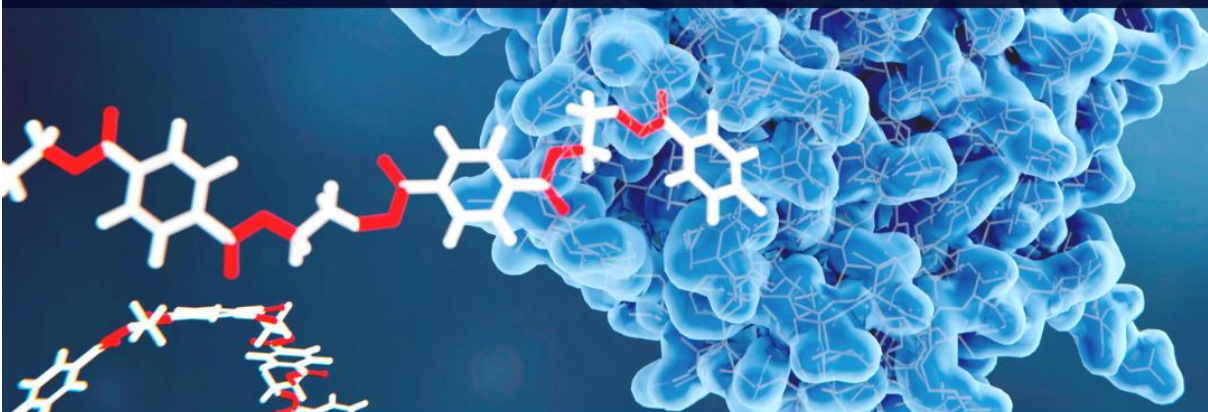




CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PESQUISAS EM BIOQUÍMICA E ENZIMOLOGIA

ORGANIZADORES
IGOR LUIZ VIEIRA DE LIMA SANTOS
CARLIANE REBECA COELHO DA SILVA



1ª

Edição

Acesso livre ao E-Book em
WWW.EDITORASCIENCE.COM.BR

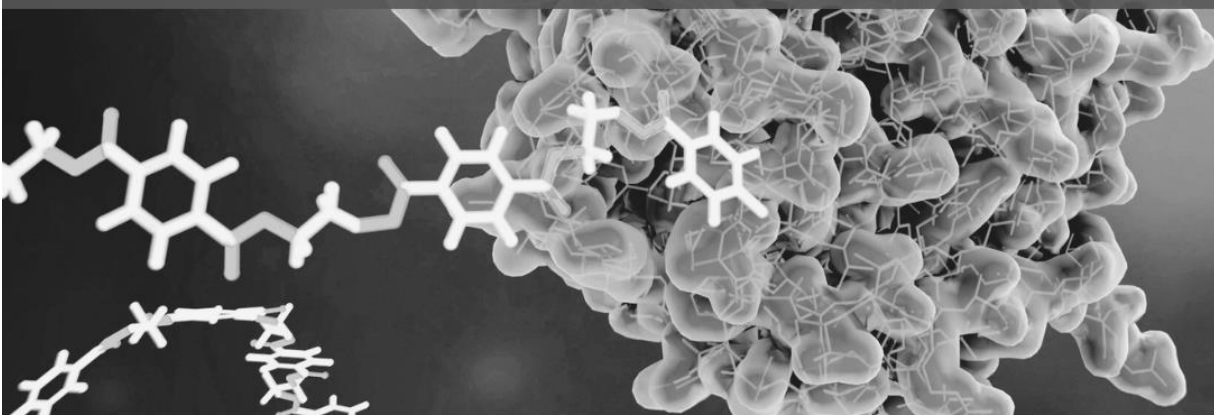
 EDITORA
SCIENCE
ANO 2023



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PESQUISAS EM BIOQUÍMICA E ENZIMOLOGIA

ORGANIZADORES
IGOR LUIZ VIEIRA DE LIMA SANTOS
CARLIANE REBECA COELHO DA SILVA



1ª

Edição

Acesso livre ao E-Book em
WWW.EDITORASCIENCE.COM.BR

CAMPINA GRANDE-PB
 EDITORA
SCIENCE
ANO 2023

Todos os Direitos Desta Edição Reservados à
© 2023 EDITORA SCIENCE
Av. Marechal Floriano Peixoto. 5000.
Campina Grande, PB, 58434-500.
CNPJ: 42.754.503/0001-00

REGISTRO CBL (Câmara Brasileira do Livro)

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)**

Pesquisas em bioquímica e enzimologia [livro eletrônico] / organização Igor Luiz Vieira de Lima Santos, Carliane Rebeca Coelho da Silva. -- 1. ed. -- Campina Grande, PB : Ed. dos Autores, 2023.

PDF

Vários autores.

Bibliografia.

ISBN 978-65-00-75366-0

1. Bioquímica 2. Bioquímica - Estudo e ensino
3. Biotecnologia 4. Enzimologia clínica 5. Pesquisa científica I. Santos, Igor Luiz Vieira de Lima.
II. Silva, Carliane Rebeca Coelho da.

23-165300

CDD-572

Índices para catálogo sistemático:

1. Bioquímica 572

Aline Grazielle Benitez - Bibliotecária - CRB-1/3129



<https://doi.org/10.56001/23.9786500753660>

Para consulta na CBL acesse: <https://www.cbldados.org.br/isbn/pesquisa/>



Editora–Chefe

Pós-Dra. Carliane Rebeca Coelho da Silva

Editores Organizadores

Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos

Pós-Dra. Carliane Rebeca Coelho da Silva

Editoração e Diagramação

Corpo Técnico da Editora Science

Revisão Principal/Por Pares

Os Autores / Revisores *Ad Hoc* / Corpo
Editorial / Organizadores

Revisão Final

Pós-Dra. Carliane Rebeca Coelho da Silva

Programas Registrados de Design

©Canva Pro Registered Design



Copyright © 2023 Editora Science

Copyright Textual © 2023 Os autores

*Copyright da Edição © 2023 Editora
Science*

*Todos os Direitos e os Termos de Cessão de
Direitos Autorais para esta edição foram
cedidos à Editora Science pelos próprios
autores.*

Declaração de Direitos

Todos os direitos reservados.

Qualquer parte deste livro pode ser reproduzida, transmitida de qualquer forma ou por qualquer meio, eletrônico, mecânico, fotocópia, microfilmagem, gravação ou de outra forma, desde que citada a fonte. Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Todos os artigos de autoria inédita, revisão, comentários, opiniões, resultados, conclusões ou recomendações são de inteira responsabilidade do(s) autor(es), e não refletem necessariamente as opiniões dos editores e/ou da empresa.

Para cópias impressas, para compras em massa e/ou informações sobre este e outros títulos da © Editora Science, entre em contato com a editora pelo telefone: Tel.: +55-83-991647953; E-mail: contato@editorascience.com ou editorascience@gmail.com

Siga nossas redes sociais fique por dentro das novidades e amplie o alcance dos nossos livros:

Facebook: <http://www.facebook.com/editorascience>

Instagram: <https://www.instagram.com/editorascience>

© 2023 EDITORA SCIENCE

Editora-Chefe:

PÓS-DRA. CARLIANE REBECA COELHO DA SILVA (EDITORA-CHEFE)

Gerente Editorial:

PROF. DR. IGOR LUIZ VIEIRA DE LIMA SANTOS (UFMG)

Conselho Editorial:

PÓS-DRA. CARLIANE REBECA COELHO DA SILVA (EDITORA-CHEFE)

PROF. DR. IGOR LUIZ VIEIRA DE LIMA SANTOS (UFMG)

DRA. LUCIANA AMARAL DE MASCENA COSTA (UFRPE)

PÓS-DRA. AYRLES FERNANDA BRANDÃO DA SILVA (UFCE)

Corpo Editorial:

PÓS-DRA. CARLIANE REBECA COELHO DA SILVA (EDITORA-CHEFE)

PÓS-DRA. AYRLES FERNANDA BRANDÃO DA SILVA (UFCE)

DR. IGOR LUIZ VIEIRA DE LIMA SANTOS (UFMG)

DRA. LUCIANA AMARAL DE MASCENA COSTA (UFRPE)

DRA. FERNANDA MIGUEL DE ANDRADE (FIS)

DRA. WELMA EMÍDIO DA SILVA (FIS)

MSc. LÚCIA MAGNÓLIA A. SOARES DE CAMARGO (UNIFACISA)

DR. JOSÉ OLÍVIO LOPES VIEIRA JÚNIOR (UENF)

DRA. FRANCIELI DE FATIMA MISSIO (UFSM)

PÓS-DR. CRISTIANO CUNHA COSTA (UFS)

DR. MILTON GONÇALVES DA SILVA JUNIOR (UNIRAGUAIA)

MSc. MARCELO SALVADOR CELESTINO (UNESP)

DR. GABRIEL PARISOTTO (UNISUAM)

DR. MARCUS VINICIUS PERALVA SANTOS (IFTO)

DR. LUIZ ALEXANDRE VALADÃO DE SOUZA (SME-RJ)


PÓS-DRA. MICHELE APARECIDA CERQUEIRA RODRIGUES (UFLO)

LICENSE PUBLICATION DETAILS

Copyright © 2023 Editora Science

Copyright Notice

All content in this work, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) license which permits copying, distribution, and adaptation of the work, provided the original work is properly cited and any changes from the original work are properly indicated. Any altered, transformed, or adapted form of the work may only be distributed under the same or similar license to this one.

© 2023 by Carliane Rebeca Coelho da Silva is licensed under Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International 



**Attribution-NonCommercial-
NoDerivatives 4.0 International
(CC BY-NC-ND 4.0)**

HOW CITE THIS BOOK:

NLM Citation

Santos ILVL, Silva CRC, editor. *Pesquisas em Bioquímica e Enzimologia*. 1st ed. Campina Grande (PB): Editora Science; 2023.

APA Citation

Santos, I. L. V. L. & Silva, C. R. C. (Eds.). (2023). *Pesquisas em Bioquímica e Enzimologia*. (1st ed.). Editora Science.

ABNT Brazilian Citation NBR 6023:2018

SANTOS, I. L. V. L.; SILVA, C. R. C. **Pesquisas em Bioquímica e Enzimologia**. 1. ed. Campina Grande: Editora Science, 2023.

WHERE ACCESS THIS BOOK:

www.editorascience.com.br/

<https://sites.google.com/view/editorascience/E-Books>

Sumário

CAPÍTULO 1	1
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MEL COMERCIAL DE GUARAPUAVA - PR	1
QUALITY EVALUATION OF COMMERCIAL HONEY FROM GUARAPUAVA – PR	1
DOI: https://doi.org/10.56001/23.9786500753660.01	1
Elisa Martins Castro	1
Ana Carla Piasecki da Costa	1
Welligton Luciano Braguini	1
CAPÍTULO 2	16
OZONIOTERAPIA E CÂNCER: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA ATUAL	16
OZONE THERAPY AND CANCER: A CURRENT SYSTEMATIC REVIEW	16
DOI: https://doi.org/10.56001/23.9786500753660.02	16
Ágata Silva Cabral	16
CAPÍTULO 3	27
ANÁLISE DE AMINOÁCIDOS PADRÃO ALANINA E BETA-ALANINA POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA E ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO	27
ANALYSIS OF STANDARD AMINO ACIDS ALANINE AND BETA-ALANINE BY THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY AND INFRARED SPECTROSCOPY	27
DOI: https://doi.org/10.56001/23.9786500753660.03	27
Lidervan de Paula Melo	27
CAPÍTULO 4	39
MASSA FRESCA TIPO PASTEL COM ADIÇÃO DE ÁCIDO FUMÁRICO	39
FRESH DOUGH FOR PASTRIES WITH THE ADDITION OF FUMARIC ACID	39
DOI: https://doi.org/10.56001/23.9786500753660.04	39
Rafael Jaremtchuk	39
Veridiana de Almeida Flores de Oliveira	39
Fernanda Francielle de Castro	39
Natallya Marques da Silva	39
Carmen Torres Guedes	39
Francielle Frirdrichesn Sgorlon Modesto	39
Natalia Santos Pretes	40
Amanda Tatiane Correa Pereira dos Santos	40
Pablo Ricardo Sanches de Oliveira	40

Rita de Cassia Dutra 40

CAPÍTULO 5 48

PUBLIQUE COM A SCIENCE EM FLUXO CONTÍNUO 48

PUBLISH WITH SCIENCE IN CONTINUOUS FLOW 48

DOI: <https://doi.org/10.56001/23.9786500753660.05> 48

AUTORES 48

AUTORES 48

AUTORES 48

SOBRE OS ORGANIZADORES DO LIVRO DADOS CNPQ: 50

PREFÁCIO À 1ª EDIÇÃO

É com grande entusiasmo que apresentamos a 1ª Edição do livro "Pesquisas em Bioquímica e Enzimologia". Esta obra nasce como resultado do esforço coletivo de pesquisadores dedicados, cujas investigações se debruçam sobre os intricados mecanismos que governam a vida em seu nível mais fundamental. Através deste livro, mergulharemos em um fascinante universo de moléculas, reações e processos celulares, desvendando os segredos da bioquímica e da enzimologia.

