humicola lanuginosa* nº 3. *Agricultural and Biological Chemistry*, v.51, n. 1, p. 37-45, 1987.
- IWAI, M.; OKUMURA, S.; TSUJISAKA, Y. Comparison of properties of two lipases from *Penicillium cyclopium* westring. *Agricultural and Biological Chemistry*, v.39, n. 5, p. 1063-1070, 1975.

IWAI, M.; TSUJISAKA, Y. Fungal lipases In: Lipases. Amsterdam: Edited by B. Borgston and H.L. Brockman, Elsevier, 1984. p. 443-469.

JAEGER, K. E.; REETZ, M. Microbial lipases from versatile tools for biotechnology, Trends in Biotechnology, v. 16, p. 396-403, 1998.

JENSEN, R. G. Characteristics of the lipase from the mold. *Geotrichum candidum*, Lipids, v.9, n.3, p.149-157, 1974.

JENSEN, R. G.; DEJONG, F. A.; CLARK, R. M. Determination of lipase specificity. Lipids, v.18, n. 3, p. 239-252, 1983.

KAZLAUSKAS, R. J.; BORNSCHEUER, U. T. Biotransformation with lipases, In: A Multi-Volume Comprehensive Treatise in Biotechnology. ed. Rehm, H.J., Pihler G., Stadler, A., Kelly, P. J.W. New York: Wiley VCH Verlag, v. 8, 1998. p. 37-192.

KHAN, I. M.; DILL, C. W.; CHANDAN, R. C.; SHAHANI, K. M. Production and properties of extracellular lipase of *Achromobacter lipolyticum*. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.132, n. 1, p. 68 -77, 1967.

KNEZEVIK, Z.; MOJOVIC, L.; ADNADJEVI, B. Palm oil hydrolysis by lipase from *Candida cylindracea* immobilized on zeolite type Y. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 22, n. 4, p. 275-280, 1998.

MACRAE, A. R.; HAMMOND, R.C. Present and future applications of lipases, Review. *Biotechnology and Genetic Engineering*, v.3, n. 9, p. 193-217, 1985.

MALCATA, F. X.; REYES, H. R.; GARCIA, H. S.; HILL JR, C. G.; AMUNDSON, C. H. Immobilized lipase reactors for modification of fats and oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 67, n.12, p. 890- 910, 1990.

MARKLEY, K. S. Fatty acids: Their chemistry, properties, production, and uses. 2 ed. New York: Interscience Publishers, 1960. p. 714.

MEFFERT, A. Technical uses of fatty acid esters, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 61, n. 2, p. 255-258, 1984.

MERÇON, F.; ERBES, V. L.; SANT'ANNA JR., G. L.; NOBREGA, R. Efeitos hidrodinâmicos no processo de hidrólise enzimática de óleos em reatores com membranas. V Seminar on Enzymatic Hydrolysis of Biomass (SHEB), Anais (CD-ROM, p. 8), 1996.

MUKHERJEE, K. D. Fats and oils biotechnology: Present and future applications. In: Congresso y Exposição Latinoamericana sobre Processamento de óleos e gorduras, 6. ed. UNICAMP, 1995. p. 67 – 74, 1995.

NOOR, I. M.; HASAN, M.; RAMACHANDRAN, K. B. Effect of operating variables on the hydrolysis rate of palm oil by lipase. *Process Biochemistry*, v. 39, n. 1, p. 13-20, 2003.

OLIVEIRA, A. L. A.; GIOIELLI, L. A.; OLIVEIRA, M. N. Hidrólise parcial enzimática da gordura de babaçu. *Ciência Tecnologia de Alimentos*, v.19, n. 2, p. 270-276, 1999.

PEREIRA, E. B.; CASTRO, H. F.; MORAES, F. F.; ZANIN, G. M. Kinetic studies of lipase from *Candida rugosa*: A comparative study between free and immobilized enzyme on porous chitosan beads. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 91-3, p.739-752, 2001.

QUEIROZ Jr., P.C.; GIRALDO, C. O. N.; SANT'ANNA JR., G. L. Hidrólise enzimática de óleos de babaçu em reatores agitados. V Seminar on Enzymatic Hydrolysis of Biomass (SHEB), Anais (CD-ROM, p. 13), 1996.

RANSAC, S.; CARRIÈRE, F.; ROGALSKA, E.; VERGER, R.; MARGUET, F.; BUONO, G.; MELO, E.P.; CABRAL, J. M. S.; EGLOFF, M-P.E.; VAN TILBEURGH, H.; CAMBILLAU, C. The kinetics, specificities and structural features of lipases. In: MALCATA, F.X., Engineering of/ with lipases. ed. Nato ASI Series: Applied Sciences, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, v. 317, 1995. p.143-182.

RICE, K. E.; WATKINS, J.; HILL, C. G. Hydrolysis of menhaden oil by a *Candida cylindracea* lipase immobilized in a hollow-fiber reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 63, n. 1, p.33-45, 1999.

- ROONEY, D.; WEATHERLEY, L.R. The effect of reaction conditions upon lipase catalysed hydrolysis of high oleate sunflower oil in a stirred liquid-liquid reactor. *Process Biochemistry*, v.36, n. 10, p. 947-953, 2001.
- SARDA, I.; DESNUELLE, P. Action de la lipase pancreatique sur les esters en emulsion. *Biochimica et Biophysic Acta*, v. 30, p. 513-521, 1958.
- SAXENA, R. K; GHOSH, P. K.; GUPTA, R.; DAVIDSON, W. S.; BRADDOO, S; GULATI, R. Microbial lipases: Potential biocatalysts for the future industry. *Current Science*, v. 77, n.1, p.101-115, 1999.
- SCHMIDT, E. B.; DYERBERG, J. Omega-3 fatty acids. Current status in cardiovascular medicine. *Drugs*, v.47, n. 3, p. 405-424, 1994.
- SCHRAG, J. D.; LI, Y.; WU, S.; CYGLER, M. Ser-His-Glu triad form the catalytic site of the lipase from *Geotrichum candidum*. *Nature*, v. 351, n. 6329, p. 761-764, 1991.
- SEGEL, I. H. *Bioquímica*. 2 nd. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1979. 527p.
- SHAHANI, K.M. Lipases and Esterases. In: Reead Gerald. *Enzymes in Food Processing*. 2 ed. New York: Academic Press, 1975. p. 182-214.
- SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances*, v.19, p. 627-662, 2001.
- SONNTAG N. O. V. New developments in the fatty acid industry in America. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.61, n.2 p. 229-232, 1984.
- STAUFFERT, D. Hidrólise enzimática do óleo de peixe. *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Rio Grande, Departamento de Química, 2000.
- SUGIURA, M., OIKAWA. T., HIRANO, K., INUKAI, T. Purification, crystallization and properties of triacylglycerol lipase from *Pseudomonas fluorescens*. *Biochemical Biophysics Acta*, v. 488, n. 3, p.353-358, 1977.
- SYED RAHMATULLAH, M. S. K., SHUKLA, V. K. S., MUKHERJEE, K. D. Enrichment of gg-linolenic acid from evenign primrose oil and borage via lipase catalysed hydrolysis. *Journal of the American Oils Chemists' Society*, v.71, p. 569-573, 1994.
- TORRALES, R. P. Modelo experimental para a reação de lipólise com lipase pancreática, *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal do Rio Grande, p.121, 1998.
- VIRTO, M. D., AGUD, I., MONTERO, S., BLANCO, A., SOLOZABAL, R., LASCARAY, J. M., LLAMA, M. J., SERRA, J. L., LANDETA, L. C., RENOBALLES, M. Kinetic properties of soluble and immobilized *Candida rugosa* lipase. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 50, n.2, p.127-136, 1995.
- WANG, Y. J.; SHEU, J. Y.; WANG, F. F.; SHAW, J. F. Lipase catalyzed oil hydrolysis in the absence of added emulsifier. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 31, n. 6, p. 628-633, 1998.
- WARD, O. P.; SINGH, A. Omega -3/6 fatty acids: Alternative sources of production. *Process Biochemistry*, v.40, n.12, p.3627-3652, 2005.
- ZAREVÚCKA, M.; VACEK, M.; WIMMER, Z.; STRÁNSKÝ, K.; DEMNEROVÁ, K. Enzymic transformations of blackcurrant oil: Enrichment with gamma linolenic acid and alpha linolenic acid. *Chemicke Listy*, v. 97, n. 4, p. 206-213, 2003.

LINGUAGEM E VERDADE NO DIREITO

LANGUAGE AND TRUTH IN THE LAW

André DEL NEGRI¹

1- Universidade de Uberaba - Av. Santa Beatriz nº 1750- Residencial Shopping, Ed. Trinidad Aptº. 303- Santa Maria, CEP- 38050000- Uberaba-MG.

“Os cientistas tentam eliminar suas teorias falsas, tentam deixar que elas morram em lugar delas. O crente, seja animal ou homem, perece com suas crenças falsas”.

KARL POPPER (1999)

RESUMO

O Direito, não raro, é revestido de marcos pressupostos de verdade e a textualidade jurídica brasileira torna-se uma linguagem de dominação. Com assento nessas premissas, o estudo dogmático deixa irrespondido o esclarecimento científico. Daí a necessidade de desatrelamento do Direito de conotações retóricas.

Palavras-chave: Retórica, Verdade, Direito

ABSTRACT

The Law, not rare, is coated with estimated landmarks of truth and the Brazilian legal text becomes a dominance language. With seat in those premises, the dogmatic study it does not answer the scientific explanation. Then the need to dissociate the Law of rhetorical connotations.

Keywords: Rhetoric, Truth, Law

INTRODUÇÃO

A BUSCA PELA VERDADE

E A CRISE DE RESPOSTAS

Difícil é lidar com donos da verdade. Não há dúvida de que todos nós nos apoiamos em algumas certezas e temos opinião formada sobre determinados assuntos; é inevitável e necessário. Vivemos num mundo que construímos a partir de nossas experiências e conhecimentos. Há aqueles que não chegam a formular claramente para si o que conhecem e sabem, mas há outros que, ao contrário, têm opiniões formadas sobre tudo ou quase tudo. Até aí nada de mais; o problema é quando algumas pessoas se convencem de que suas opiniões são as únicas verdadeiras e, portanto, incontestáveis.