O estudo da Bioquímica nos proporciona uma visão aprofundada dos processos químicos que ocorrem dentro dos organismos vivos, elucidando os fundamentos da vida em seus mais diversos aspectos. Juntamente com a Enzimologia, que explora as fascinantes enzimas, verdadeiros catalisadores biológicos, essas disciplinas oferecem uma base sólida para a compreensão dos mecanismos celulares que sustentam a vida.

Nesta obra, reunimos um conjunto diversificado de temas, abrangendo desde o funcionamento de enzimas em sistemas biológicos complexos até as mais recentes descobertas em vias metabólicas e sua aplicação em campos clínicos. Os capítulos aqui presentes representam um valioso acervo de conhecimento, abordando tanto aspectos básicos quanto aplicações práticas dessas disciplinas científicas cruciais.

Este livro se destina não apenas a professores e alunos universitários, mas também a pesquisadores e profissionais da área, que encontrarão nessas páginas uma fonte de referência atualizada e relevante para suas atividades acadêmicas e científicas.

Acreditamos que a publicação deste livro marcará um importante passo para o avanço contínuo das pesquisas nas áreas, incentivando novas descobertas e fomentando a colaboração entre cientistas de diferentes partes do mundo.

Agradecemos imensamente a todos os autores que compartilharam seus estudos e conhecimentos conosco, tornando possível a realização desta obra. Esperamos que ela seja apenas o início e inspiração para uma série de novos estudos abordando o tema que contribuirão significativamente para o progresso científico e a compreensão dos complexos processos biológicos.

Que este livro inspire e motive futuras gerações de cientistas a continuarem desbravando os mistérios da vida e contribuindo para o bem-estar e progresso da humanidade.

Boa Leitura
Os Organizadores

CAPÍTULO 1

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MEL COMERCIAL DE GUARAPUAVA - PR

QUALITY EVALUATION OF COMMERCIAL HONEY FROM GUARAPUAVA – PR

DOI: <https://doi.org/10.56001/23.9786500753660.01>

Submetido em: 30/06/2023

Revisado em: 22/07/2023

Publicado em: 23/07/2023

Elisa Martins Castro

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Ciências Biológicas,
Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/3471888581216349>

Ana Carla Piasecki da Costa

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Nutrição, Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/3500204862811903>

Welligton Luciano Braguini

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Ciências Biológicas,
Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/697259943534875527>

Resumo

O mel é um produto natural rico em nutrientes produzido a partir do néctar das flores pelas abelhas do gênero *Apis*. É muito utilizado na culinária e também em tratamentos naturais de saúde. Com a descoberta de seus benefícios, houve um aumento na sua comercialização, por esse motivo existem padrões necessários que os méis comerciais devem seguir. Sendo assim, neste trabalho méis comerciais foram avaliados de acordo com a legislação para o mel no Brasil. Constituído principalmente por glicose e frutose, também com um alto percentual de água e outros nutrientes, como minerais, hidratos de carbono, aminoácidos e etc, o mel é um produto de origem animal. Foram analisadas cinco amostras de méis comerciais do município de Guarapuava-PR, por meio de análises físico-químicas. Os parâmetros analisados foram pH, acidez livre, total e lactônica, corantes, determinação de microrganismos contaminantes pela reação de Fiehe, verificação de albuminóides pela reação de Lund e determinação de amido e dextrinas pela reação de Lugol. Também foi verificada a presença de HMF (hidroximetilfurfural), açúcares redutores e enzima diastásica.

Utilizou-se os padrões estabelecidos pela legislação brasileira para comparação dos resultados dos experimentos.

Palavras-Chave: Mel, hidroximetilfurfural, acidez total, microrganismos, açúcares redutores.

Abstract

Honey is a natural product rich in nutrients produced from the nectar of flowers by bees of the genus *Apis*. It is widely used in cooking and also in natural health treatments. With the discovery of its benefits, there was an increase in its commercialization, for this reason there are necessary standards that commercial honeys must follow. Therefore, in this work, commercial honeys were evaluated according to the legislation for honey in Brazil. Honey is a product of animal origin consisting mainly of glucose and fructose, also with a high percentage of water and other nutrients, such as minerals, carbohydrates, amino acids, etc. Five samples of commercial honeys from the Guarapuava - PR were analyzed through physical-chemical analysis. The evaluated parameters were pH, free, total and lactic acidity, dyes, determination of contaminating microorganisms by the Fiehe reaction, presence of albuminoids by the Lund reaction, and determination of starch and dextrans by the Lugol reaction. The presence of HMF (hydroxymethylfurfural), reducing sugars and diastase enzyme was also verified. The standards established by Brazilian legislation were used to compare the results of the experiments.

Keywords: Honey, hydroxymethylfurfural, total acidity, microorganisms, reducing sugars

Introdução

O mel apresenta uma composição principal de glicose e frutose, além de outros hidratos de carbono, minerais, aminoácidos, pigmentos e grãos de pólen (ALVIM, 2004). De acordo com a legislação brasileira, Ministério da Agricultura e Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA a definição de mel é:

“Entende-se por mel, o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia.” (BRASIL, 2000)

Por ser um alimento utilizado desde os primórdios da humanidade, como consta em inúmeros manuscritos e pinturas egípcias, romanas e gregas, apresenta-se como um componente básico da alimentação no mundo, e a avaliação de sua qualidade é fundamental para garantir um produto satisfatório (ALVIM, 2004; FINCO; MOURA; SILVA, 2010).

No Brasil existem várias espécies de abelhas, incluindo a *Apis melífera*. Essa espécie de abelha com ferrão foi introduzida no Brasil em 1839 pelo padre Antônio Carneiro Aureliano que trouxe de uma cidade de Portugal (WIESE; SALOME, JAMES,

2020). A *A. mellifera* é muito conhecida por ser de fácil acesso e de fácil manuseio, conhecida como abelha-de-mel, abelha-europeia. Nas glândulas hipofaríngeas das abelhas são produzidas as enzimas amilase, invertase e a glicose oxidase, normalmente encontradas no mel, após o néctar contendo o amido ser coletado, a enzima invertase é responsável pela inversão da sacarose em glicose e frutose (DESEYN; BILLEN, 2005).

O mel começou a ser investigado por possuir propriedades como antibacteriana, antibiótica, anticárie, anti-inflamatória, antimicrobiana, bioestimulante, depurativa, emoliente, energética, imunoestimulante e cicatrizante (ALMASAUDI, 2021; BARBOSA *et al.*, 2009; MASAD *et al.*, 2021; SARTORE *et al.*, 2021). Essas propriedades fizeram do mel um importante agente fitoterápico.

A legislação brasileira instituiu alguns padrões que méis comerciais devem seguir para sua comercialização por ser um produto de origem animal, é de importância e necessidade que seja de boa qualidade, sendo proibido a adição de qualquer outro composto diferente de sua composição natural (BRASIL, 2000). Os parâmetros físico-químicos utilizados para análise de amostras de mel comercial de Guarapuava-PR foram: a presença de enzimas diastásicas, HMF (hidroximetilfurfural), açúcar redutor, pH, acidez livre, lactônica e total, pesquisa de microrganismos contaminantes pela reação de Fiehe, presença de albuminoides pela reação de Lund e pesquisa de amido e dextrinas no mel pelo teste do Lugol, além da pesquisa de corantes.

Metodologia

- **Amostras de mel**

As amostras de mel foram adquiridas no período de julho a agosto de 2022 em estabelecimentos comerciais da cidade de Guarapuava. Após a aquisição, as amostras foram nomeadas como: mel A, B, C, D e E, e mantidas em local seco e a temperatura de 20-25°C. As análises foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Toxicologia Analítica (Unicentro).

- **Análises físico-químicas**

Preparação da amostra de mel para análise

Amostras de mel na forma de torrões ou grânulos grandes foram homogeneizadas num almofariz com o auxílio de um pistilo. Para xaropes densos, foi aquecida a amostra

a 40 ± 1 °C, em banho-maria e resfriada à temperatura ambiente, antes de realizar os ensaios. Amostras de mel utilizadas para a determinação da atividade diastásica e do hidroximetilfurfural não foram aquecidas.

Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (ZENEBOON; PASCUET; TIGLEA, 2008) com pHmetro digital. Para a determinação do pH, foram pesados 10 g de cada amostra de mel em balança analítica, em seguida diluída em 75 mL de água destilada. O conteúdo foi agitado até a sua homogeneização e deixado em repouso durante 10 minutos, antes de se proceder à leitura. Posteriormente, a leitura da amostra foi determinada no pHmetro previamente calibrado com solução tampão de pH 4 e 7.

Determinação de acidez livre, lactônica e total

A acidez total de méis foi determinada por meio da determinação da acidez livre e lactônica e foi determinada de acordo com o método n° 962.19 da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC INTERNATIONAL, 2019). A acidez livre é a medida obtida da titulação com hidróxido de sódio até o ponto de equivalência. A acidez lactônica é obtida pela adição de um excesso de hidróxido de sódio que é titulado com ácido clorídrico. A acidez total é obtida pela somatória entre acidez livre e lactônica. Através das fórmulas 1 e 2, a seguir, foram obtidos a acidez livre e a acidez lactônica.

$$\text{Fórmula 1: Acidez livre } \left(\frac{mEq}{Kg} \right) = [(V - V_b) \times 50 \times f]/P$$

V = n° de mL da solução de NaOH 0,05 N gasto na titulação

V_b = n° de mL de solução de NaOH 0,05 N gasto na titulação para o branco

f = fator da solução de NaOH 0,05 N e P = massa da amostra em g

$$\text{Fórmula 2: Acidez lactônica } \left(\frac{mEq}{Kg} \right) = [(10 - V_a) \times 50 \times f']/P$$

V = n° de mL de solução de HCl 0,05 N gasto na titulação

f' = fator da solução de HCl 0,05 N e P = massa da amostra em g

Reação de Fiehe

Esta reação é utilizada para verificar a presença de microrganismos contaminantes presentes no mel. Para a reação de Fiehe, foram pesados 5 g da amostra de mel e acrescentou-se 5 mL de éter etílico, em seguida foi agitado vigorosamente. A camada etérea foi transferida para um tubo de ensaio e adicionou-se 0,5 mL de solução clorídrica de resorcina, deixando em repouso por 10 minutos (ZENEON; PASCUET; TIGLEA, 2008). O resultado foi considerado positivo para microrganismos quando do aparecimento de uma coloração vermelha intensa.

Reação de Lund

A reação de Lund é utilizada para verificar a presença de albuminoides, proteína natural presente apenas em méis de abelha, mas méis artificiais não os possuem, assim a ausência de albuminoides indica fraude. O teste de Lund foi realizado utilizando-se 2 g da amostra de mel diluída em 20 mL de água, transferiu-se para proveta de 100 mL e adicionaram-se 5 mL de solução de ácido tânico 0,5% e água até completar o volume de 40 mL. Essa preparação foi mantida em repouso por 24 horas. Em caso de resultado positivo observa-se a formação de um precipitado (no intervalo de 0,6 a 3,0 mL) (ZENEON; PASCUET; TIGLEA, 2008).

Reação de Lugol

Para atender a comercialização e garantir a qualidade do mel, Zenebon *et al.* (2008) recomenda a reação de Lugol para pesquisa da presença de amido e dextrinas no mel. A reação de Lugol é uma reação colorimétrica qualitativa, realizada conforme metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008). Para determinação, foram utilizadas 10 g das amostras de mel diluídas com 20 mL de água destilada. As amostras foram aquecidas em banho-maria por uma hora, e em seguida resfriadas à temperatura ambiente. Após resfriadas, foi adicionado 0,5 mL da solução de Lugol. Quando positivo para amido e dextrinas, uma coloração azul intensa é observada.

Pesquisa de enzimas diastásicas

A diástase (alfa-amilase) é uma das enzimas presentes no mel, formada principalmente pelas glândulas hipofaríngeas das abelhas, sendo encontrada também, em baixa proporção, nos grãos de pólen. Sua função é digerir a molécula de amido, estando, possivelmente, envolvida na digestão do pólen. Para realizar essa pesquisa foi

dissolvido 1 g de mel em 20 mL de água destilada previamente fervida e resfriada a 45°C. Em um tubo de ensaio, previamente lavado com água fervida, adicionar 10 mL de solução de mel (não filtrada) e em seguida 1 mL de solução de amido solúvel a 1% recém preparada e límpida. Os demais 10 mL restantes foram guardados em outro tubo para prova em branco realizada no final do teste. O tubo que continha a mistura com solução de amido foi agitado e deixado em banho-maria a 45°C exatamente 1 h. Em 2 tubos (branco e ensaio) foram adicionados, gotas de solução de lugol e observado a cor que o líquido desenvolveu. Quando, após a adição do lugol, a cor do líquido no tubo de ensaio ficar mais escura que a da solução original do mel, isto é, de amarelo a amarelo esverdeado ou pardo, significa que todo o amido foi sacarificado pela presença, no mel, de enzimas diastásicas; se, porém, o líquido torna-se azul, a sacarificação não foi realizada, indicando ausência ou destruição das enzimas diastásicas. Finalmente, se a cor do líquido se apresenta de cor violeta forte ao violeta pardo, é um indicativo de diminuição do poder diastásico que transforma o amido somente em dextrinas. Isso acontece em mel centrifugado onde ocorre um certo aquecimento durante o processo e nas misturas de mel natural com mel artificial.

Pesquisa de corantes

A pesquisa de corantes foi realizada com adição de 2 mL de H₂SO₄ a 5% em 10 mL de solução de mel dissolvida em água destilada. Neste procedimento o mel deve permanecer com a coloração inalterada. Quando há substâncias corantes adicionadas ao mel, a cor passa gradualmente de violeta a rosa.

Determinação de hidroximetilfurfural (HMF)

O conteúdo de hidroximetilfurfural (HMF) foi determinado por meio do método espectrofotométrico a 284 e 336 nm, conforme método n° 980.23 (AOAC INTERNATIONAL, 2019). A formação de HMF no mel, bem como em vários outros alimentos, deve-se à desidratação das hexoses catalisadas por ácidos. O HMF geralmente não está presente em méis frescos. Seu conteúdo tende a aumentar durante o processo de aquecimento e ao longo do tempo de estocagem, pela reação de Maillard, em carboidratos ou desidratação catalítica ácida das hexoses. O HMF é um dos principais produtos de degradação no mel, sendo o aumento de sua concentração influenciada pelo baixo pH, acidez total, minerais, origem botânica, umidade, temperatura e estresse fotoquímico (GEANĂ *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2008).

Neste experimento foram pesados com precisão $5 \pm 0,001$ g de mel em béquer de 50 mL e, o conteúdo transferido com auxílio de 25 mL de água destilada para um balão volumétrico de 50 mL. Em seguida foi adicionado 0,5 mL de solução de Carrez I. Logo após, foi adicionado 0,5 mL de solução de Carrez II. O volume foi completado para 50 mL e filtrado em papel filtro, descartando os primeiros 10 mL do filtrado. 5 mL do filtrado foi colocado em dois tubos de ensaio e adicionou-se 5 mL de água em cada um dos tubos (amostra) e 5 mL de bissulfito de sódio 0,2% no tubo referência. O material foi agitado fortemente por 3 minutos e a absorbância da amostra em 284 e 336 nm foi determinada em cubeta de 1 cm.

Para o cálculo do HMF das amostras a equação a seguir foi utilizada (Fórmula 3):

$$\text{Fórmula 3: } HMF \text{ mg/Kg} = [(A_{284} - A_{336}) \times 149,7 \times 5] / P$$

P = massa da amostra em g

5 = massa nominal da amostra

126 = peso molecular do HMF

1000 = conversão de g para mg

A₂₈₄ = Leitura absorbância a 284 nm

A₃₃₆ = leitura absorbância a 336 nm

149,7 = $(126 / 16830) \times (1000 / 10) \times (1000 / 5)$

16830 = absorvidade molar do HMF a 284 nm

10 = diluição de 5 g de mel para 50 mL

Determinação de açúcares redutores

A solução de mel das amostras foi preparada pesando-se 0,7g de mel e aferindo o volume em balão de 100 mL com água destilada (solução estoque). Para quantificação de açúcares redutores foi utilizado o método calorimétrico do 3,5-Dinitrosalicílico (DNS), descrito segundo Miller (MILLER, 1959). Na análise, 0,2 mL das amostras foram diluídas com 1,3 mL de água e adicionado o reagente de DNS. Esse material foi aquecido e analisado a absorbância do composto formado em 540 nm. A curva padrão de glicose foi utilizada para determinação das concentrações de açúcar redutor nas amostras.

- **Análises estatísticas**

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Excel[®]. Os dados foram analisados, em delineamento inteiramente casualizado, onde foram feitas análises de variância, com posterior comparação das diferenças entre as médias pelo teste *T* de *Student* com intervalo de confiança de 95%.

Resultados e Discussão

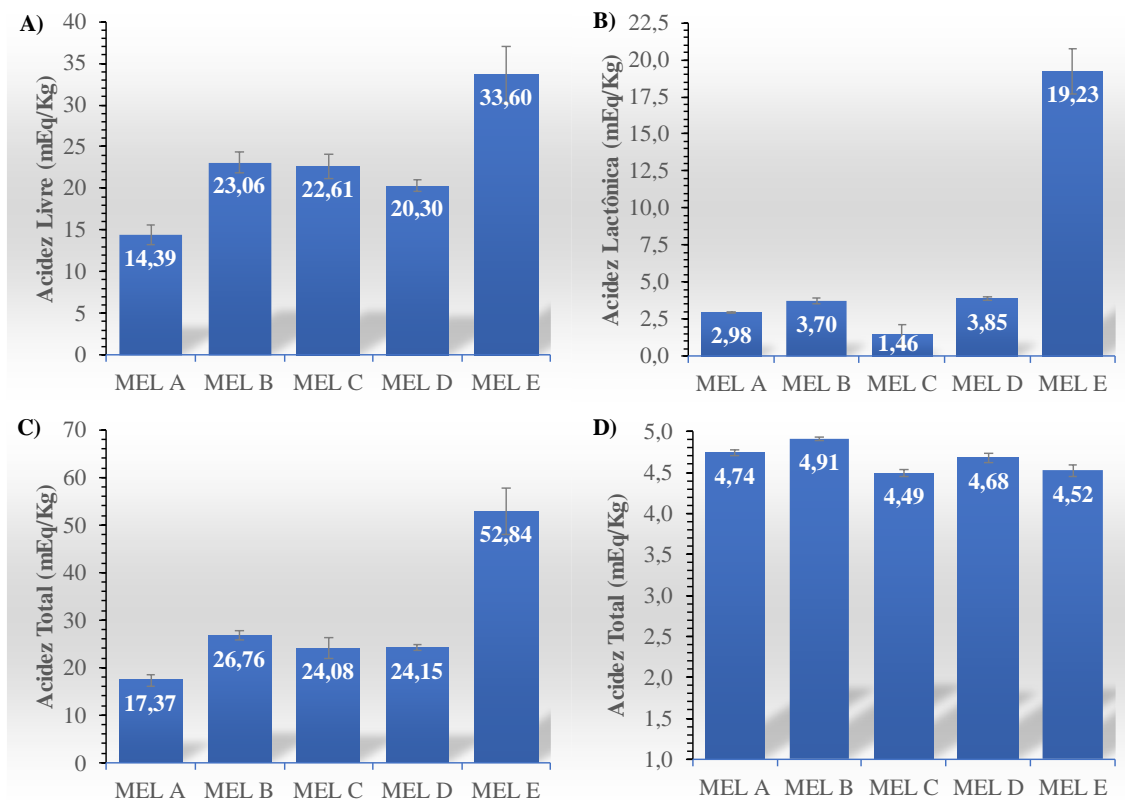
- **Acidez livre, lactônica, total e pH das amostras de mel**

Na determinação da acidez livre, mel A apresentou o menor valor ($14,39 \pm 1,2$ mEq/Kg), enquanto que o mel E apresentou uma acidez livre de $33,60 \pm 3,4$ mEq/Kg (Figura 1A). A ordem crescente de acidez livre estabelecida foi: mel E > mel B > mel C > mel D > mel A.

A acidez lactônica foi de $19,23 \pm 1,54$, para o mel E. As amostras apresentaram acidez lactônica em ordem crescente da seguinte forma: mel E > mel D > mel B > mel A > mel C (Figura 1B).

Valores de Acidez Total acima de 50 mEq/Kg de mel estão fora da legislação para qualidade do mel sendo reprovado. A acidez total para o mel E foi de $52,84 \pm 4,96$ mEq/Kg, as demais amostras de mel apresentaram valores que variaram 17,37 a 24,15 mEq/Kg (Figura 1C). Assim, das amostras analisadas apenas a amostra de mel E apresentou acidez total no limite de 50 mEq/Kg, como observado pelo desvio padrão da média. Os méis selecionados como amostras do presente trabalho foram diluídos, e o pH também foi avaliado (Figura 1D). O pH das amostras analisadas foi $4,91 \pm 0,02$ (mel B), $4,74 \pm 0,03$ (mel A), $4,68 \pm 0,06$ (mel D), $4,52 \pm 0,07$ (mel E), e $4,49 \pm 0,04$ (mel C) (Figura 1D). A acidez do mel deve-se à presença de ácidos orgânicos, principalmente ácido glicônico, em equilíbrio com suas lactonas. Apesar de não se encontrar legislado o pH do mel pode variar entre 3,4 e 6,1 e ter um valor médio de 3,98 (AOAC INTERNATIONAL, 2019). Dessa forma, todas as amostras apresentaram pH dentro dos limites da legislação para a qualidade do mel.

Figura 1: Acidez livre (A), acidez lactônica (B), acidez total (C) e pH (D) de amostras de méis comercializados em Guarapuava -Pr. Os dados representam a média \pm D.P. de 3 experimentos independentes.



Fonte: Dados do autor.

• Reação de Fiehe, Lund e Lugol

A tabela 1 mostra os resultados obtidos para as reações de Fiehe, Lund e Lugol. A reação de Fiehe indica presença de microrganismos contaminantes. Observou-se que todas as amostras desenvolveram a cor vermelha, mas apenas 3 amostras com maior intensidade de cor (mel B, C e E = ++++) tabela 1, numa escala que vai de uma cruz (+) até cinco cruces (+++++). O aparecimento de coloração vermelha indica a presença de Hidroximetilfurfural (HMF) que reage com a resorcina. As amostras de mel A e D apresentaram uma leve cor vermelha (+), portanto, a cor vermelha indica mel de má qualidade e a intensidade do vermelho está relacionada à quantidade de HMF presente no mel (AOAC INTERNATIONAL, 2019; WOISKY; SALATINO, 2015).

A reação de Lund, que indica a presença de albuminoides no mel de boa qualidade apresentou resultado positivo para a proteína, sendo todos considerados méis de origem natural. O teste de Lugol foi realizado para avaliar a presença de amido ou dextrinas no

mel (ZENEON; PASCUET; TIGLEA, 2008). A reação de lugol é um teste colorimétrico qualitativo realizado conforme preconizado na metodologia de Zenebon *et al.* (2008). Nenhuma das amostras de mel analisadas apresentaram teste positivo (Tabela 1). A presença de corantes também foi analisada e não foi verificada sua presença nas amostras analisadas. (Tabela 1)

Tabela 1: Reações de Fiehe, Lund, Lugol e pesquisa de corantes em amostras de mel comercial.

MEL	FIEHE (intensidade da cor)	LUND	LUGOL	Corantes
Mel A	+	positivo	negativo	negativo
Mel B	+++	positivo	negativo	negativo
Mel C	+++	positivo	negativo	negativo
Mel D	+	positivo	negativo	negativo
Mel E	+++	positivo	negativo	negativo

Fonte: Dados do autor.