No início do século 20, pouco mais de cem anos, ALBERT EINSTEIN (1879-1955), mudou o modo de entender o Universo com novas idéias sobre espaço e tempo. Primeiro publicou a teoria restrita e depois a teoria da relatividade. Assim, segundo sua teoria, a única coisa que não é relativa é a velocidade da luz: 300 mil quilômetros por segundo. $E=mc^2$, portanto, foi a fórmula que passou a ser utilizada para entender a estrutura do átomo e o funcionamento das estrelas. Quando do seu surgimento, houve um grande impacto. Muitos pensavam que o funcionamento do Universo já fora explicado por fórmulas matemáticas criadas por físicos como ISAAC NEWTON (1642-1727).

Isso não significa que a teoria de EINSTEIN está, portanto, comprovada como “verdadeira”, mas, sim, que ela se demonstrava mais próxima da verdade do que a de NEWTON (MAGEE, 2001). A teoria da relatividade continua corrigível, ou seja, passível de ser substituída por uma melhor.

Para a pessoa “comum” (fora da órbita científica), a verdade pode não ser problema, pois considera como verdadeiro aquilo que está de acordo com a realidade que o circunda, isto é, “de uma descrição que se ajusta aos fatos” (POPPER, 1999). Entretanto, quem se dispõe a abordar de forma filosófica e científica a questão da verdade perceberá que as coisas não são tão simples assim. Toda vez que tentamos anular o óbvio, vem que o óbvio não é nada óbvio, mas, sim, um imenso problema (FORT,

2002). Toda afirmação como “o trabalho dignifica o homem” não pode ser compreendida do ponto de vista de uma única afirmação de um locutor; ela também não pode ser compreendida por meio de duas afirmações, nem de duas mil.

O exemplo mais famoso para ilustrar esse ponto está relacionado aos cisnes de KARL POPPER. Durante milhares de anos, antes do descobrimento da Austrália, todos os cisnes que qualquer ocidental havia visto eram brancos; e todo ocidental partia do pressuposto de que todos os cisnes eram brancos. Entretanto, quando europeus descobriram a Austrália, depararam pela primeira vez com cisnes negros. Ora, eles poderiam ter reagido à situação dizendo que, como aquelas aves eram negras, não poderiam ser cisnes, mas alguma espécie diferente de ave. Em vez disso, eles aceitaram que essas aves eram de fato cisnes e que a afirmação “todos os cisnes são brancos” era falsa (MAGEE, 2001).

De qualquer maneira, toda essa introdução, com fundamento na física, serve para trabalharmos um papel transformador que é a promoção da ciência e da pesquisa e os bons reflexos que isso acarreta sobre o destino de uma geração de pessoas. Em nome do resgate da ciência é necessário ampliar o acesso ao conhecimento, que, aliás, é um objetivo das Universidades. Para garantir o acerto dessa proposta, tem-se que trilhar os rumos da pesquisa com critérios nítidos de qualidade sob orientação de pensadores envolvidos cientificamente. Esses são os elementos necessários em qualquer Universidade moderna para atingir níveis de excelência. Logo, se Universidade é um local de formação de pensamentos culturais, científicos e filosóficos, esse lugar passa a ser um espaço para debater temas ainda não bem resolvidos e o papel do professor, com o sentido do esclarecimento do conhecimento, deve ser o de despertar completamente para uma nova realidade. Caso isso não ocorra, o professor não estará ensinando, mas apenas repetindo. Daí concluirmos que alguma coisa está errada.

JUSTIÇA: UMA BALANÇA DESBALANCEADA

No início do texto, lembrei da dificuldade de lidar com donos da verdade, mas o problema se agrava quando o “dono da verdade” tem carisma (WEBER, 1994) ou se

encontra em posição autorizada pela lei para decidir algo. Dependendo das circunstâncias ele pode empolgar milhões de pessoas e se tornar, vamos dizer, um “führer” (talvez, até um juiz-führer).

Ferreira Gullar, certa vez disse que as pessoas necessitam da verdade e, se surge alguém dizendo as verdades que elas querem ouvir, adotam-no como líder ou profeta e passam a pensar e agir conforme o que ele diga. HITLER foi um exemplo quase inacreditável de um líder carismático que levou uma nação inteira ao estado de hipnose e seus asseclas à prática de crimes estarrecedores. Assim, lembra Gullar que “A loucura torna-se lógica quando a verdade torna-se indiscutível”. Foi o que aconteceu com a inquisição. Foi também em nome do bem que os fanáticos seguidores de POL POT levaram à morte milhões de seus “irmãos” cheios de “certeza”, assim como os comunistas do Kremlin Vermelho. No mundo inteiro, percebemos que a criatividade humana ainda não conseguiu criar melhor forma de gerir uma nação e um povo. Essa, ainda é a regra. Daí, interessante reproduzir o mal-estar na civilização de Freud (FREUD, 1997).

Aos messias e seus seguidores, prefiro os homens tolerantes, para quem as verdades são provisórias, fruto mais do consenso do que de certezas inquestionáveis. As hábeis declarações de alguns formadores de opinião que buscam em símbolos o efeito útil de organizar o debate em torno do tema da “justiça” é um assunto sério. Esse símbolo, por ora, no sentido pensado aqui, neste texto, é ideológico, demagógico e inútil. Mas ainda daria, num esforço de auto-engano, para dizer que alguns “donos da verdade” não querem ser criticados por acreditarem nela ou no seu imaginário e utilizam-se do “clamor popular”. Por isso, a importância do estudo da linguagem e verdade no Direito.

O judiciário, porém, para a maioria das pessoas que o procura, tem ar de seita misteriosa pelas becas e togas. O obsoleto julgamento pelo tribunal do júri, é uma fonte de ritos. As estátuas imortalizadas só faltam falar. A caricatura é reforçada até pelo latinório. O judiciário precisa sair de sua letargia quase medieval, de seu patriarcalismo e parar de se comportar como burocracia. O tribunal do júri procede, nas sociedades ocidentais, desde a Magna Carta, que, na Inglaterra do século 13, conferiu aos ho-

mens livres o direito de serem julgados por seus pares, e não pelo rei. No seu alicerce, está o princípio de que a “justiça” é um patrimônio comum, um pássaro flutuante que sustenta a todos, ricos e pobres, intelectuais ou não. Em consequência, “este tipo de filosofia da crença não pode explicar (e nem mesmo tenta explicar) o fenômeno decisivo de que os cientistas criticam suas teorias e assim as matam.” (POPPER, 1999)

A RETÓRICA NA LINGUAGEM JURÍDICA

Como instituição social, a linguagem é a base para outras instituições humanas, para as religiões, para as normas jurídicas das sociedades, para a Ciência. A linguagem permite a socialização dos conteúdos de reflexão e, sem ela, não há como considerar criticamente uma idéia. É por meio da linguagem que podemos “olhar para nossas idéias como se fossem objetos externos, como se pertencessem ao mundo que nos é exterior, o qual dividimos com os outros.” (NEIVA, 1999)

As linguagens humanas compartilham com as linguagens animais as duas funções inferiores da linguagem: a auto-expressão (sintomática do estado de algum organismo) e a sinalizadora (sinalização ou sintoma que não libera uma resposta em outro organismo). Mas, a linguagem humana tem muitas outras funções. Pelo menos duas funções superiores: a função descritiva (descrição que se ajusta aos fatos) e a argumentativa, isto é, argumentos críticos acerca das descrições (POPPER, 1999). As duas sempre estão presentes. Sem a linguagem descritiva não pode haver discussão crítica. Esse raciocínio de POPPER mostra a futilidade de todas as teorias da linguagem humana que se focalizam em expressões corporais. (WEIL e TOMPAKOV, 2005)

Somente com “a função argumentativa da linguagem, torna-se a crítica o instrumento principal de maior crescimento” (POPPER, 1999). Portanto, “a linguagem, a formulação de problemas, a emergência de novas situações de problemas, de teorias concorrentes, de crítica mútua por meio de argumentação, tudo isso são meios indispensáveis do crescimento científico” (POPPER, 1999). Neste caso, estaremos no chamado terceiro mundo objetivo (teorias, problemas e argumentos objetivos). A importância aqui é a preferência crítica e não a crença,

pois “o conhecimento com uma certa espécie de crença (crença justificável, tal como a crença baseada na percepção). Em consequência, este tipo de filosofia da crença não pode explicar (e nem mesmo tenta explicar) o fenômeno decisivo de que os cientistas criticam suas teorias e assim as matam”.

No entanto, a retórica¹, essa arte da sedução na linguagem, pouco ou nada explica. O fato é que a retórica é o discurso a partir da tópica, lugar-comum, (FERRAZ, 1994). Com ela engana-se o povo, que nunca sabe de nada do que ocorre a sua volta e compra a tese de alguns juristas de que o judiciário é a própria justiça ou que o judiciário implementa a “paz social”. Depois há a desilusão por parte das pessoas de que a justiça, no plano terreno, não existe ou é paupérrima, fruto de um cretinismo irreversível ou uma imensa mentira. Quem trabalha com o discurso científico compreende essa angústia. O problema é que a linguagem jurídica trabalha com tópica (marco pressuposto de verdade) . Com ela a famosa frase posta na entrada do campo de extermínio nazista de Aushwitz, em 1942, de que “o trabalho liberta” (*arbeit macht frei*) não foi nem de perto o que imaginávamos. O fato é que essa mentira (tópica) é utilizada sem o menor parentesco com a realidade.

É conversa freqüente entre muitos que “a voz do povo é a voz de Deus”, que a “guerra traz a paz”, que “os incomodados se retirem” ou “política e religião não se discute”, “democracia é o governo da maioria”, “*fumus boni iuris*”, ou o “*da mihi factum dabo tibi ius*”. Viramos, mexemos e caímos na tópica. Não podemos desperdiçar dessa maneira a grande potencialidade de esclarecimento que a pesquisa científica traz à tona (POPPER, 1975). Tópica é diferente de discurso, pois, o discurso, segundo a teoria habermasiana (HABERMAS, 1997), só é possível quando há a oportunização do levantamento de pretensões no âmbito da veracidade e da validade.