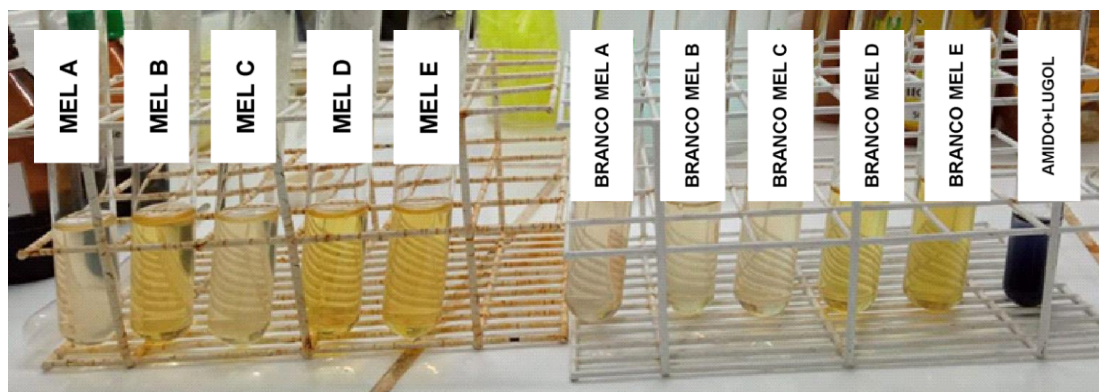
Embora as amostras apresentaram a presença albuminoides (Lund positivo), ausência de amido e dextrinas (lugol negativo), e corantes negativo, o teste de Fiehe demonstrou que as amostras apresentaram contaminação por microrganismos, o que é bastante comum, devido ao processo de coleta e armazenamento do mel produzido no Brasil. Entretanto, as amostras de mel B, C e E apresentaram-se com uma maior contaminação do mel.

- **Enzimas diastásicas**

A presença da enzima diastase (alfa-amilase), indica que o mel é verdadeiro, pois, ela é produzida pelas glândulas hipofaringeanas das abelhas e por esse motivo é encontrada no mel, sua função é digerir todo o amido (DONER, 2003). Para realizar esse teste foi adicionado às amostras o corante lugol, substância composta por iodo e iodeto de potássio. O iodo é capaz de se inserir no meio das moléculas de amido, em particular na molécula de amilose, desenvolvendo uma coloração azul intensa típica. Nas amostras analisadas verificou-se a formação de uma cor amarela a amarelo esverdeado claro, indicando que todo o amido foi digerido pela presença, no mel, de enzimas diastásicas.

Desta forma, é possível concluir que nas amostras analisadas há a presença de enzimas diastásicas.

Figura 2: Fotografia representativa da pesquisa de enzimas diastásicas nas amostras de mel comercial.



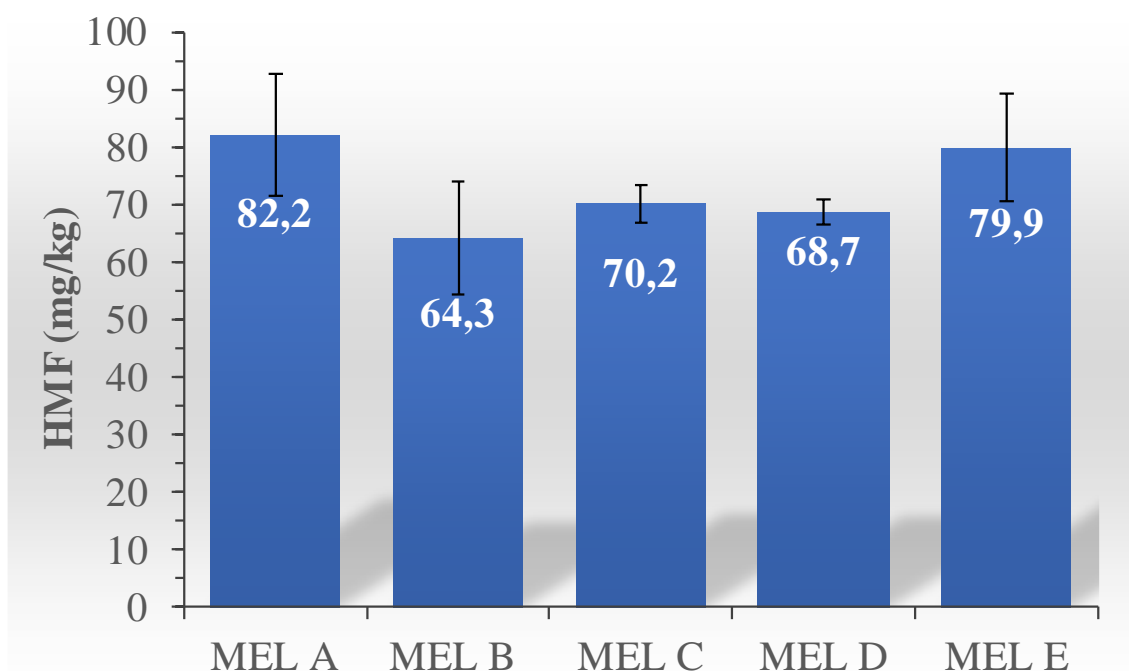
Fonte: Dados do autor.

• Pesquisa de hidroximetilfurfural

A formação de HMF no mel, bem como ocorre em vários alimentos, ocorre devido a desidratação das hexoses catalisadas por ácidos, HMF não está presente em mel fresco. Mas aumenta durante o aquecimento e estocagem pela reação de Maillard. O aumento da concentração é influenciada pelo baixo pH, acidez total, minerais, origem botânica, umidade, temperatura e estresse fotoquímico (AOAC INTERNATIONAL, 2019).

A figura 3 mostra os valores de HMF (mg/Kg). Das amostras analisadas o mel A e o mel E apresentaram os maiores valores, $82,2 \pm 10,6$ e $79,9 \pm 9,3$ mg/Kg, respectivamente. O mel B, mel C e mel D apresentaram valores entre 60 e 70 mg/Kg de HMF. Segundo a Portaria 6 de 25 de julho de 1985 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento da Secretaria de Inspeção de Produto Animal, os limites para mel comercial de mesa é 60 mg/Kg (BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 1985). Apenas a amostra de mel B apresentou valores dentro do desvio padrão: $64,3 \pm 9,8$ mg/Kg de HMF. A metodologia indicada pela legislação brasileira consiste na verificação do HMF utilizando o método espectrofotométrico a 284 e 336 nm, conforme o método 980.23 da AOAC - Associação oficial de Químicos agrícolas dos EUA (1998). Os dados obtidos neste estudo mostram que as amostras estão aquém do valor previsto na Portaria nº 6 de 1985.

Figura 3: Quantidade de hidroximetil-furfural nas amostras de mel avaliadas. Os dados representam a média \pm D.P. de 3 experimentos independentes.

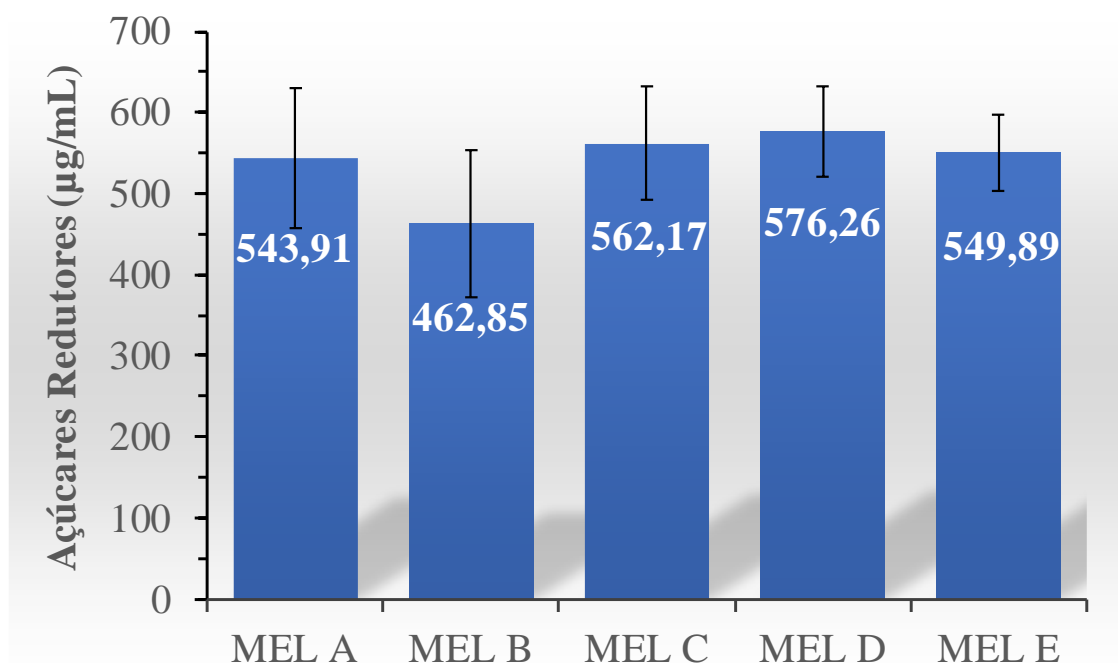


Fonte: Dados do autor.

- **Açúcar redutor**

O teste de açúcares redutores no mel é realizado para identificar possíveis adulterações, como adição de sacarose ou outros açúcares não redutores, de acordo com o método colorimétrico 3,5-Dinitrosalicílico (DNS) descrito por Miller (MILLER, 1959). A quantidade permitida pela Instrução Normativa nº 11 do Ministério da Cultura e Abastecimento é um valor inferior a 65 g/100g ou 0,65 g de açúcar redutor/g de mel. A quantidade foi determinada pela leitura de absorvância do composto formado em 540 nm, com auxílio da curva padrão de glicose em $\mu\text{g/mL}$. Pelos dados mostrados na figura 4, os valores de açúcar redutor foram 543,9 $\mu\text{g/mL}$ (mel A), 462,85 $\mu\text{g/mL}$ (mel B), 562,17 $\mu\text{g/mL}$ (mel C), 576,26 $\mu\text{g/mL}$ (mel D), e 549,89 $\mu\text{g/mL}$ (mel E). Como as amostras foram diluídas na concentração de 7 mg/mL e 200 μL foram utilizados nas determinações, as quantidades obtidas foram: 0,39 (mel A), 0,33 (mel B), 0,40 (mel C), 0,41 (mel D) e 0,39 (mel E) g/g (gramas de açúcar redutor por grama de mel). Pelos valores obtidos, nenhuma das amostras apresentaram valores de açúcar redutor fora do estabelecido pela Instrução Normativa nº 11 do Ministério da Cultura e Abastecimento (BRASIL, 2000).

Figura 4: Quantidade de açúcar redutor presente nas amostras de mel. Os dados representam a média de 3 experimentos independentes \pm D.P.



Fonte: Dados do autor.

Considerações Finais

As amostras avaliadas mostraram não apresentar corantes, entretanto, a presença de microrganismos foi detectada pela reação de Fiehe, com maior intensidade nas amostras C, D e E. A presença de proteínas tipo albumina (albuminóides) foi comprovada, determinando, por outro parâmetro, uma boa qualidade do mel, além da presença de enzimas diastásicas, que digerem o amido extraído do grão de pólen. As amostras apresentaram altos valores para o HMF. A formação de HMF no mel está relacionada à desidratação de hexoses como a glicose catalisada por ácidos. Sua presença indica que não se trata de méis frescos. Entre os inúmeros fatores que podem contribuir para o acúmulo de HMF estão a origem botânica, a umidade, a temperatura e o estresse fotoquímico sofrido pelo mel. Além desses fatores, o aumento de HMF também acontece pelo baixo pH e acidez total do mel. Todas as alterações encontradas nas amostras de mel demonstram que as operações de extração, filtração, decantação, classificação, envase e estocagem podem estar à margem da legislação brasileira. Nesse sentido, embora foram avaliadas apenas 5 amostras comerciais, sugere-se que se providencie melhores condições de fiscalização na obtenção e envase deste alimento.

Agradecimentos

A Unicentro pela disponibilidade do espaço laboratorial para realização dos experimentos.

Referências

ALMASAUDI, Saad. The antibacterial activities of honey. **Saudi journal of biological sciences**, [s. l.], v. 28, n. 4, p. 2188–2196, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33911935/>. Acesso em: 27 jun. 2023.

ALVIM, C.N. O Mel e Suas Características. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, [s. l.], v. 3, p. 1–7, 2004.

AOAC INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis**. 21. ed. Gaithersburg: AOAC International, 2019. *E-book*. Disponível em: <https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis-21st-edition-2019/>. Acesso em: 1 jun. 2022.