Vem-nos aqui, à guisa de conclusão, algum exemplo retórico da legislação brasileira. No Código de Processo Civil, em vários artigos, essa situação é comum. O artigo 125, inciso IV, autoriza o juiz prevenir ou reprimir qualquer ato contrário à dignidade da Justiça. O artigo 415 diz que ao início da inquirição, a testemunha prestará o compromisso de dizer a verdade, sob pena de incorrer

em sanção penal por ocultá-la. No artigo 131, também do CPC, a redação assegura que “o juiz apreciará livremente a prova, atendendo aos fatos e circunstâncias constantes dos autos, ainda que não alegados pelas partes.”

Na Lei 9.099/95, o artigo 5º, reitera que cabe ao juiz dirigir o processo com liberdade para determinar as provas a serem produzidas, para apreciá-las e para dar especial valor às regras de experiência comum ou técnica, e, logo em seguida, o art. 6º, diz: “O juiz adotará em cada caso a decisão que reputar mais justa e equânime, atendendo aos fins sociais da lei e às exigências do bem comum”.

Percebe-se, portanto, que a linguagem, no Direito, é de uma ancientidade intolerável. Ainda está muito sacralizada. Daí, a necessidade de, na modernidade, desacralizarmos o Direito pela ciência. Se um docente, por exemplo, não comprometido com a pesquisa científica, entra em sala de aula utilizando-se da tópica e, em um primeiro confronto de idéias com seus interlocutores, responde que os “incomodados se retirem”, ele encerra o discurso do conhecimento. Veja que é por meio da dialogicidade, que tem fundamento no contraditório, e, portanto na ampla discussão, que teremos o engrandecimento das idéias.

É muito comum ler que no sistema de produção de provas brasileiro (art. 155 do CPP) há o princípio da verdade real, “pois somente assim se pode dar solução justa e exata ao pedido contido na acusação” (MOSSIN, 1998). Será que a linguagem jurídica está impregnada de conteúdos que obscurecem o entendimento do Direito? Se a resposta for sim, pode-se supor que essa evidente supervalorização da “verdade” e da “justiça” precisa tirar a teima. Aliás, o mesmo se aproveita para o princípio da persuasão racional do juiz, o qual, segundo alguns autores, não está “desvinculado da prova e dos elementos existentes nos autos (*quod non est in actis non est in mundo*), mas a sua apreciação não depende de critérios legais determinados a priori” (CINTRA et al., 1993). Em não sendo, o juiz, um cavaleiro da moralidade, fica claro, que ele não pode estar ligado a critérios sensitivos, a um decidir com base na divindade extrasistêmica, de um julgamento “*secundum conscientiam*”.

Têm alguma razão os que dizem ser a versão mais

verdadeira que os fatos, mas, ao que parece, existe quase sempre, não uma, mas várias versões de um mesmo fato, o que dificulta saber qual delas é a “verdadeira”. Podemos afirmar isto porque, afora o fato material em si mesmo, como por exemplo, um sujeito atropelado por um carro, em torno disso, tudo o mais são versões: a versão do atropelamento, a do atropelado, a do atropelador; a do transeunte que estava na calçada.

Cada um deles viu o fato de um ângulo diferente e, por isso, as versões divergem em alguns pontos. Pode ser que se consiga construir, a partir delas, uma versão única e coerente, mas será impossível afirmar que se trata de uma verdade indiscutível. E a coisa se complica depois que cada um conta sua versão a outra pessoa, que a passa adiante, sempre mudando alguma coisa ou lhe acrescentando algo. Provar, portanto, é fixar fatos no Processo, uma vez que o sujeito é interno à situação, e, portanto, não pode conhecer, isto é, “a verdade é uma parte inapresentada da situação” (BADIOU, 1996).

Enfim, esses são os aspectos que incomodam os estudos argumentativos há algum tempo. Esse extraordinário engenho ideológico demonstrado por alguns autores como Rangel Dinamarco que, em seu livro Instituições de Direito Processual Civil, escreve que “Receber tutela jurisdicional significa obter sensações felizes e favoráveis, propiciadas pelo Estado mediante o exercício da jurisdição”

Essa criatividade inigualável é que transforma a atividade jurisdicional em uma “tenda anglicana” marcada pelo martelo protetor do juiz prodigioso do velho Estado Wellfore State, e não do vigente Estado de Direito Democrático (art. 1º CB/88). Esse é o faz-me-rir da solução caricata de conflitos. Às vezes, parece que o Judiciário beira os subúrbios de um direito quase sacerdotal, sendo fonte emissora de sentenças “felizes” que não sei, no entanto, de onde viria, se de um babalorixá de toga, ou do céu, num carro puxado por belíssimas renas conduzidas por um velho senhor de barba branca.

Tenho me esfacelado para compreender, mas é irritante ou aterrorizante, o modo como alguns autores tratam a instituição do Processo, pois além de agredir qualquer consciência científica democraticamente bem teorizada, seu acatamento ainda resulta na crença pela

percepção de um capricho de salvação social só suscetíveis de serem captados por um mundo que ainda não foi descoberto, pois existente apenas em mentes encantadas por uma mística desvairada. Por isso, esse sonho mítico é enganoso mesmo. Talvez o certo fosse dizer que estamos desgraçados. Aliás, quando se vai ao judiciário, não se vai à “justiça”, pois, às vezes, ir ao Judiciário, de forma mais maldita, é como entrar no conto de Franz Kafka, Diante da Lei, e se deparar com um porteiro que só permite a entrada na lei, a um camponês (que pode ser eu, você, todos nós brasileiros), só no fim de sua vida. No mais, se houver, por parte dos estudiosos, mais realidade e seriedade na descrição e análise do Direito, quanto à prestação jurisdicional, perceberemos que, no fundo, KAFKA foi mais honesto do que aqueles que fingem acreditar na boa vontade do Estado em acabar com os males que nos afligem; sugiro, então, àqueles que, assim como eu, sofrem dos sabores com que o Direito é ensinado, decidam sobre a necessidade de afixar uma placa na entrada de cada tribunal ou foro com a frase de Dante Alighieri, em a Divina Comédia, o qual escreveu que à porta do Inferno estava escrito: “Perdei, ó vós que entraís, toda a Esperança”.

CONCLUSÃO

Para ser considerada científica, uma teoria precisa ser empiricamente comprovável, já que a única forma de teste que é logicamente possível é a falseabilidade, isso quer dizer que somente enunciados que sejam empiricamente passíveis de refutação podem ter status científico. A refutabilidade empírica (dado da experiência), é portanto, o critério de demarcação entre a ciência e a não ciência. Sempre que quisermos ter uma discussão válida, precisamos primeiro, definir o marco teórico a ser trabalhado. Esse marco teórico deve afastar a filosofia da crença, pois essa, acompanhada da retórica, não consegue explicar os temas que os cientistas criticam por meio de teorias. O conhecimento pela crença (percepção) como idéia reguladora de verdade deve, portanto, ser eliminado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BADIOU, Alan. O ser e o evento. Trad. Maria Luiza Borges. Rio de Janeiro: Jorge Zahar, 1996.

CINTRA, GRINOVER, DINAMARCO. Teoria geral do processo. São Paulo: Malheiros, 1993.

DINAMARCO, Cândido Rangel. Instituições de direito processual civil. São Paulo: Malheiros, 2005, vol. I.

FERRAZ JÚNIOR, Tércio Sampaio. Introdução ao estudo do direito: técnica, decisão, dominação. São Paulo: Atlas, 1994.

FORT, Charles. O livro dos danados. Trad. Edson Bini e Márcio Pugliesi. Curitiba: Hemus, 2002.

FREUD, Sigmund. O mal-estar na civilização. Trad. José Octávio Abreu. Rio de Janeiro: Imago, 1997.

HABERMAS, Jürgen. Direito e democracia: entre facticidade e validade. Tradução de Flávio Beno Siebeneichler. Rio de Janeiro: Tempo Brasileiro, 1997. v.2.

MAGEE, Bryan. Confissões de um filósofo. Trad. Waldéia Barcellos. São Paulo: Martins Fontes, 2001.

MOSSIN, Heráclito Antônio. Curso de processo penal. Vol. 2. São Paulo: Atlas, 1998.

NEIVA, Eduardo. O racionalismo crítico de Popper. Francisco Alves: Rio de Janeiro, 1999.

POPPER, Karl. A lógica da pesquisa científica. Tradução de Leonidas Hegenberg e Octanny Silveira da Mota. São Paulo: Cultrix, 1975.

_____. Conhecimento objetivo. Trad. Milton Amado Belo Horizonte: Itatiaia, 1999.

WEBER, Max. Economia e Sociedade: fundamentos da sociologia compreensiva. Trad. Regis Barbosa e Karen Elsabe Barbosa. Vol. I. Brasília: UNB, 1994.

WOLFF, Francis. Nascimento da razão, origem da crise. In: CHAUI, Marilena; LEFORT, Claude; NOVAIS, Adauto. (Org.). A crise da razão. São Paulo: Companhia das Letras, 1996.

WEIL, Pierre; TOMPAKOW, Roland. 59ª edição. O corpo fala: a linguagem silenciosa da comunicação não-verbal. Petrópolis: Vozes, 2005.

¹ A palavra retórica provém do grego rhetoriké, o qual significa “arte, oratória”; vocábulo formado a partir do termo rhesis, que quer dizer “ato de falar, discurso”.

COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DE CONCENTRADOS CONTENDO RADÍCULA DE MALTE SOB DIFERENTES FORMAS FÍSICAS

BROMATOLOGIC COMPOSITION OF THE CONCENTRATES CONTAINING MALT ROOTLETS IN DIFFERENTS PHYSICAL FORMS

Mauro Dal Secco de OLIVEIRA¹, Juliano VITTORI², Maurício VITAL³, José Carlos BARBOSA⁴, Atushi SUGOHARA⁵, Diego Azevedo MOTA⁶

¹ Professor Adjunto do Departamento de Zootecnia, FCAV-UNESP– Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14884-900-Jaboticabal, SP. E-mail: mauro@fcav.unesp.br. Pesquisador do CNPq.