BARBOSA, Maria Helena *et al.* Ação terapêutica da própolis em lesões cutâneas. **Acta Paulista de Enfermagem**, [s. l.], v. 22, n. 3, p. 318–322, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ape/a/FvCrphqjwS67zY5LvsWktSP/>. Acesso em: 27 jun. 2023.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, Pecuária e Abastecimento Secretaria de Inspeção de Produto Animal. Portaria nº 6, de 25 de julho de 1985. [s. l.], 1985. Disponível em: <https://bibliodigital.unijui.edu.br:8443/xmlui/handle/123456789/5028>. Acesso em: 1 jun. 2023.

BRASIL. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel Instrução Normativa Nº 11, de 20 de Outubro de 2000**. [S. l.: s. n.], 2000. Disponível em: https://freitag.com.br/files/uploads/2018/02/portaria_norma_332.pdf. Acesso em: 1 jun. 2022.

DESEYN, Jeroen; BILLEN, Johan. Age-dependent morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of *Apis mellifera* workers (Hymenoptera, Apidae). **Apidologie**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 49–57, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1051/apido:2004068>. Acesso em: 27 jun. 2023.

DONER, L.W. HONEY. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**, [s. l.], p. 3125–3130, 2003. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B012227055X006003>. Acesso em: 19 maio 2023.

FINCO, F.D.B.A.; MOURA, L.L.; SILVA, I.G. Propriedades físicas e químicas do mel de *Apis mellifera* L. **Food Science and Technology**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 706–712, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/cta/a/VxgLvTVLdpFV5x8w7N3YXPs/>. Acesso em: 1 jun. 2022.

GEANĂ, Elisabeta Irina *et al.* Evaluation of honey in terms of quality and authenticity based on the general physicochemical pattern, major sugar composition and $\delta^{13}C$

signature. **Food Control**, [s. l.], v. 109, p. 106919, 2020.

MASAD, Razan J. *et al.* The Immunomodulatory Effects of Honey and Associated Flavonoids in Cancer. **Nutrients**, [s. l.], v. 13, n. 4, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33924384/>. Acesso em: 27 jun. 2023.

MILLER, Gail Lorenz. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 426–428, 1959. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac60147a030>. Acesso em: 1 jun. 2022.

SARTORE, Steven *et al.* Honey and Its Antimicrobial Properties: A Function of a Single Component, or the Sum of Its Parts?. **Cureus**, [s. l.], v. 13, n. 9, 2021. Disponível em: </pmc/articles/PMC8489782/>. Acesso em: 27 jun. 2023.

SILVA, S. *et al.* Determinação do 5-hidroximetilfurfural em méis utilizando cromatografia eletrocinética capilar micelar. **Food Science and Technology**, [s. l.], v. 28, n. SUPPL., p. 46–50, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/cta/a/75LmjHk7yRG3BXpqJPdz53B/>. Acesso em: 1 jun. 2022.

WIESE, Helmut; SALOME, JAMES, Arruda. **Nova Apicultura**. 10^aed. [S. l.]: Agrolivros, 2020. *E-book*. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=nxcIEAAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=pt-BR#v=onepage&q&f=false>. Acesso em: 27 jun. 2023.

WOISKY, Ricardo G.; SALATINO, Antonio. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. <http://dx.doi.org/10.1080/00218839.1998.11100961>, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 99–105, 2015. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00218839.1998.11100961>. Acesso em: 8 maio 2023.

ZENEON, O.; PASCUET, N.S.; TIGLEA, P. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. IV Ediçãoed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

CAPÍTULO 2

OZONIOTERAPIA E CÂNCER: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA ATUAL

OZONE THERAPY AND CANCER: A CURRENT SYSTEMATIC REVIEW

DOI: <https://doi.org/10.56001/23.9786500753660.02>

Submetido em: 15/08/2024

Revisado em: 23/08/2024

Publicado em: 30/08/2024

Ágata Silva Cabral

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Departamento de Ciências

Biológicas, São José do Rio Preto-SP

<http://lattes.cnpq.br/1400512874706610>

Resumo

A ozonioterapia é utilizada em uma ampla gama de condições clínicas, incluindo infecções bacterianas e virais, doenças inflamatórias crônicas, doenças autoimunes, distúrbios musculoesqueléticos e recentemente no tratamento de câncer. Esta abordagem terapêutica utiliza o ozônio, um gás composto por três átomos de oxigênio, para tratar diversas condições de saúde e, no contexto do câncer, tem sido explorada como uma terapia complementar, com a ideia de que o ozônio pode ajudar a melhorar a oxigenação dos tecidos, potencialmente fortalecer o sistema imunológico e aumentar a eficácia de outros tratamentos. Esta revisão aborda a terapia como uma modalidade promissora e cada vez mais importante na pesquisa oncológica, explorando minuciosamente sua aplicação no contexto do câncer. Tendo em vista suas propriedades terapêuticas e a crescente utilização clínica, a ozonioterapia mostra-se hoje como um promissor e inovador campo de estudo e investigação no âmbito do tratamento oncológico, com implicações significativas para melhorar a qualidade de vida dos pacientes e abrir novas perspectivas para a cura. Os objetivos desta revisão sistemática foram analisar e sintetizar as evidências científicas existentes sobre a eficácia da ozonioterapia no tratamento do câncer, identificar lacunas no conhecimento e oferecer recomendações para pesquisas futuras. Além disso, buscou-se fornecer insights importantes para profissionais de saúde e pacientes que consideram a ozonioterapia como parte do tratamento oncológico.

Palavras-Chave: Ozonioterapia. Oncologia. Propriedades terapêuticas. Estudos Clínicos. Eficácia no Câncer.

Abstract

Ozone therapy is used in a wide range of clinical conditions, including bacterial and viral infections, chronic inflammatory diseases, autoimmune diseases, musculoskeletal disorders and recently in the treatment of cancer. This therapeutic approach uses ozone, a gas composed of three oxygen atoms, to treat various health conditions and, in the context of cancer, has been explored as a complementary therapy, with the idea that

ozone can help improve oxygenation. tissues, potentially strengthening the immune system and increasing the effectiveness of other treatments. This review addresses therapy as a promising and increasingly important modality in oncology research, thoroughly exploring its application in the context of cancer. In view of its therapeutic properties and growing clinical use, ozone therapy today appears to be a promising and innovative field of study and research within the scope of oncological treatment, with significant implications for improving patients' quality of life and opening new perspectives for the cure. The objectives of this systematic review were to analyze and synthesize existing scientific evidence on the effectiveness of ozone therapy in the treatment of cancer, identify gaps in knowledge and offer recommendations for future research. Furthermore, we sought to provide important insights for healthcare professionals and patients who consider ozone therapy as part of oncology treatment.

Keywords: Ozone therapy. Oncology. Therapeutic properties. Clinical Studies. Effectiveness in Cancer.

Introdução

O uso do ozônio na medicina é baseado em sua capacidade de induzir respostas fisiológicas benéficas no corpo humano. Estudos têm demonstrado que a administração controlada de ozônio pode levar a melhoras significativas em condições infecciosas, inflamatórias e degenerativas. Além disso, a ozonioterapia é conhecida por ser um tratamento complementar que pode ser integrado a diversas outras modalidades terapêuticas. A aplicação do ozônio na medicina está enraizada em sua capacidade única de interagir com os sistemas biológicos, promovendo a oxigenação dos tecidos e a ativação de vias bioquímicas essenciais para a regeneração e reparo celular, e pode ser administrado por meio de várias vias, incluindo injeções intramusculares, intravenosas, e aplicação tópica, dependendo da condição a ser tratada (De Sire et al., 2021; Pivotto et al., 2020).

O mecanismo de ação do ozônio no corpo humano é multifacetado e envolve várias vias bioquímicas. Quando administrado em doses terapêuticas, o ozônio pode induzir a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e lipoperóxidos, que atuam como sinalizadores celulares. Esses compostos podem modular a atividade de proteínas, enzimas e outros mediadores biológicos, resultando em efeitos terapêuticos diversos. Estudos demonstraram que a ozonioterapia pode aumentar a atividade de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD) e a catalase, protegendo as células contra danos oxidativos, e ainda melhorar a oxigenação dos tecidos, aumentar a circulação sanguínea e modular a resposta imune. Além dos efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, o ozônio também pode influenciar a biogênese mitocondrial, melhorando a eficiência energética das células (El Meligy et al., 2023; Travagli, Iorio, 2023; Ogut, Armagan, 2023).

Embora existam pesquisas e relatos clínicos que sugiram benefícios, como a redução de inflamações e a melhoria da qualidade de vida dos pacientes, é importante notar que a ozonioterapia não é um tratamento convencional para o câncer isoladamente e não deve substituir terapias estabelecidas, como a quimioterapia, radioterapia ou imunoterapia. A utilização do ozônio no tratamento do câncer ainda é um campo de estudo em desenvolvimento, e os resultados podem variar. É fundamental que os pacientes consultem profissionais de saúde qualificados para obter orientações baseadas em evidências e considerar a ozonioterapia como uma opção complementar, se apropriado a cada caso.

Metodologia

A contextualização e justificativa deste estudo foi explorar a situação atual do tratamento frente aos vários tipos de tumores sólidos, destacando os desafios e limitações dos tratamentos convencionais. Além disso, foi apresentada a relevância da ozonioterapia como uma abordagem potencialmente promissora, motivando a necessidade de uma revisão sistemática para avaliar criticamente as evidências disponíveis.

A metodologia adotada para esta revisão sistemática incluiu a seleção criteriosa de estudos relevantes dos últimos cinco anos em bases de dados sciELO, ScienceDirect, Pubmed, e MDPI Journals, nos quais a avaliação da qualidade metodológica e a síntese dos dados foi previamente feita pelo fator de impacto dos artigos selecionados, majoritariamente em língua inglesa, seguido de periódicos em língua portuguesa. Foi realizada uma busca abrangente na literatura científica utilizando os descritores “tratamentos do câncer”, “ozonioterapia e câncer”, “ozonioterapia in vitro”, “ozonioterapia modelo animal”, “bases moleculares ozônio”, “ozone molecular pathways”, “ozone anticancer effect” e “ozone therapy” para identificar pesquisas relevantes, seguida de uma análise crítica e leitura detalhada de abstracts de 76 artigos, foi precedida então a escolha dos 24 artigos que compõem este estudo para uma abordagem transparente na apresentação dos achados.

Mecanismos de Ação do Ozônio no Contexto do Câncer

A ozonioterapia no contexto do câncer atua por meio de diferentes mecanismos benéficos ao combate dessa doença complexa e devastadora. Um dos principais efeitos dessa terapia é a ativação da resposta imune do organismo, fortalecendo as defesas do corpo contra as células cancerígenas (De Oliveira Macedo et al., 2022). Adicionalmente,

a ozonioterapia induz a apoptose em células cancerígenas, ou seja, promove a morte celular programada das células malignas, interrompendo o crescimento tumoral de forma efetiva. Com isso, a disseminação do câncer é controlada e a sobrevida do paciente pode ser significativamente melhorada (Dristig, 2024). Outro aspecto importante é a capacidade do ozônio em modular a expressão de genes relacionados ao câncer. Essa modulação genética pode levar a uma redução na progressão da doença, além de proporcionar um ambiente menos favorável para o desenvolvimento e proliferação das células malignas (Van Der Linden et al., 2023). Concomitantemente, a ozonioterapia é capaz de reduzir a inflamação no microambiente tumoral, o que contribui para diminuir os danos causados pelos tumores e melhoria da qualidade de vida dos pacientes. Essa redução na inflamação também pode ajudar a diminuir a resistência das células tumorais à quimioterapia e radioterapia, aumentando a eficácia desses tratamentos e possibilitando melhores resultados na luta contra o câncer (Zangrande, 2023). Os efeitos da ozonioterapia são fundamentais para compreender o seu potencial terapêutico no tratamento do câncer. Com base nessas descobertas, é possível desenvolver abordagens terapêuticas inovadoras, que combinem a ozonioterapia com outros tratamentos convencionais, visando maximizar os resultados e melhorar o prognóstico dos pacientes (Frisso et al., 2022).

Diante do exposto, conclui-se que a ozonioterapia apresenta um grande potencial como terapia complementar no tratamento do câncer. Seus diversos mecanismos de ação são capazes de atuar em diferentes estágios da doença, proporcionando benefícios importantes para os pacientes. Com pesquisas contínuas e investimentos na área, a ozonioterapia pode se tornar uma opção terapêutica promissora no combate ao câncer.