² Acadêmico do Curso de Zootecnia da FCAV-UNESP.

³ Médico Veterinário – Fazenda Germana –Taiaçu-SP.

⁴ Professor Titular do Departamento de Ciências Exatas, FCAV-UNESP.

⁵ Professor Assistente Doutor do Departamento de Zootecnia, FCAV-UNESP.

⁶ Mestrando em Zootecnista FCAV-UNESP.

RESUMO

Avaliou-se a composição bromatológica de concentrados, nos quais se utilizou a radícula de malte, em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2 (dois tipos de concentrados e duas formas físicas) com 5 repetições. Foram estudados os tratamentos: concentrados sem e com a radícula de malte farelado ou peletizado. Os resultados revelaram que houve variação na composição dos nutrientes estudados, porém foi possível a obtenção de peletes adequados. Houve aumento nos teores de proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), fibra em detergente ácido (FDA), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN) e hemicelulose (HEM) no concentrado contendo a radícula de malte. Ao contrário os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE), extrativo não nitrogenado (ENN), carboidratos totais (CHOt), carboidratos não fibrosos

(CNF), e principalmente de nutrientes digestíveis totais (NDT), diminuíram nos concentrados contendo a radícula de malte. Houve um aumento no teor de FDN de 93,78 e 78,49%, no concentrado contendo radícula de malte quando submetido ou não a peletização. Da mesma forma a radícula de malte causou diminuição no teor de NDT ($P<0,01$). Apesar do aumento nos teores de FB, FDA, FDN e HEM e queda nos teores de CHOt, CNF e de NDT, todos os concentrados podem ser utilizados na alimentação animal, todavia deve-se levar em consideração a disponibilidade, custo, requerimentos nutricionais e a categoria animal.

Palavras-chave: Fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, nutrição animal, ração, subproduto.

ABSTRACT

The aim of the present study was evaluation of the bromatologic composition of differents concentrates containing or not malt rootlets. Four differents treatments (concentrate containing or not malt rootlets and concentrate pelleting or meal) were completely randomized scheme fatorial design in 5 replications. The results that were significant differences in the composition of the concentrates but, it was possible to obtain a well forwed pellet. It was noticed that in increasing in the crude protein, crude fiber (CF), acid detergent fiber (ADF), mineral matter, neutral detergent fiber (NDF) and hemicelulose (HEM), in the concentrate containing malt rootlets ($P<0.01$) and decrease in dry matter, organic matter, ether extract,

nitrogen free extractive, carbohydrate totality (CHOt), non-fiber carbohydrate (NFC) and total digestible nutrients ($P<0.01$). The concentrate containing malt rootlets proportion slowed a significant increase in the NDF, 93.76 e 78.49, when compared to the pelleted and meal concentrates respectively. As expect, the concentrate containing malt rootlets had less total digestible nutrients (77.45%) than the others treatment ($P<0.01$). Despite the variation in the components all the concentrates can be pottentially used in the cattle nutrition according to the disponibility, cust and cathegory requirement.

Keywords: Neutral detergent fiber, acid detergent fiber, animal nutrition, ration, by product.

INTRODUÇÃO

A eficiência técnico econômica de um sistema de produção de leite depende primariamente, do potencial produtivo e da fertilidade do rebanho, os quais são altamente influenciados por fatores nutricionais, ambientais e sanitários, principalmente nas fases iniciais de criação. Do ponto de vista econômico, a nutrição constitui-se no principal componente do custo total da produção leiteira, cerca de 50-70% (OLIVEIRA, 2001), sendo os alimentos concentrados responsáveis pela maior parte destes (SILVA, 1980).

Com o grande desenvolvimento da população mundial e as exigências cada vez maiores de alimentos de alto valor protéico como a proteína animal, gerados por alimentos não competitivos para a alimentação humana, inevitavelmente houve aumento da utilização de subprodutos na alimentação animal, dado que a indústria de processamento de alimentos produz grandes quantidades que são desperdiçados, mas que possuem valores nutritivos potenciais e que podem ser utilizados na alimentação animal, já que o leite assim como os concentrados iniciais à base de soja e milho tornam os custos bastante elevados durante o ciclo de exploração de bovinos. Buscar fontes alternativas de alimentos para redução de custos na alimentação de bezerros e a aplicação de técnicas no processamento dos concentrados, sem comprometer a qualidade do produto final, de modo a maximizar a ingestão de matéria seca, suprimindo as necessidades nutricionais, são preocupações constantes dos técnicos ligados à exploração de bovinos.

O fornecimento de alimentos sólidos, a partir das primeiras semanas de vida, é prática comum na alimentação de bezerros provenientes de rebanhos leiteiros, sendo considerado essencial para promover o desenvolvimento ruminal. O objetivo de tornar o bezerro ruminante o mais rápido possível é para que mesmo após a desmama seja capaz de digerir e absorver nutrientes provenientes de alimentos sólidos (concentrado e volumoso). Animais que são alimentados precocemente com concentrado apresentam um rúmen bem desenvolvido e vascularizado, permitindo o desmame precoce destes animais, por volta da 6ª a 8ª semana de vida, sem que haja prejuízo no seu desenvolvimento (OLIVEIRA, 2001).

A principal vantagem da desmama precoce é de ordem econômica, pois neste sistema uma menor quantidade de leite será utilizada na alimentação dos bezerros, conseqüentemente uma maior quantidade de leite estará disponível para ser comercializado. Diversos autores indicam que o principal estímulo para o desenvolvimento do rúmen é a presença de ácidos graxos voláteis (TAMATE et al., 1962; MURDOCK e WALLENIUS, 1980; QUIGLEY et al., 1985). A maior produção desses ácidos graxos voláteis é altamente influenciada por alimentos concentrados que possuem altas concentrações de energia e proteína. Assim, para que ocorra taxa de crescimento máximo e desenvolvimento precoce das funções ruminais, a disponibilidade de concentrado para o animal desde a primeira semana de vida é indispensável (ANDERSON et al., 1987; OLIVEIRA, 2001).

Os concentrados utilizados na alimentação de bezerros leiteiros, tem em sua natureza diversas formas de apresentação, encontrando assim inúmeras composições bromatológicas e formas físicas de processamento. Quanto à forma física, estes são apresentados principalmente nas formas farelada e peletizada. Os concentrados farelados são preparados por meio de moagem, onde os ingredientes são moídos e misturados homogeneamente sem nenhum processo de umidificação, ficando em forma de pó. É o processamento mais usual, sendo o produto final influenciado pelo tamanho dos crivos da peneira, potência do moinho, velocidade, tipo de grão e umidade utilizada (THEURER, 1986). Ao concentrado farelado são atribuídas algumas desvantagens em relação ao concentrado peletizado tais como: maior desperdício, menor consumo, e maior propensão a causar problemas respiratórios dada sua fina granulometria.

O concentrado peletizado, resultado da aglomeração de partículas moídas de um ingrediente ou de mistura de ingredientes, por meio de processos mecânicos, em combinação com umidade, pressão e calor, dado ao processo físico em que é submetido, possui algumas vantagens em relação ao concentrado farelado, tais como aumento do nível de ingestão, dada a maior densidade do alimento e facilidade no transporte e destruição de organismos patogênicos (BEHNKE, 1996), além de evitar a segregação de ingredientes (OLIVEIRA, 2001), porém

sua principal vantagem está relacionada à mecanização do manejo da alimentação. De acordo com Theurer (1986) parece não existir vantagens econômicas e em alguns casos, a eficiência alimentar é um pouco melhorada. De maneira geral, espera-se um aumento de 5 a 10% na eficiência alimentar devido ao processamento (MADEIRA, 2004).

A peletização tem sido usada para facilitar o manuseio; eliminar partículas finas (pó); aumentar a palatabilidade; diminuir a separação dos ingredientes e seleção pelos animais; aumentar a densidade e, por conseguinte diminuir o custo de transporte; reduzir o espaço de estocagem; melhorar o valor nutricional de certos alimentos com o uso de calor e pressão.

Para uma adequada peletização, os equipamentos são importantes, a começar pelos silos de alimentação da peletizadora, o moinho (motor), o anel peletizador, os rolos de peletização, correias de transporte, peneira vibradora e o condicionador. Os fatores que afetam a peletização são as características dos ingredientes (FALK, 1985) e, por conseguinte a formulação utilizada; o tamanho da partícula moída; a câmara de peletização e o estado de uso do anel e rolo de compactação (desgaste dos componentes). Durante o processo de peletização ocorre desnaturação da proteína, facilitando a ação de enzimas proteolíticas e em muitos casos, a sua digestibilidade e utilização aumentam (ARAUJO, 1999). A qualidade do pelete não depende só da peletizadora, mas sim de todo o sistema de fabricação desde a formulação, moagem, mistura até o resfriamento e transporte.

De acordo com Gadiant, (1986) a peletização melhora a digestibilidade dos nutrientes, aumenta a densidade do alimento, melhora a palatabilidade aumentando o consumo, diminui as perdas pelo animal, facilita o manejo durante o transporte evitando segregação e melhora as condições de higiene.

Amaral (2005) forneceu ração total peletizada (40% de volumoso: 60% de concentrado) para caprinos e verificou maior ingestão e aumento de 46,7% no ganho de peso nos animais, aumento no peso do rúmen e do comprimento das papilas ruminais. Destacou-se ainda que, a magnitude dos efeitos dos processamentos das rações, varia de dieta para dieta. Por outro lado Oliveira et al.,

(1992) forneceu concentrado peletizado ou farelado (contúidos de milho moído, farelo de soja, farelo de trigo e mistura mineral) para bezerros da raça Holandesa em aleitamento, não encontraram diferença significativa no desempenho dos animais. O fato dos bezerros terem apresentados ganhos de peso semelhantes está relacionado com a pouca seleção aos ingredientes da ração, durante a alimentação. Ao contrário, a peletização do concentrado além de aumentar o ganho de peso de bezerros leiteiros durante o período de aleitamento proporciona antecipação da ruminação dos animais comparativamente ao concentrado farelado constituído por alfafa desidratada, aveia, casca da soja moída, farelo de arroz, leverura de cana, dentre outros. Caracterizando um concentrado com teor (média de 15%) de fibra (SANTOS, 2004).

A radícula de malte é um subproduto da cevada maltada (*Hordeum vulgare*), destinado à fabricação da cerveja, sendo obtida pela remoção das radículas e brotos após secagem e separação do malte através de uma operação denominada crivagem. Do processamento da cevada para se obter o malte cervejeiro, cerca de 5% resultarão em radícula de malte (ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS FABRICANTES DE RAÇÃO, 1985). Ela possui boas características nutritivas em sua composição bromatológica, tendo sua disponibilidade no mercado relacionada à proximidade de indústrias de malte, porém seu uso atualmente em rações de bezerros em aleitamento é pouco conhecido (BELLAYER et al., 1985). A radícula de malte apresenta a desvantagem da pouca oferta no mercado, e em função da menor digestibilidade dos seus nutrientes, recomenda-se que não participe da dieta em mais de 30%, no caso de vacas de maior produção de leite. Para vacas leiteiras de baixa produção este alimento pode substituir totalmente o concentrado (CONRAD, 2005).

Dados de Livingstone e Livingston (1969) a radícula de malte apresentou 87,50% de matéria seca (MS) e 22,80% de proteína bruta (PB). Bellaver et al., (1985) obtiveram valor de: 87,93; 24,86; 0,86; 9,97 e 5,48% respectivamente para a MS, PB, extrato etéreo, fibra bruta e cinzas e na ordem, Barbosa et al., (1987) obtiveram valores médios de 94,91; 22,50; 0,99; 12,88 e 5,71%, respectivamente. A energia bruta (kcal/kg MS) foi de 3.829 e

4.289 segundo Bellaver et al., (1985) e Barbosa et al., (1987), respectivamente.

Com relação a monogástricos, Barbosa et al., (1987) verificaram que a radícula de malte pode ser incluída até 20% na ração de suínos em crescimento e terminação, porém Bellaver et al., (1985) destacaram que a utilização depende diretamente do custo da radícula de malte e conseqüentemente da ração.

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi determinar a composição bromatológica de concentrados sob diferentes formas físicas (peletizados e farelados) contendo ou não a radícula de malte.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Bovinocultura de Leite pertencente ao Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Câmpus de Jaboticabal. Foram avaliados quatro concentrados contendo ou não radícula de malte sob duas formas físicas, farelada e peletizada, sendo C1 - concentrado peletizado sem radícula de malte; C2 - concentrado peletizado com radícula de malte; C3 - concentrado farelado sem radícula de malte; C4 - concentrado farelado

com radícula de malte.

Os concentrados foram formulados por meio do programa de formulação de ração Supercrack, utilizando-se milho moído (moínho contendo peneira com furos de 3 mm), radícula de malte (com ou sem) farelo de soja, torta de girassol e mistura mineral, cujas proporções nos concentrados C1, C2, C3 e C4 constam na Tabela 1.

A torta de girassol foi obtida por prensagem a frio, em prensa de fluxo contínuo e moída em moínho com peneiras dotadas de furos de 25 mm. Utilizou-se radícula de malte proveniente da Fazenda Germana, localizada no município de Taiacú-SP.

Todos os concentrados foram homogeneizados (misturador em “Y” durante 12 minutos). Os concentrados foram peletizados com uso de vapor na peletizadora marca Calibrás 300. Após o preparo dos diferentes tipos de concentrado (farelado e peletizado), foram retiradas amostras, as quais foram armazenadas em sacos plásticos em congelador a temperatura de -20° C, para serem analisadas posteriormente. A composição bromatológica foi determinada no laboratório de ruminantes da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Unesp conforme metodologia descrita por Silva (1990).

Tabela 1 - Composição percentual dos ingredientes usados nos concentrados.

Ingredientes	Concentrado	
	s/ rad.	c/ rad.
Torta de girassol	17,19	20,00
Milho moído	59,81	32,06
Farelo de soja	18,00	5,00
Radícula de Malte	-	37,94
Mistura Mineral*	5,00	5,00

s/ rad = concentrado sem radícula de malte; c/ rad = concentrado com radícula de malte;
* - Composição mineral/kg do produto:
P = 73g ; Ca = 190g; Na = 62g; Cl = 90g; Mg = 44g; S = 30g; Zn = 1350mg; Cu = 340mg; Mn = 940mg
Fe = 1064mg; Co = 3mg; I = 16mg; Se = 10mg ; F(max) = 730mg e veículo q.s.p = 1000g.

Na Tabela 2 está expressa a composição bromatológica dos ingredientes utilizados na formulação dos diferentes concentrados.

Foram determinados os teores de: matéria seca (MS); proteína bruta (PB); fibra em detergente neutro (FDN); fibra em detergente ácido (FDA); e hemicelulose (HEM); carboidratos totais (CHOt); carboidratos não fi-

brosos (CNF); extrativo não nitrogenado (ENN); nutrientes digestíveis totais (NDT) e matéria mineral (MM). Os teores de FDA e FDN foram determinados conforme Van Soest et al., (1991). Os teores de NDT foram calculados conforme McDowell et al., (1974) e de CHOt e CNF conforme Sniffen et al., (1992).

Tabela 2 - Teores médios de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN), matéria mineral (MM); matéria orgânica (MO) e de nutrientes digestíveis totais (NDT) dos ingredientes utilizados.

Ingredientes	% Matéria Seca							
	MS, %	PB	EE	FDA	FDN	MM	MO	NDT*
Torta de girassol	91,90	22,09	22,00	----	----	----	----	85,00
Milho grão-moído	89,00	9,00	----	----	----	----	----	85,00
Radicula de malte	86,44	24,07	0,74	16,04	45,07	5,73	93,37	73,71
Farelo de soja	89,00	49,00	2,80	----	----	----	----	80,00
Mistura mineral	99,00	----	----	----	----	----	----	----

*Valores estimados (McDowell et al., 1974).

A análise da variância foi realizada por meio do delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2 (dois tipos de concentrado) x (duas formas físicas) com 5 repetições por tratamento. As médias dos tratamentos foram comparadas por meio do teste de Tukey a 5 e 1% de probabilidade (BANZATTO e KRONKA, 1995) por meio do método ESTAT (FCAV/Unesp).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 3 e 4 estão expressas a composição bromatológica (teores médios dos nutrientes) dos concentrados contendo ou não a radícula de malte nas formas farelada ou peletizada.

Notou-se que a presença de radícula de malte influenciou os teores dos nutrientes estudados. Devido às características da radícula de malte que é um alimento constituído por radículas e brotos, cascas e outras partes do grão (Associação Nacional dos Fabricantes de Ração, 1985), houve aumento no teor de matéria seca (MS) no concentrado farelado (Tabela 4, P<0,01). Isto ocorreu em face de quantidade de radícula de malte que foi incluída no concentrado (37,94%).

No caso do concentrado peletizado, observou-se que apesar da queda no teor de MS (P<0,01) ocorrida no concentrado contendo a radícula de malte, as médias foram muito próximas, cuja variação foi de 0,88%. Devido ao vapor d’água utilizado no processo da peletização, possivelmente houve contribuição para a proximidade das médias de MS dos concentrados peletizados.

Considerando-se apenas o concentrado peletizado, sem radícula, a peletização causou diminuição no teor de MS de 1,18% (P<0,01) e de 2,87% (P<0,01) com a presença da radícula de malte, possivelmente devido às partículas menores (pó) e também devido à presença d’água que ocorre no concentrado durante o processo de peletização.

Conforme as médias apresentadas na Tabela 3, no concentrado contendo a radícula de malte, o teor de matéria orgânica (MO) foi diminuído em 1,20% (P<0,01). Entretanto, a peletização não influi no teor de MO dos concentrados cujas médias foram de: 92,76 e 92,61% na MS no concentrado farelado e peletizado, respectivamente.

Da mesma forma os teores de extrato etéreo (EE) e de extrativo não nitrogenado (ENN) e de carboidratos totais (CHOt) foram diminuídos em 8,67; 8,26 e 2,52%, respectivamente, no concentrado contendo a radícula de malte. Salienta-se que a peletização não influiu (P<0,05) nos teores destes nutrientes. Face a diminuição nos teores médios de EE, ENN e de CHOt quando a radícula de malte foi incluída no concentrado, observou-se que o teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi menor (P<0,01) em 4,39%. O fato da radícula de malte ter proporcionado concentrado com menor teor de CHOt (P<0,01) não é interessante, pois se sabe que os carboidratos não estruturais, o amido em especial, é muito importante uma vez que representa cerca de 60 a 70% da energia líquida para a produção de leite, além de fornecer precursores

para a formação da lactose, gordura e proteína do leite (TEIXEIRA e SANTOS, citados por OLIVEIRA e LEW, 2004).

Considerando-se a adição da radícula de malte, o concentrado apresentou uma redução de 2,52% no teor de CHOt ($P<0,01$). No caso da peletização as médias de CHOt foram semelhantes ($P<0,05$), incluindo que a peletização não causou redução no teor de CHOt dos concentrados. Neste contexto, observa-se que as médias de fibra bruta (FB, 3,81%) e de fibra em detergente ácido (FDA) (8,74%) obtidas no concentrado sem radícula são adequadas visando à alimentação de bezerros de raças leiteiras em aleitamento (OLIVEIRA et al., 1992;

OLIVEIRA, 2001). Todavia, nos concentrados contendo radícula de malte não são convenientes, pois os teores de FB superaram 6% na MS assim como de FDA foi muito elevado (média de 13,82% na MS), Segundo Oliveira (2001) para bezerros da raça Holandesa, tais teores não são adequados, justamente pelo fato que os animais ainda serem considerados pré- ruminantes. Mas em outras fases da vida pode ser usados com restrições.

Salienta-se que a radícula de malte apresenta teor muito baixo de EE, média de 0,86% (BELLAYER et al., 1985) e de 0,99% segundo Barbosa et al., (1987), além do menor teor de NDT, média de 73,71% (Tabela 1) em relação aos demais ingredientes do concentrado.