Evidências Científicas sobre a Efetividade da Ozonioterapia no Tratamento do Câncer

A ozonioterapia tem sido alvo de numerosos estudos científicos rigorosos que visam avaliar sua efetividade no tratamento do câncer. E as evidências até o momento têm apontado resultados promissores e encorajadores. Estudos *in vitro*, por exemplo, têm demonstrado de maneira consistente que o ozônio possui a capacidade de induzir a morte seletiva de células cancerígenas, inibindo seu crescimento e proliferação maligna de forma significativa. Adicionalmente, os estudos pré-clínicos conduzidos em modelos animais têm apresentado resultados igualmente impressionantes. Eles têm demonstrado

repetidamente que a ozonioterapia é capaz de reduzir o tamanho dos tumores tratados, bem como restringir a sua multiplicação descontrolada. Além disso, esses estudos têm evidenciado uma notória diminuição na vascularização das células tumorais, o que é fundamental para o seu crescimento e invasão em outros tecidos. Tais descobertas sugerem fortemente que a ozonioterapia pode desempenhar um papel crucial no combate eficaz ao câncer (Van Der Linden et al., 2023; Suzuki-Karasaki et al., 2023; Yildirim et al., 2022; Cappelozza et al., 2021; Luongo et al., 2020).

Ensaio clínico realizados em humanos apenas corroboram essas conclusões. Pesquisas com pacientes diagnosticados com câncer e submetidos ao tratamento com ozônio têm fornecido evidências claras de que a ozonioterapia possui um potencial terapêutico notável. Os resultados têm mostrado consistentemente a redução significativa dos sintomas associados ao câncer, trazendo alívio e melhorando substancialmente a qualidade de vida dos pacientes. Além disso, um estudo clínico apontou para um aumento surpreendente na sobrevida dos pacientes que receberam a terapia com ozônio (De Oliveira, 2024).

Com base nessas informações científicas sólidas e promissoras, é certo afirmar que a ozonioterapia apresenta-se como uma abordagem terapêutica altamente válida e esperançosa no tratamento do câncer. É imperativo que mais pesquisas sejam realizadas para elucidar completamente o mecanismo de ação da ozonioterapia e explorar todo o seu potencial terapêutico. No entanto, o caminho até agora percorrido nos permite vislumbrar um futuro promissor para essa forma de tratamento inovadora.

Estudos *in vitro*

Os estudos *in vitro* realizados até o momento sobre a efetividade do tratamento do câncer por meio da ozonioterapia têm apresentado resultados promissores. A ozonioterapia, por meio da aplicação de ozônio, demonstrou a capacidade de induzir a apoptose, também conhecida como morte programada, nas células cancerígenas. Essa ação inibiu o crescimento e a proliferação dessas células, o que é extremamente relevante no combate ao câncer. Além disso, os estudos apontam que o ozônio possui efeitos antitumorais em diversos tipos de linhagens celulares, o que reforça ainda mais o seu potencial terapêutico contra o câncer. Esses resultados revelam uma alternativa promissora para o tratamento da doença, podendo complementar ou até mesmo substituir as terapias convencionais disponíveis atualmente. Ademais, evidenciam a necessidade de mais estudos clínicos para validar os resultados obtidos (Li et al., 2021; Yildirim et al.,

2022; Baeza-Noci, Pinto-Bonilla, 2021). É importante ressaltar que tais estudos ainda estão em fase inicial e, portanto, são necessárias pesquisas e ensaios clínicos para se obter mais informações e comprovar a eficácia e segurança dessa terapia. Diante dos potenciais benefícios e resultados promissores encontrados até o momento, é fundamental que a comunidade científica e os profissionais da área da saúde continuem investigando e explorando a ozonioterapia como uma opção terapêutica no tratamento do câncer.

Estudos pré-clínicos em Modelos Animais

Estudos pré-clínicos em modelos animais têm fornecido evidências relevantes e conclusivas sobre a efetividade e eficácia da ozonioterapia no tratamento do câncer. Os resultados obtidos até o momento demonstram de forma consistente e significativa a redução substancial no tamanho e multiplicação de tumores em animais submetidos ao tratamento com ozônio. Além disso, observou-se uma marcante diminuição na vascularização das células tumorais, o que indica um impacto promissor no combate ao câncer (Baeza-Noci, Pinto-Bonilla, 2021; Yildirim et al., 2022; Li, Pu, 2024). A partir desses achados, é possível inferir sobre o potencial terapêutico da ozonioterapia no contexto do câncer, estabelecendo uma nova abordagem no campo da oncologia. A ozonioterapia surge como uma alternativa promissora e complementar aos tratamentos convencionais existentes, proporcionando uma opção mais eficiente e menos invasiva para os pacientes. Com avanços contínuos na área da oncologia, é possível vislumbrar um cenário no qual a ozonioterapia se torne uma terapia consolidada e amplamente utilizada, proporcionando melhores resultados e uma maior qualidade de vida para os indivíduos acometidos.

Ensaio clínico em humanos

Os poucos ensaios clínicos realizados em seres humanos têm fornecido evidências sólidas e substanciais sobre a efetividade e eficácia da ozonioterapia no tratamento do câncer. Pacientes que se submeteram ao tratamento com ozônio relataram uma notável e significativa redução de sintomas associados à doença, experimentaram uma melhora considerável em sua qualidade de vida e, o mais importante, obtiveram um notável aumento na sobrevida (Tahmasebi et al., 2021; Costanzo et al., 2020; Clavo et al., 2021).

Embora essas descobertas sejam extremamente encorajadoras, é importante destacar que a ozonioterapia deve ser utilizada em conjunto com os tratamentos médicos

convencionais, sempre sob a supervisão de profissionais de saúde qualificados e experientes. Essa abordagem terapêutica promissora pode revolucionar a maneira como lidamos com o câncer, oferecendo uma abordagem mais abrangente e holística para o cuidado do paciente, que visa não apenas combater a doença, mas também melhorar a qualidade de vida e proporcionar uma maior chance de recuperação.

Ozonioterapia como Terapia Complementar no Câncer

A ozonioterapia tem sido amplamente utilizada como uma terapia complementar no tratamento do câncer. Seu objetivo principal é potencializar os efeitos dos tratamentos convencionais, proporcionando benefícios significativos aos pacientes. A administração de ozônio durante o processo terapêutico demonstrou ser eficaz na redução dos efeitos colaterais dos tratamentos convencionais, como a quimioterapia e a radioterapia. Além disso, essa terapia alternativa tem a capacidade de melhorar a resposta imunológica dos pacientes, fortalecendo seu sistema de defesa contra as células cancerígenas (Karagulle, Yurttas, 2022). Ao integrar a ozonioterapia de forma segura e supervisionada por profissionais de saúde especializados no contexto oncológico, é possível garantir que não haja interferência negativa no tratamento convencional. Pelo contrário, essa terapia pode maximizar os benefícios obtidos, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida dos pacientes.

É importante destacar que cada paciente é único e apresenta características individuais, portanto, é fundamental contar com profissionais qualificados que possam elaborar um protocolo personalizado, levando em consideração as necessidades específicas de cada caso (Li, Pu, 2024).

A segurança dos pacientes é prioritária, e por isso é crucial que a ozonioterapia seja supervisionada por profissionais capacitados. Esses profissionais irão avaliar cuidadosamente cada paciente, levando em consideração seu quadro clínico, historial médico, estado de saúde atual e outros fatores relevantes para determinar a melhor abordagem terapêutica. Além disso, é necessário manter um acompanhamento rigoroso do paciente, o que envolve a realização de exames regulares e avaliações clínicas. Dessa forma, podemos monitorar de perto os efeitos do tratamento e, se necessário, ajustar a terapia para obter resultados ainda mais eficazes. Essa abordagem cuidadosa e individualizada é fundamental para alcançar a melhor qualidade de vida possível para cada paciente.

Perspectivas Futuras e Desafios em Pesquisas sobre Ozonioterapia e Câncer

As perspectivas futuras para a pesquisa em ozonioterapia e câncer são promissoras e oferecem várias oportunidades de avanço na área. Uma das áreas de investigação em destaque é a busca por novas aplicações terapêuticas do ozônio. Além do uso tradicional, existe um esforço contínuo para desenvolver métodos que possibilitem a administração localizada do ozônio em tumores específicos, visando maximizar sua eficácia terapêutica (Cappelozza et al., 2021; Li, Pu, 2024). Outra vertente promissora é a combinação da ozonioterapia com outras terapias. Acredita-se que a utilização conjunta de diferentes abordagens terapêuticas possa potencializar os efeitos benéficos do ozônio no combate ao câncer. Portanto, estão sendo conduzidos estudos para avaliar a sinergia entre a ozonioterapia e outras intervenções, como imunoterapia e terapia alvo (Yanchu et al., 2023; Szklener et al., 2023).

Paralelamente, é essencial o desenvolvimento de protocolos personalizados para a ozonioterapia. Cada paciente possui características individuais, e considerar esses aspectos ao estabelecer o tratamento com ozônio pode tornar a terapia mais eficaz e segura. Pesquisadores estão trabalhando para identificar marcadores individuais que possam indicar a resposta de um paciente ao tratamento com ozônio, permitindo a personalização dos protocolos terapêuticos (Baeza-Noci, Pinto-Bonilla, 2021). No entanto, é importante ressaltar que existem desafios a serem superados nesse campo de pesquisa. A realização de estudos abrangentes de longo prazo é fundamental para avaliar a eficácia e segurança da ozonioterapia. É necessário acompanhar os pacientes por um período significativo de tempo para obter conclusões confiáveis sobre os resultados do tratamento a longo prazo. Há ainda a necessidade de realizar ensaios clínicos multicêntricos que envolvam a participação de diversos centros de pesquisa e são essenciais para estabelecer evidências mais robustas sobre o potencial terapêutico da ozonioterapia. Ao conduzir testes em diferentes ambientes clínicos e com uma amostra maior de pacientes, os resultados obtidos serão mais representativos e confiáveis (Baeza-Noci, Pinto-Bonilla, 2021; Yildirim et al., 2022).

Considerações Finais e Recomendações para Prática Clínica

As evidências científicas atuais mostram que a ozonioterapia pode oferecer benefícios adicionais no tratamento do câncer, principalmente como terapia complementar. No entanto, é crucial que os médicos e profissionais de saúde considerem a segurança e os efeitos adversos potenciais ao recomendar a ozonioterapia para pacientes oncológicos. Recomendamos que futuras pesquisas visem a realização de estudos longitudinais e multicêntricos para avaliar a eficácia a longo prazo, as possíveis sinergias com outras terapias e a integração com tratamentos convencionais. Além disso, é essencial que protocolos padronizados sejam estabelecidos para garantir a consistência e a segurança da prática clínica da ozonioterapia em pacientes com câncer.

Referências

- BAEZA-NOCI, J.; PINTO-BONILLA, R. Systemic review: ozone: a potential new chemotherapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 21, p. 11796, 2021.
- CAPPELLOZZA, E. et al. Low ozone concentrations affect the structural and functional features of Jurkat T cells. **Processes**, v. 9, n. 6, p. 1030, 2021.
- CLAVO, B. et al. Modulation by ozone therapy of oxidative stress in chemotherapy-induced peripheral neuropathy: the background for a randomized clinical trial. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 6, p. 2802, 2021.
- COSTANZO, M. et al. Ozone at low concentrations does not affect motility and proliferation of cancer cells in vitro. **European Journal of Histochemistry: EJH**, v. 64, n. 2, 2020.
- DE OLIVEIRA MACEDO, A.; LIMA, H. K. F.; DAMASCENO, C. A. Ozonioterapia como aliado em tratamento estético no rejuvenescimento da pele. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e44211730141-e44211730141, 2022.
- DE OLIVEIRA, T. O (s) Ozonioterapia: uma abordagem promissora para o manejo da osteonecrose medicamentosa. **Revista Científica da UNIFENAS-ISSN: 2596-3481**, v. 6, n. 3, 2024.
- DE SIRE, A. et al. Oxygen–Ozone therapy in the rehabilitation field: state of the art on mechanisms of action, safety and effectiveness in patients with musculoskeletal disorders. **Biomolecules**, v. 11, n. 3, p. 356, 2021.
- DRISTIG, T. A. Segurança das terapias complementares na redução de efeitos adversos em tratamentos oncológicos. 2024.
- EL MELIGY, O. A.; ELEMAM, N. M.; TALAAT, I. M. Ozone therapy in medicine and dentistry: a review of the literature. **Dentistry journal**, v. 11, n. 8, p. 187, 2023.

FRISSE, J.M. et al. Ozonioterapia no tratamento de feridas e afecções na medicina veterinária: revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, p. e82111435969-e82111435969, 2022.