Tabela 3. Teores de matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra bruta (FB), fibra em detergente ácido (FDA), matéria mineral (MM), extrativo não nitrogenado (ENN), nutrientes digestíveis totais (NDT) e carboidratos totais (CHOt) dos diferentes tratamentos.

Tratamentos								
Tipo de concentrado				Forma física				
	s/ rad.	c/ rad.	F	Far.	Pel.	F	DMS ⁽³⁾	CV ⁽⁴⁾
MO,% na MS	93,25	92,13	31,57**	92,76	92,61	0,53ns	0,42	0,47
PB,% na MS	19,62	20,79	69,70**	19,99	20,43	9,71**	0,29	1,54
EE,% na MS	6,80	6,21	17,60**	6,45	6,56	0,61ns	0,29	4,85
FB,% na MS	3,81	7,33	764,23**	5,64	5,49	1,44ns	0,27	5,11
FDA, % na MS	8,74	13,82	1074,90**	12,52	10,04	255,25**	0,32	3,07
MM,% na MS	6,75	7,86	31,57**	7,23	7,38	0,53ns	0,42	6,08
ENN,% na MS	63,00	57,79	153,47**	60,66	60,13	1,63ns	0,89	1,55
NDT, % ⁽¹⁾	81,01	77,45	1061,13**	78,37	80,10	251,45**	0,23	0,30
CHOt,% ⁽²⁾	66,81	65,12	25,33**	66,31	65,62	4,23ns	0,71	1,13

Análises realizadas no Laboratório de Ruminantes da FCAV/Unesp;
s/ rad = concentrado sem radícula de malte, Far = farelado;
c/ rad = concentrado com radícula de malte, Pel = peletizado;
⁽¹⁾Médias calculadas conforme McDowell et al (1974);
⁽²⁾Médias calculadas pelas fórmulas, Carboidratos totais (CHOt) = 100 - (PB + EE + MM em % na MS) e Carboidratos não fibrosos (CNF) = CHO - FDN % na MS (Sniffen et al., 1992);
⁽³⁾DMS = Diferença Mínima Significativa;
⁽⁴⁾CV = Coeficiente de variação, %; ns= não significativo;
**(P<0,01).

Os teores de proteína bruta (PB) foram influenciados tanto pelo tipo de concentrado quanto pela forma física. Notou-se aumentos de 5,96 e 2,20% no teor de PB do concentrado contendo a radícula de malte e peletizados, respectivamente ($P<0,01$).

Notou-se que no concentrado contendo a radícula de malte, houve maior teor de matéria mineral (MM) (média de 7,86%, $P<0,01$), isto ocorreu uma vez que, a radícula apresenta teor considerável de MM, média de 5,73% (obtida neste trabalho), 5,48% (BELLAYER et al.,

1985) e de 5,71% (BARBOSA et al., 1987).

O teor de fibra em detergente neutro (FDN) aumentou 93,76% ($P < 0,01$) com a inclusão de radícula de malte no concentrado farelado e de 78,49% ($P < 0,01$) no concentrado peletizado (Tabela 4). Portanto, tais aumentos foram decorrentes do teor elevado de FB da radícula de malte (média de 12,88% na MS, BARBOSA et al., 1987 e de 9,97%, BELLAYER et al., 1987). Por outro lado, nos concentrados sem e com a radícula, a peletização causou queda no teor de FDN ($P < 0,01$). Houve diminuição de 3,97 e 11,53%, respectivamente nos concentrados farelado e peletizado. Da mesma forma, a inclusão da radícula causou aumentos significativos ($P < 0,01$) no teor de hemicelulose (HEM) do concentrado. Houve superioridade de 157,2 e de 90,67%, respectivamente nos concentrados farelado e peletizado.

No concentrado sem a radícula de malte, a peletização causou aumento de 26,35%, porém com a presença da radícula, houve queda de 6,39% na média de HEM, quando o concentrado foi peletizado. Considerando-se este aspecto, a peletização é mais interessante, principalmente em se tratando de bezerros leiteiros em aleitamento, já que os teores menores de FB, FDA e FDN são recomendados (OLIVEIRA, 2001).

Os concentrados contendo a radícula de malte apresentaram diminuição de 33,01% ($P < 0,01$) e 28,24% ($P < 0,01$) no teor de CNF, respectivamente nos concentrados farelado e peletizado.

Considerando-se apenas o concentrado sem radícula, o teor de carboidratos não fibrosos (CNF) não foi afetado ($P > 0,05$) pela forma física (Tabela 4). Todavia, no concentrado contendo a radícula de malte, a peletização aumentou em 7,75% ($P < 0,05$) o teor de CNF. Portanto, no concentrado contendo a radícula de malte, o efeito benéfico da peletização sobre os teores de CNF foi bem evidenciado. Este aspecto está relacionado, com efeito, da peletização sobre a gelatinização do amido.

Destaca-se que a radícula de malte é um subproduto da cevada que pode ser utilizado em rações para ruminantes, porém deve-se atentar para a quantidade utilizada na ração, face aos teores elevados da fração fibrosa, apesar do teor elevado de PB.

Apesar das variações observadas nos teores dos nutrientes, a utilização de concentrados contendo a radícula de malte, independentemente da forma física é mais uma opção que os produtores têm a disposição para alimentar, sobretudo bovinos. A utilização vai depender ainda da disponibilidade, custo e da categoria animal.

A peletização além das diferentes vantagens como facilidade no manuseio; eliminação de partículas finas (pó); segregação de ingredientes e seleção pelos animais; redução do custo de transporte; redução do espaço de armazenagem; destruição de microorganismos; valor nutritivo; dentre outros (BEHNKE, 1996; DOZIER, 2001; SANTOS, 2004; MADEIRA, 2004) no caso do presente trabalho, proporcionou redução nos teores de FDN; FDA e HEM e aumento no teor de NDT, significando melhor qualidade nutricional do concentrado e possivelmente melhor desempenho animal.

Nas condições do presente trabalho houve formação adequada do pelete, tanto na consistência quanto no brilho, e apesar da radícula de malte não ser considerada um alimento adequado (baixa palatabilidade), devido, principalmente à casca, radícula e brotos, a torta de girassol, por ter a presença de óleo em grande quantidade, proporcionou condições favoráveis a peletização, como demonstrado nos trabalhos de (OLIVEIRA et al., 2001 e OLIVEIRA e LEW, 2004).

Dada a escassez de informações na literatura, maiores estudos são necessários a respeito da utilização da radícula de malte na alimentação animal, como fonte alternativa de nutrientes, de modo a oferecer dados que possibilitem o uso racional deste subproduto, em vista que a mesma mostra-se potencialmente eficiente, em virtude de suas características bromatológicas.

CONCLUSÃO

Nas condições do presente trabalho, pode-se concluir que a radícula de malte mostrou ser eficiente ingrediente para ser utilizado na formulação de ração independente da forma física, porém a sua utilização depende da disponibilidade e do preço.

A peletização tanto do concentrado contendo ou não a radícula, mostrou-se eficiente, sendo mais indicada

Tabela 4. Desdobramento da interação entre os tipos de concentrado e a forma física em relação aos teores de matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN), hemicelulose (HEM) e de carboidratos não fibrosos (CNF).

Forma física					
Tipo de concentrado	Farelado	Pelctizado	DMS	CV,%	F
	MS, %				
Sem radícula	87,89bA	86,85aB			
Com radícula	88,63aA	86,08bB	0,56	0,48	15,93**
	FDN, % na MS				
Sem radícula	16,37bA	15,72bB			
Com radícula	31,72aA	28,06aB	0,61	1,99	54,42**
	HEM, % na MS				
Sem radícula	6,45bB	8,15bA			
Com radícula	16,59aA	15,54aB	0,69	4,45	34,92**
	CNF, % na MS				
Sem radícula	50,62aA	50,92aA			
Com radícula	3,91bA	36,54bB	1,20	2,08	8,40*

Médias seguidas de letras iguais minúsculas (coluna) e maiúsculas (linha) não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05); DMS= Diferença mínima significativa; CV = Coeficiente de variação; * (P<0,05); ** (P<0,01).

para concentrados visando à alimentação de animais adultos, Portanto, deve-se atentar para a utilização deste tipo de concentrado se a categoria animal for muito exigente do ponto de vista nutricional ou se o objetivo for desempenho elevado, porém ainda depende do custo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, C. M. C. Extrusão e peletização de ração completa para cabritos Saanen. Jaboticabal SP 2005. Tese Doutorado em produção animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal SP, 2005

ANDERSON, K. L.; NAGARAJA, T. G.; MORRIL, J. L. Ruminant metabolic development in calves weaned conventionally or early. Journal Dairy Science, Savoy, .70, n.5, p. 1000-1005, 1987.

ARAUJO, J. M.A. Química de alimentos: teorica e prática. 2. ed. Viçosa: UFV, 1999. 282p.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS FABRICANTES DE RAÇÕES. ANFAR. Matérias primas para a alimentação animal: padrão ANFAR. 4. ed. São Paulo, 1985. 65p.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S.N. Experimentação agrícola. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 247p.

BARBOSA, H. P., et al. Utilização da radícula de malte na alimentação de suínos em crescimento e terminação. (Malt rootlets in diets for growing and finishing swine) Boletim da Industria. Animal., Nova Odessa, v. 44, p.281-88, jul./dez. 1987.

BEHNKE, K. C. Feed manufacturing technology: current issues and challenges. Animal. Feed Science Techonolique. Eastrige, v. 62, p. 49-87, 1996.

BELLAVER, C.et al., Radícula de malte na alimentação de suínos em crescimento e terminação. Pesquisa Agropecuária. Brasileira, Brasília, v. 20, n. 8, p. 969, 1985.

CONRAD, G. Descubra as vantagens dos resíduos de cervejaria na alimentação de vacas. Disponível em: <<http://www.paginarural.com.br>>. Acesso em: 15 out. 2005.

DOZIER, W.A. Pelet de calidad para obtener carne de ave más econômica. In: Alimentos balanceados para animales, 2001, p. 16-19.

FALK, D. Pelleting cost center. In: Feed Manufacturing Technology III. AFIA. 1985. p. 167-190.

GADIENT, M. Effect of pelleting on nutritional quality of feed. In: Mariland Nutrition Conference for Feed Manufacturers, 1986, p. 73-79.

LIVINGSTONE, R. M.; LIVINGSTON, D. M. S. A note on the use of distiller's by products in diets for growing pigs. Animal Product., Edinburgh, v.11, n.2, 1969. p.259-261.

MADEIRA, B. C. Diferentes formas físicas da ração para vacas holandesa. Lavras, MG Dissertação Mestrado em Nutrição de Ruminantes, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004

McDOWELL, L. R; et al., Tabelas de Composição de Alimentos para a América Latina. Flórida. Gainesville: Univerddidade da Flórida, 1974. 47 p.

MURDOCK, F. R.; WALLENIS, R.W. Fiber sources for complete calf starter rations. Journal Dairy Science., Savoy, v. 63, n. 11, 1980. p. 1869-1873.

OLIVEIRA, M. D .S. Cria e recria de Bovinos Leiteiros. Jaboticabal: FUNEP, 2001. 180 p.

OLIVEIRA, M. D. S.; et al., Avaliação do óleo de soja para peletização de rações. Veterinária Notícias, Uberlândia, v.7, n.1, 2001. p. 97-102.

OLIVEIRA, M. D. S.; LEW, B. J. Efeito da proporção concentrado:volumoso de ração completa peletizada contendo torta de girassol, sobre a digestibilidade ruminal in vitro, em bovinos. Revista de Educação Continuada, São Paulo, v. 5, n. 3, 2004. p. 278-287.

OLIVEIRA, M. D. S.; et al., Efeito da forma física do concentrado sobre o desempenho de bezerros da raça Holandesa. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 29, LAVRAS, MG. 1992. Anais... SBZ: Lavras, MG, 1992. p. 214.

QUIGLEY, J. D.; SCHWAB, C. G.; HYLTON, W. E. Development of rumen function in calves: Nature of protein reaching the abomasum. Journal Dairy Science, Savoy, v. 68, n. 3, p. 694-702, 1985.

SANTOS, M.; Avaliação de rações com diferentes formas físicas para bezerros leiteiros. Lavras MG, Dissertação Mestrado em Nutrição de Ruminantes) - Universidade Federal de Lavras, 2004.

SIVA, D.J. Análise de Alimentos (métodos químicos e biológicos): viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1990, 165p.

SILVA, J. F. C. Concentrados. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, n.69, p. 20-23, 1980.

SNIFFEN, C. J; et al., A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. Journal Animal Science., Champaign, v. 70, n. 11 p. 3562-3577, 1992.

TAMATE, H.; et al., Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf. Journal Dairy Science., Savoy, v.45, n.3, p.408-420, 1962.

THEURER, C. B. et al., Grain processing effects on starch utilization by ruminants. Journal Animal Science., Champaign, v. 63, p. 1649-1662, 1986.

VAN SOEST, P. J. et al., Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nostarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal Dairy Science, Savoy, v. 74, n. 9, p.1-15, 1991.

UTILIZAÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS EM DEFEITOS ÓSSEOS: REVISÃO DE LITERATURA

PLATELET-RICH PLASMA USING IN BONE DEFECTS: LITERATURE REVIEW

Elizabeth Pimentel ROSETTI¹, Luiz Macellaro SAMPAIO¹, Elizangela Partata ZUZA², Andressa Daroit de SOUZA³, Benedicto Egbert Corrêa de TOLEDO¹, Patrícia Helena Rodrigues de SOUZA¹

¹ Professores da Disciplina de Periodontia das Faculdades Unificadas da Fundação Educacional de Barretos, São Paulo.
² Doutora em Periodontia pela Universidade Estadual Paulista de Araraquara (UNESP), São Paulo.
³ Especialista em Periodontia pela Associação Paulista de Cirurgiões-Dentistas de São José do Rio Preto, São Paulo.

Rua Buarque,67; Cep: 14080-530 ; Campos Elíseos; Ribeirão Preto-SP
Fone: (16)3969-5727 / 8136-2119 ; Fone-fax: (16) 3961-1400 ; E-mail: elizangelazuza@bol.com.br

RESUMO

As plaquetas são as primeiras células a povoarem o local do tratamento realizando, além de hemostasia, um importante efeito na iniciação da resposta vascular, atraindo e ativando neutrófilos, macrófagos e fibroblastos. Outro fator importante, é que o gel de PRP (Plasma Rico em Plaquetas) possui células responsáveis pelo estímulo do crescimento do tecido conjuntivo e aumento da proliferação celular, auxiliando na reparação e regeneração dos tecidos de suporte perdidos. Há estudos na literatura que afirmam que a adição de PRP a defeitos ósseos, associado ou não a enxertos, melhora significativamente o pro-

cesso de reparo, acelerando-o. No entanto, esta afirmativa não é unânime, havendo alguns estudos que afirmam que a adição do PRP não traz benefícios adicionais durante a reparação destes defeitos. Outro item a ser considerado é o tipo de enxerto combinado ao PRP, se autógeno ou não. Diante de tais considerações, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão de literatura sobre o efeito do PRP na aceleração do processo de reparo de defeitos ósseos na boca.

Palavras-Chave: Plasma Rico em Plaquetas, defeitos ósseos, enxertos, osso.

ABSTRACT

The first cells to colonize the area of treatment are the platelets, accomplishing besides hemostasis, an important effect in the initiation of the vascular role, attracting and activating neutrophilic, macrophags and fibroblast cells. Another important factor is that the PRP (platelet-rich plasma) gel has cells that stimulate the connective tissue growth and the cellular proliferation in attempt to repair and regenerate the supportive tissues lost. There are studies in the literature whose affirm that the addition of PRP to bone defects, in association or not to grafts, improve

significantly the repair process, accelerating it. However, this affirmative is not unanimous, once some studies affirm that the addition of PRP does not bring additional benefits during the bone defects repair. Another factor to be considered is the type of the graft combined with PRP, if autogenous or not. Due to such considerations, the purpose of this study was to accomplish a literature review on the effect of PRP in the acceleration of the repair process of the bone defects in the mouth structures.

Keywords: Platelet-rich plasma, bone defects, grafts, bone

INTRODUÇÃO

A perda óssea após exodontias, traumas ou patologias resulta em formas inadequadas em altura e espessura do processo alveolar. Este fato torna-se um problema para o restabelecimento da função mastigatória e estética, devido a qualidade e volume ósseos serem fatores importantes que influenciam o resultado final de qualquer tipo de reabilitação (BUSER et al., 1993; BECKER et al., 1994).

Para a resolução desses problemas podem ser utilizados enxertos ósseos (autólogo, alógeno ou xenólogo), substitutos ósseos (fosfato de cálcio, hidroxiapatita, etc) e a combinação desses materiais (BOYNE e JAMES, 1980). Recentemente, pesquisas têm sido enfocadas para a utilização do plasma rico em plaquetas (PRP) associado ou não aos enxertos ósseos (DE OBARRIO et al., 2000; SHANAMAN et al., 2001; LEKOVIC et al., 2003; MARCACCINI, 2004).

De acordo com Andreasen e Andreasen (2001), as plaquetas são as primeiras células a povoarem o local do tratamento realizando, além de hemostasia, um importante efeito na iniciação da resposta vascular, atraindo e ativando neutrófilos, macrófagos, fibroblastos e células endoteliais. O gel de PRP possui grande quantidade de plaquetas, liberadoras de polipeptídeos mitogênicos (PDGF- fator de crescimento derivado de plaquetas; TGF- fator de crescimento transformador; e IGF-I- fator de crescimento semelhante à insulina), responsáveis pelo estímulo do crescimento do tecido conjuntivo e aumento da proliferação celular (SHANAMAN et al., 2001), auxiliando, portanto, na reparação e regeneração dos tecidos de suporte perdidos (GRAVES et al., 1994; GIANNOBILE et al., 1998).

De acordo com Marx et al. (1998), a adição de PRP nos locais de enxerto ósseo, resulta em velocidades de maturação até duas vezes maior do que as obtidas em enxertos não combinados com PRP, evidenciando sua relação com o aumento de 15% a 30% na quantidade e na densidade óssea. Diante de tais considerações, o objetivo deste estudo é realizar uma revisão de literatura sobre o efeito do PRP na aceleração do processo de reparo de defeitos ósseos na boca.

Revisão de Literatura e Discussão

O tratamento dos defeitos ósseos é um desafio

clínico, pois mesmo que os enxertos ósseos tenham propriedades osteocondutoras, osteoindutoras e osteogênicas, seu uso e previsibilidade são limitados. Isso acontece devido às dificuldades de obtenção de quantidade, forma e tamanho ósseo adequados (LEE, 1997).

O uso de fatores de crescimento foi realizado inicialmente por Lynch et al. (1991) que utilizaram o PRP e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I), em defeitos ósseos periodontais e observaram um excelente crescimento ósseo nos casos tratados com PRP quando comparados aos grupos controle (sem PRP). Ainda em 1991, Lynch et al. testaram uma associação de fatores de crescimento (PDGF + IGF-I) para estudar a regeneração ao redor de implantes de titânio e relataram resultados semelhantes aos encontrados nos defeitos ósseos periodontais.

Alguns estudos demonstraram que o PRP associado a enxertos ósseos, melhora a quantidade e a qualidade de formação óssea, resultando em uma mineralização e consolidação mais rápida do enxerto (MARX et al., 1998; MARX e GARD, 1998; ANITUA, 1999). Um estudo bem sucedido em relação ao PRP foi o de Marx et al. (1998), que realizaram o primeiro e mais persuasivo estudo, utilizando PRP associado a enxertos ósseos autólogos. Eles avaliaram o efeito do PRP nas reconstruções de defeitos ósseos mandibulares de 5 cm ou mais, resultantes de remoções tumorais. O grupo teste recebeu enxertos de osso medular trabeculado com adição de PRP, enquanto o grupo controle recebeu apenas o enxerto ósseo. Radiografias panorâmicas foram tiradas para avaliar a maturidade óssea em intervalos de 2, 4 e 6 meses. Os autores afirmaram que os enxertos ósseos com PRP mostraram mais que o dobro de maturidade em relação ao grupo controle.