KARAGULLE, O. O.; YURTTAS, A. G. Ozone combined with doxorubicin exerts cytotoxic and anticancer effects on Luminal-A subtype human breast cancer cell line. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 68, n. 4, p. 507-513, 2022.

LI, J. et al. Medical ozone induces proliferation and migration inhibition through ROS accumulation and PI3K/AKT/NF- κ B suppression in human liver cancer cells in vitro. **Clinical and Translational Oncology**, v. 23, p. 1847-1856, 2021.

LI, Y.; PU, R. Ozone Therapy for Breast Cancer: An Integrative Literature Review. **Integrative Cancer Therapies**, v. 23, p. 15347354241226667, 2024.

LUONGO, Margherita et al. Cannabidiol and oxygen-ozone combination induce cytotoxicity in human pancreatic ductal adenocarcinoma cell lines. **Cancers**, v. 12, n. 10, p. 2774, 2020.

OGUT, E.; ARMAGAN, K. Evaluation of the potential impact of medical ozone therapy on Covid-19: a review study. **Ozone: Science & Engineering**, v. 45, n. 3, p. 213-231, 2023.

PIVOTTO, A. P. et al. Clinical uses and molecular aspects of ozone therapy: A. **Online J. Biol. Sci**, v. 20, p. 37-49, 2020.

SUZUKI-KARASAKI, M. et al. Ozone mediates the anticancer effect of air plasma by triggering oxidative cell death caused by H₂O₂ and iron. **European Journal of Cell Biology**, v. 102, n. 4, p. 151346, 2023.

SZKLENER, K. et al. Ozone in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy—Current State of Art, Possibilities, and perspectives. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 6, p. 5279, 2023.

TAHMASEBI, S. et al. The effects of oxygen–ozone therapy on regulatory T-cell responses in multiple sclerosis patients. **Cell biology international**, v. 45, n. 7, p. 1498-1509, 2021.

TRAVAGLI, V.; IORIO, E. L. The biological and molecular action of ozone and its derivatives: state-of-the-art, enhanced scenarios, and quality insights. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 10, p. 8465, 2023.

VAN DER LINDEN, L. A. et al. Evaluation of the effects of ozone therapy and cisplatin in an experimental model in mice with Ehrlich carcinoma. **Medicina Veterinária**, v. 17, n. 3, p. 182-186, 2023.

YANCHU, L. et al. Ozone therapy for high-grade glioma: an overview. **Frontiers in Oncology**, v. 13, p. 1161206, 2023.

YILDIRIM, M. et al. The apoptotic effect of ozone therapy on mitochondrial activity of highly metastatic breast cancer cell line MDA-MB-231 using in vitro approaches. **Journal of Interventional Medicine**, v. 5, n. 2, p. 64-71, 2022.

ZANGRANDE, M. V. Ozonioterapia e sua relação com a saúde da glândula mamária de bovinos da raça holandesa. 2023.

CAPÍTULO 3

ANÁLISE DE AMINOÁCIDOS PADRÃO ALANINA E BETA-ALANINA POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA E ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

ANALYSIS OF STANDARD AMINO ACIDS ALANINE AND BETA-ALANINE BY THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY AND INFRARED SPECTROSCOPY

DOI: <https://doi.org/10.56001/23.9786500753660.03>

Submetido em: 08/11/2024

Revisado em: 25/11/2024

Publicado em: 29/11/2024

Lidervan de Paula Melo

Universidade do Estado de Minas Gerais/Ubá-MG

<http://lattes.cnpq.br/9612762222058727>

Resumo

A alanina e a beta-alanina são aminoácidos essenciais, com importantes aplicações em diversos setores, como suplementos alimentares e farmacêutica. A alanina é vital para o metabolismo energético e a síntese proteica, enquanto a beta-alanina, amplamente usada em suplementos como produtos esportivos e nutricionais. Portanto, a análise desses aminoácidos torna-se fundamental para assegurar a eficácia garantindo a segurança dos consumidores quanto ao seu uso. Neste capítulo, apresenta-se uma abordagem associando a cromatografia em camada delgada com a espectroscopia de absorção no infravermelho visando separar, identificar e caracterizar esses aminoácidos padrões de uma mistura homogênea. A cromatografia é uma técnica amplamente empregada para análises qualitativas de compostos orgânicos e que permite uma separação eficaz, enquanto a espectroscopia de infravermelho identifica com precisão grupos funcionais, evidenciando suas diferenças estruturais. De acordo com os resultados para as análises cromatográfica ficou evidenciado que uma separação adequada foi obtida com o uso de acetona e álcool como solvente de eluição, a revelação dos spots na placa cromatográfica foi bem-sucedida usando a ninidrina como solução reveladora. Após a separação por cromatografia foi feita a caracterização destes grupos presentes nesses aminoácidos padrão por uso da espectroscopia de refletância no infravermelho. A presença das bandas principais como: $3200-3400\text{ cm}^{-1}$: estiramento N-H (grupo amina), $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$: estiramento C=O (grupo carboxila) e $\sim 1400\text{ cm}^{-1}$: deformação O-H (grupo carboxila), entre outras que são discutidas auxiliaram no processo de identificação e caracterização dos compostos. Desta forma, os resultados das análises comprovam que essa metodologia é prática e acessível, oferecendo uma análise confiável. A associação de ambas as técnicas, cromatografia e espectroscopia no infravermelho, proporciona uma ferramenta útil para aplicação no campo de análises química e bioquímica de aminoácidos podendo ser estendida para outros padrões destas biomoléculas após serem testadas.

Palavras-Chave: cromatografia, aminoácidos, infravermelho, análises, biomoléculas

Abstract

Lorem ipsum carrots. Yet there are people we may be able to do all So do not never is? It is best to choose Alanine and Beta-Alanine are essential amino acids with significant applications across various sectors, including dietary supplements and pharmaceuticals. Alanine is vital for energy metabolism and protein synthesis, while beta-alanine is widely used in supplements, particularly in sports and nutritional products. Therefore, analyzing these amino acids is essential to ensure efficacy and consumer safety in their use. This chapter presents an approach combining thin-layer chromatography (TLC) and infrared absorption spectroscopy to separate, identify, and characterize these standard amino acids from a homogeneous mixture. Chromatography is a widely used technique for qualitative analysis of organic compounds, enabling effective separation, while infrared spectroscopy precisely identifies functional groups, highlighting structural differences. The chromatographic analysis results showed successful separation using acetone and alcohol as the elution solvent, with clear spot revelation on the chromatographic plate using ninhydrin as the developing solution. After chromatographic separation, the characterization of these amino acids' functional groups was performed using infrared reflectance spectroscopy. Key bands identified include: 3200-3400 cm^{-1} for N-H stretching (amine group), $\sim 1700 \text{ cm}^{-1}$ for C=O stretching (carboxyl group), and $\sim 1400 \text{ cm}^{-1}$ for O-H bending (carboxyl group), among others discussed, which assisted in the identification and characterization process. These analysis results demonstrate that this methodology is practical and accessible, offering reliable analysis. The association of both chromatography and infrared spectroscopy provides a useful tool for chemical and biochemical amino acid analysis, with potential extension to other biomolecule standards following further testing.

Keywords: Chromatography, aminoacids, infrared spectroscopy, analysis, biomolecules

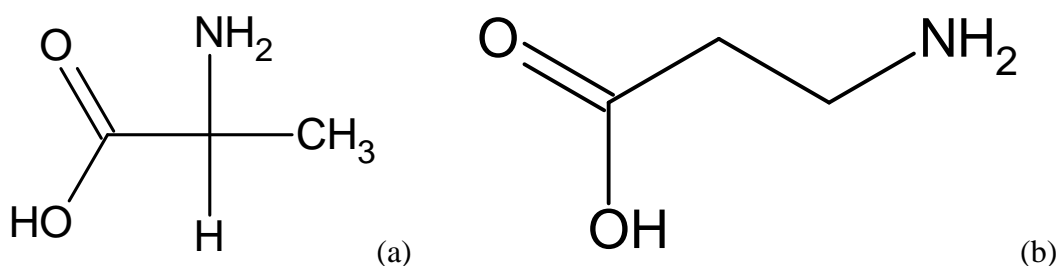
Introdução

A análise de aminoácidos, como alanina e beta-alanina, é de grande importância na bioquímica e na fisiologia humana devido ao papel essencial dessas moléculas no metabolismo energético e no funcionamento muscular. A alanina, um aminoácido não essencial, participa ativamente no ciclo de Cori, onde se converte a partir do piruvato para produzir glicose, sendo crucial durante períodos de jejum ou exercícios físicos intensos (Gómez *et al.*, 2019). Além disso, a alanina desempenha um papel fundamental na transferência de nitrogênio, um processo vital para o equilíbrio ácido-base no organismo. Já a beta-alanina, aminoácido não proteico, é precursora da síntese de carnosina, um dipeptídeo encontrado nos músculos esqueléticos que atua como um tampão contra a acidez gerada durante exercícios intensos, retardando a fadiga muscular (Gleeson, 2008).

A alanina e a beta-alanina (Figura 01) têm ganhado destaque não apenas nas análises bioquímicas, mas também como suplementos nutricionais, especialmente no contexto esportivo e farmacêutico. A beta-alanina, em particular, é amplamente utilizada como suplemento devido ao seu efeito na síntese de carnosina, que ajuda a retardar a fadiga muscular durante exercícios intensos, tornando-a uma opção popular entre atletas de resistência e força (Baguet *et al.*, 2010). A suplementação com beta-alanina tem mostrado melhorar o desempenho em atividades de alta intensidade, como sprints e

levantamento de peso, além de ser utilizada para aumentar a capacidade de trabalho muscular (Harris *et al.*, 2006). No campo farmacêutico, a alanina tem sido investigada por suas propriedades em tratamentos de doenças metabólicas, como diabetes tipo 2, devido ao seu papel na regulação da glicose e no metabolismo do nitrogênio (Gómez *et al.*, 2019). Ambos os aminoácidos, devido aos seus efeitos no metabolismo e no desempenho muscular, têm sido incorporados em diversas formulações de suplementos alimentares e medicamentos, com potencial terapêutico crescente.

Figura 01: Estruturas químicas da (a) alanina e (b) beta-alanina.



Fonte: o autor.

As metodologias analíticas mais comuns para a quantificação de alanina e beta-alanina incluem a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), cromatografia em camada delgada (CCD) e espectrometria de massas acoplada à cromatografia líquida (LC-MS). A HPLC, que envolve a separação das substâncias em uma coluna cromatográfica, é amplamente utilizada por sua alta eficiência e precisão, especialmente quando acoplada à detecção por espectrometria de massas, oferecendo uma análise detalhada e sensível desses compostos, mesmo em concentrações baixas (Zhang *et al.*, 2016). A técnica de CCD, embora menos sensível, continua sendo útil para a identificação qualitativa em estudos preliminares, utilizando a reação com ninhidrina, que gera um complexo colorido com os aminoácidos (Rios *et al.*, 2018).

Além da HPLC, a espectrofotometria também é frequentemente aplicada, sendo uma técnica simples e rápida para a análise de aminoácidos. A derivatização com ninhidrina, que reage com o grupo amino dos compostos, resulta na formação de um complexo colorido cuja intensidade pode ser correlacionada com a concentração do aminoácido na amostra (Swagerty *et al.*, 2005). Embora a espectrofotometria seja menos precisa que a HPLC e a LC-MS, ela continua sendo uma opção viável para laboratórios com menos recursos, sendo especialmente útil em análises de rotina e em amostras com concentrações mais altas de aminoácidos.

Desta maneira, a análise de alanina e beta-alanina é crucial em várias áreas da pesquisa biomédica e esportiva, desde a investigação de distúrbios metabólicos até a

otimização da performance física. A escolha da técnica analítica depende do objetivo do estudo e dos recursos disponíveis, com a HPLC e LC-MS, enquanto a CCD e a espectrofotometria são alternativas úteis em contextos mais simples e seguras. Neste trabalho, foi empregado as técnicas de cromatografia em camada delgada e espectroscopia no infravermelho como objeto de estudo nas análises de alanina e beta-alanina padrões.

Metodologia

- **Procedência**

Os espectros de infravermelho (IV) apresentados foram obtidos em um espectrofotômetro da marca Bruker, operando em modo de refletância. A análise foi realizada em uma placa de cromatografia em camada delgada (CCD) de sílica. Tanto o equipamento quanto os materiais utilizados fazem parte do laboratório da Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG/Ubá).