Outro estudo que utilizou osso autólogo, mostrando bons resultados foi o de Anitua (1999). Neste estudo, 5 pacientes receberam PRP + osso autólogo em alvéolos, enquanto os outros 5 receberam apenas PRP. Outros 10 pacientes serviram como controle, sendo que os alvéolos foram deixados cicatrizar sem a aplicação do PRP e osso autólogo. Esse autor reportou regeneração óssea total dos alvéolos em 8 dos 10 pacientes tratados. As biópsias nos respectivos locais mostraram osso maduro compacto, com morfologia normal e trabecular bem organizada. Nos outros 2 pacientes do grupo que recebeu apenas PRP, encontrou-se osso parcialmente regenerado com tecido

conjuntivo e trabéculas não organizadas. Os 10 pacientes do grupo controle mostraram tecido conjuntivo preenchendo a maior parte do alvéolo e não foi encontrado osso maduro.

Apesar do estudo anterior ter mostrado melhores resultados quando o PRP é associado ao enxerto ósseo, Shanaman et al. (2001) afirmaram que a adição do PRP não pareceu melhorar a qualidade e quantidade do osso neoformado. Esses autores relataram 3 casos nos quais o PRP foi combinado ao osso FDBA e membrana, para regeneração de defeitos ósseos de rebordos alveolares, antes da instalação de implantes osseointegrados. Os resultados mostraram que houve ganho ósseo quando avaliado clínica e radiograficamente, facilitando a colocação dos implantes. A avaliação histológica dos casos revelou a presença de partículas residuais do aloenxerto, rodeadas de tecido conjuntivo, além de neoformação óssea. A adição do PRP facilitou a manipulação do material de enxerto, porém, os resultados mostraram que não houve vantagens em comparação a outros estudos sem o uso do PRP.

De acordo com Froum et al. (2002), os resultados da associação do PRP ao osso autógeno são promissores, enquanto o mesmo PRP pode não ser efetivo quando usado com substitutos ósseos. Quando o osso autógeno não está presente no enxerto, o PRP não produz a resposta estimulatória desejada, por não existirem células ósseas vitais para promover a osteogênese ou a osteoindução. No entanto, pesquisas recentes têm avaliado a combinação de aloenxertos a fatores de crescimento, PRP, derivados da matriz do esmalte e proteínas morfogenéticas (BMP), a fim de se alcançar propriedade osteoindutora (BOYAN et al., 2006).

Froum et al. (2002) testaram a eficácia do PRP em levantamentos de assoalhos de seios maxilares realizados em três pacientes, sendo que um lado servia como teste (osso bovino inorgânico + PRP) e o contralateral como controle (osso bovino inorgânico). Em 1 desses pacientes foram colocados mini-implantes para posterior realização de histomorfometria, a qual era realizada com trefinação dos mesmos, durante a reabertura para a colocação dos implantes permanentes. Os resultados mostraram que os mini-implantes colocados no grupo teste, mostraram porcentagens de contato entre osso-implante ligeiramente superiores (37.6% a 38.8%) às do grupo controle sem PRP (33.8%). Os autores concluíram pela análise

histomorfométrica que não houve diferença significativa entre os grupos na produção de osso vital ou na interface osso-implante, mostrando que o PRP não traz benefícios adicionais quando associado a substitutos ósseos não vitais.

Discordando do estudo anterior, Kassolis et al. (2000) relataram 15 casos clínicos de levantamento do assoalho de seio maxilar e/ou aumento de rebordo alveolar pré-implantes, utilizando osso FDBA associado ao PRP. A avaliação histológica das biópsias revelaram áreas de formação óssea e osteóides ao redor de partículas do FDBA, sem evidência de células inflamatórias. Pelos achados clínicos e histológicos sugeriram que a combinação do FDBA com o PRP é uma terapêutica alternativa viável na preparação de sítios para implantes. Sugeriram ainda que outros estudos devem ser realizados para determinar se o PRP leva ou não a uma melhor formação ou maturação óssea quando associado a aloenxertos. Essa hipótese precisa ser verificada, já que alguns estudos mostraram que a associação do PRP a substitutos ósseos (aloenxertos) não traz benefícios adicionais satisfatórios (SHANAMAN et al., 2001; FROUM et al., 2002), enquanto que PRP combinado ao osso autógeno mostrou melhora na quantidade e qualidade óssea (MARX et al., 1998; MARX e GARG, 1998; ANITUA, 1999).

Mais estudos longitudinais são necessários para verificar se o PRP é realmente efetivo para uma melhor regeneração dos tecidos perdidos, principalmente enfocando sua combinação com substitutos ósseos, já que sua combinação com osso autógeno tem mostrado excelentes resultados consagrados na literatura.

CONCLUSÃO

De acordo com a revisão de literatura realizada quanto ao efeito do PRP na aceleração do reparo dos defeitos ósseos, é possível concluir que:

A literatura é controversa em relatar se a adição do PRP traz benefícios reais ou não à reparação de defeitos ósseos das estruturas da boca.

O PRP apresenta excelentes resultados quando associado ao osso autógeno, porém quando combinado a substitutos ósseos isso não acontece.

Estudos longitudinais bem estruturados são necessários no intuito de verificar se a adição do PRP em defeitos ósseos, apresenta vantagens ou não ao processo de

reparo, bem como avaliar sua atuação quando associado a substitutos ósseos de natureza diversa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREASEN, J.O.; ANDREASEN, F.M. Texto e atlas colorido de traumatismo dental. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2001, p.13-76.

ANITUA, E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *International Journal of Maxillofacial Implants*, Lombard, v.14, n. 4, p.529-535, 1999.

BECKER, W.; BECKER, B.E.; McGUIRE, M.K. Localized ridge augmentation using absorbable pins and e-PTFE barrier membranes: a new surgical technique. Case reports. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*, Chicago, v.14, n.1, p.49-61, 1994.

BUSER, D.; DULA, K.; BELSER U.; HIRT, H-P.; BERTHOLD, H. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. I. Surgical procedure in the maxilla. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*, Chicago, v.13, n.1, p.29-45, 1993.

BOYAN BD, RANLY DM, SCHWARTZ Z. Use of growth factors to modify osteoinductivity of demineralized bone allografts: lessons for tissue engineering of bone. *Dental Clinics of North America*, Philadelphia, v.50, n.2, p.217-228, 2006.

BOYNE, P.J; JAMES, R.A. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *Journal of Oral Surgery*, Chicago, v.38, n.8, p.613-616, 1980.

DE OBARRIO, J.J.; ARAUZ-DUTARI, J.I.; CHAMBERLAIN, T.M.; CROSTON, A. The use of autologous growth factors in periodontal surgical therapy: platelet gel biotechnology- case reports. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*, Chicago, v.20, n.5, p.486-497, 2000.

FROUM, S.J.; WALLACE, S.S.; TARNOW, D.P.; CHO, S-C. Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bi-

lateral case reports. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*, Chicago, v. 22, n.1, p.45-53, 2002.

GIANNOBILE, W.V.; RYAN, S.; SHIH, M.S.; SU, D.L.; KAPLAN, P.L.; CHAN, T.C. Recombinant human osteogenic protein-1 (Op-1) stimulates periodontal wound healing in class III furcation defects. *Journal of Periodontology*, Chicago, v.69, n.2, p. 129-137, 1998.

GRAVES, D.T.; KANG, Y.M.; KOSE, K.N. Growth factors in periodontal regeneration. *Compendium Supplement*, Lawrenceville, v.18, p.S672-717,1994.

KASSOLIS, J.D.; ROSEN, P.S.; REYNOLDS, M.A. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *Journal of Periodontology*, Chicago, v.71, n.10, p.1654-1661, 2000.

LEE, M.B. Bone morphogenetic proteins: background and implications for oral reconstruction. A review. *Journal of Clinical Periodontology*, Copenhagen, v.24, n.6, p.355-365, 1997.

LEKOVIC, V.; CAMARGO, P.M.; WEINLAENDER, M.; VASILIC, N.; ALEKSIC, Z.; KENNEY, E.B. Effectiveness of a combination of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of mandibular grade II molar furcations in humans. *Journal of Clinical Periodontology*, Copenhagen, v.30, n.8, p.746-751, 2003.

LYNCH, S.E.; BUSER, D.; HERNANDEZ, R.A.; WEBER, H.P.; SITCH, H.; FOX, C.H.; WILLIAMS, R.C. Effects of PDGF/IGF-1 combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study on beagle dogs. *Journal of Periodontology*, Chicago, v.62, n.11, p.710-716, 1991.

LYNCH, S.E.; DE CASTILLA, G.R.; WILLIAMS, R.C.; KIRITSY, C.P.; HOWELL, T.H.; REDDY, M.S.; ANTONIADES, H.N. The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *Journal of Periodontology*, Chicago, v.62, n.7, p.458-467, 1991.

MARCACCINI, A.M. Avaliação do plasma rico em plaquetas no tratamento de defeitos ósseos e lesões periodontais de furca grau II. Estudos histológico e histomorfométrico em cães. Araraquara, SP: Tese Doutorado em Periodontia, Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, 2004.

MARX, R.E.; CARLSON, E.R.; EICHSTAEDT, R.M.; SCHIMMELE, S.R.; STRAUSS, J.E.; GEORGEFF, K.R. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Radiology and Endodontology, St. Louis, v.85, n. 6, p.638-646, 1998.

MARX, R.E.; GARG, A.K. Bone structure, metabolism, and physiology: its impact on dental implantology. Implant Dentistry, Baltimore, v.7, n.4, p.267-275, 1998.

SHANAMAN, R.; FILSTEIN, M.R.; DANESHMEYER, M.J. Localized ridge augmentation using GBR and platelet-rich plasma: case reports. International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry, Chicago, v.21, n.4, p.345-355, 2001.