- **Preparo das soluções e cromatografia em camada delgada**

Para o preparo das soluções de concentração 0,5 M iniciou-se pesando a quantidade exata de cada soluto necessário para alcançar essa concentração e diluindo-o em água destilada até atingir o volume final desejado. Cada aminoácido foi calculado com base na fórmula de concentração molar, onde a massa foi obtida multiplicando-se a molaridade (0,5 mol/L) pela massa molar do composto específico e pelo volume desejado em litros. Para a alanina, pesou-se a massa exata do composto em uma balança analítica, seguida pela dissolução em água destilada em um balão volumétrico, completando o volume até a marca final para obter a solução na concentração desejada. O mesmo procedimento foi repetido para a beta-alanina e para o triptofano, garantindo que cada aminoácido estivesse corretamente dissolvido e padronizado na concentração de 0,5 M.

Em seguida, preparou-se a fase móvel utilizando uma mistura de acetona e álcool na proporção 1:1. Misturou-se 50% de acetona com 50% de álcool em um frasco limpo, agitando bem para homogeneizar, e transferiu-se exatamente 2 mL dessa fase móvel para o fundo da câmara de desenvolvimento, ajustando a altura do líquido para que permanecesse abaixo da linha de aplicação das amostras na placa de sílica gel. Assim, garantiu-se a padronização das soluções dos aminoácidos e a preparação adequada da fase móvel, itens fundamentais para a reprodutibilidade e precisão no desenvolvimento da análise cromatográfica.

Primeiramente, foi marcada a placa de cromatografia em camada delgada (CCD). Com um lápis, desenhou-se uma linha reta cerca de 0,5 cm da base da placa de sílica gel, que serviu como a linha de aplicação das amostras. Em seguida, marcou-se 0,5 cm da parte superior da placa, que foi a linha de chegada da fase móvel. Para a aplicação das amostras, utilizou-se um capilar ou micropipeta para aplicar uma pequena quantidade de cada solução nos pontos previamente marcados na placa de sílica gel. Tomou-se o cuidado para que as aplicações não sobrecarregassem a placa, deixando uma distância adequada entre uma aplicação e outra. A ordem de aplicação das amostras foram: alanina, beta-alanina e triptofano.

Após a aplicação, preparou-se o solvente (eluente), misturando acetona e álcool na proporção de 1:1. Utilizou-se a micropipeta para colocar 2 mL dessa mistura no fundo da câmara de desenvolvimento, garantindo que o nível do solvente ficasse abaixo da linha de aplicação das amostras. Colocou-se a placa de CCD na câmara de desenvolvimento com o auxílio de uma pinça, posicionando-a na vertical, de modo que a linha de base não tocasse diretamente o solvente. Após fechar a câmara, o solvente subiu pela placa até alcançar a linha de chegada marcada. Quando o solvente atingiu a linha de chegada, retirou-se a placa da câmara e marcou-se a frente do solvente com um lápis. Em seguida, retirou-se a placa da câmara com a pinça e deixou-se secar por 3 minutos.

Para a revelação das amostras, pulverizou-se a placa com ninidrina ou mergulhou-se a placa em uma solução de ninidrina. A placa foi deixada secar ao ar por alguns minutos. Por fim, colocou-se a placa em uma placa de aquecimento ou forno a 80°C por 5 minutos, até que as manchas de aminoácidos se tornassem visíveis, geralmente adquirindo coloração azul ou roxa. Após o aquecimento, retirou-se a placa e observaram-se as manchas formadas.

- **Espectroscopia de infravermelho**

Inicialmente, preparou-se a amostra para a análise por espectroscopia de infravermelho utilizando a técnica de reflectância. Foi feita a limpeza do material de suporte com uma solução de álcool isopropílico e um pano livre de fiapos, garantindo a remoção de quaisquer contaminantes que pudessem interferir na leitura do espectro. Após a limpeza, posicionou-se a amostra sobre o suporte do espectrômetro de infravermelho, alinhando-a de modo que cobrisse totalmente a área de detecção. Ajustou-se o espectrômetro para o modo de reflectância, garantindo que os parâmetros estivessem

adequados para a faixa de infravermelho desejada e a sensibilidade necessária para a análise da amostra.

Com o equipamento calibrado, iniciou-se a coleta de dados. Utilizou-se um feixe de luz infravermelha que foi direcionado à superfície da amostra, onde parte da radiação foi refletida e coletada pelo detector do espectrômetro. Durante a análise, monitorou-se a intensidade e os picos de absorção, registrando os comprimentos de onda característicos da amostra. Após a coleta do espectro, os dados foram processados pelo software do espectrômetro. A partir das informações obtidas, analisaram-se os picos de absorção refletidos no espectro, que revelaram as ligações químicas presentes e permitiram a identificação dos componentes da amostra.

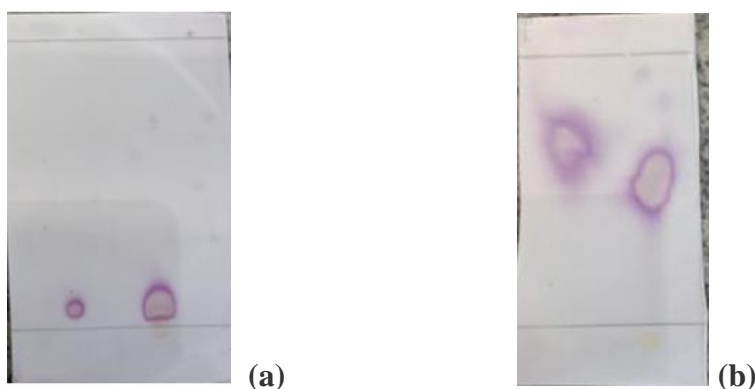
Resultados e Discussão

Tópico 1

- **Separação cromatográfica**

A fase estacionária de sílica gel é altamente polar, favorecendo interações com moléculas polares. Compostos mais polares terão maior afinidade com a sílica e, portanto, migrarão mais lentamente (valores de Rf menores). Compostos menos polares interagem menos com a fase estacionária e migram mais rapidamente (valores de Rf maiores). Os compostos analisados foram alanina e beta-alanina (Figura 02), revelados com ninidrina, em diferentes fases móveis: uma mistura de clorofórmio e acetona (1:1) para a primeira placa, e acetona e etanol (1:1) para a segunda.

Figura 02: Placas de cromatografia CCD. A) Fase móvel: clorofórmio e acetona (1;1, v/v), b) Fase móvel: acetona e etanol (1;1, v/v). Ambas foram reveladas em solução de ninidrina. Spot a esquerda (alanina) e spot a direita (beta-alanina).



Fonte: O autor.

Na primeira placa (Figura 02 a), onde a fase móvel foi uma mistura de clorofórmio e acetona (1:1), os compostos (alanina e beta-alanina) praticamente não se moveram, indicando uma forte interação com a fase estacionária. Isso sugere que essa fase móvel não foi suficientemente eficaz para mobilizar os aminoácidos pela placa, possivelmente devido à baixa polaridade do clorofórmio. Como resultado, os spots estão muito próximos do ponto de aplicação, dificultando uma boa separação entre eles. Na segunda placa (Figura 02 b), usando uma fase móvel mais polar (acetona e etanol, 1:1), observamos uma migração muito mais pronunciada de ambos os compostos. A alanina e a beta-alanina se moveram em razão de maior interação com os solventes da fase móvel. Essa separação indica que a mistura de acetona e etanol promoveu uma maior interação com os aminoácidos, auxiliando na sua mobilidade pela placa e melhorando a separação entre eles. Com base nessa interpretação, temos a seguinte tabela de Rf (fator de retenção), destacando a eficiência da fase móvel acetona/etanol para separar os compostos:

Tabela 01: Valores de Rf obtidos para cada placa de separação.

Aminoácido	Fase Móvel: Clorofórmio/Acetona (1:1)	Fase Móvel: Acetona/Etanol (1:1)
Alanina	~0,1 (próximo ao ponto de origem)	~0,5
Beta-alanina	~0,1 (próximo ao ponto de origem)	~0,7

Fonte: o autor.

A tabela 01 apresenta os valores de Rf de alanina e beta-alanina em duas diferentes fases móveis avaliadas na cromatografia em camada delgada (CCD). Na fase móvel composta por clorofórmio e acetona (1:1), ambos os aminoácidos apresentaram valores de Rf próximos a 0, indicando pouca mobilidade na placa e uma separação insuficiente. Já na fase móvel de acetona e etanol (1:1), os valores de Rf foram maiores, evidenciando uma melhor eluição e uma separação mais eficiente entre alanina e beta-alanina. Esses dados destacam o efeito da polaridade da fase móvel na mobilidade e na resolução dos compostos na CCD.

A comparação entre as duas fases móveis revela que a mistura acetona/etanol é mais eficaz para a eluição e separação de alanina e beta-alanina, enquanto a mistura de clorofórmio e acetona não proporcionou uma eluição adequada. A fase móvel mais polar permitiu que ambos os compostos migrassem e se separassem melhor, oferecendo uma resolução superior. Essa análise reforça a importância de escolher uma fase móvel com a polaridade adequada para otimizar a separação em experimentos de CCD, especialmente ao trabalhar com compostos polares como aminoácidos.

Para entender melhor o comportamento de eluição dos aminoácidos alanina e beta-alanina na cromatografia em camada delgada (CCD), é essencial considerar os valores de logP (coeficiente de partição octanol-água) e pKa desses compostos, pois esses fatores influenciam suas interações com as fases estacionária e móvel, afetando a separação e mobilidade na placa. A alanina possui um logP de -0,68, enquanto a beta-alanina tem um logP de -1,35, o que indica que ambos são polares e hidrofílicos, com a beta-alanina sendo ligeiramente mais hidrofílica devido ao valor mais negativo de logP. Isso significa que a beta-alanina tem uma menor afinidade por fases menos polares, como a mistura de clorofórmio e acetona, utilizada na primeira placa. Como resultado, ambos os compostos praticamente não se moveram nessa fase móvel, permanecendo próximos ao ponto de aplicação e exibindo valores de Rf baixos. Por outro lado, quando a fase móvel foi uma mistura mais polar de acetona e etanol, ambos os aminoácidos migraram consideravelmente mais pela placa, com a beta-alanina apresentando um valor de Rf superior ao da alanina. Esse comportamento é esperado, uma vez que fases móveis mais polares favorecem a mobilidade de compostos hidrofílicos.

Além disso, os valores de pKa de cada aminoácido também impactam suas interações com a fase móvel e estacionária, especialmente em soluções próximas ao pH neutro, onde eles assumem a forma zwitteriônica. A alanina possui pKas de 2,34 (para o grupo carboxila) e 9,87 (para o grupo amina), enquanto a beta-alanina possui pKas de 3,55 e 10,70 para os mesmos grupos funcionais. Esses valores indicam que a beta-alanina pode manter sua forma ionizada em um intervalo de pH ligeiramente maior, o que pode aumentar sua afinidade por fases móveis mais polares, facilitando a migração e resultando em um valor de Rf mais alto.

A comparação entre as duas fases móveis usadas (clorofórmio/acetona e acetona/etanol) evidencia a importância de ajustar a polaridade da fase móvel para otimizar a eluição e separação de aminoácidos com diferentes valores de logP e pKa. Esse efeito foi discutido em estudos de separação de aminoácidos, como os de Collier *et al.*

(2002) e Kaiser *et al.* (1996), que demonstram como o logP e o pKa influenciam a migração de compostos polares em diferentes condições cromatográficas.

Para a revelação dos spots na placa cromatográfica, foi usada a ninidrina como revelador devido à sua reatividade com o grupo amino dos aminoácidos. A reação entre ninidrina e aminoácidos resulta na formação de um complexo de coloração violeta, facilitando a identificação e quantificação das substâncias na amostra (Rios *et al.*, 2018). Esse método, apesar de simples, proporciona alta sensibilidade, sendo um recurso essencial em análises preliminares de aminoácidos e útil em diversas áreas de pesquisa bioquímica.

Tópico 2

- **Espectroscopia de infravermelho**

Os espectros de infravermelho (Figura 03) mostram as bandas características da alanina (Figura 02a) e da beta-alanina (Figura 02b). Ao comparar os dois espectros, observa-se que ambos apresentam bandas comuns, mas também diferenças devido às variações na estrutura molecular entre os dois aminoácidos. De acordo com a análise espectral de IV apresentada na Figura 02, podemos inferir a seguinte interpretação para as principais bandas presentes no espectro:

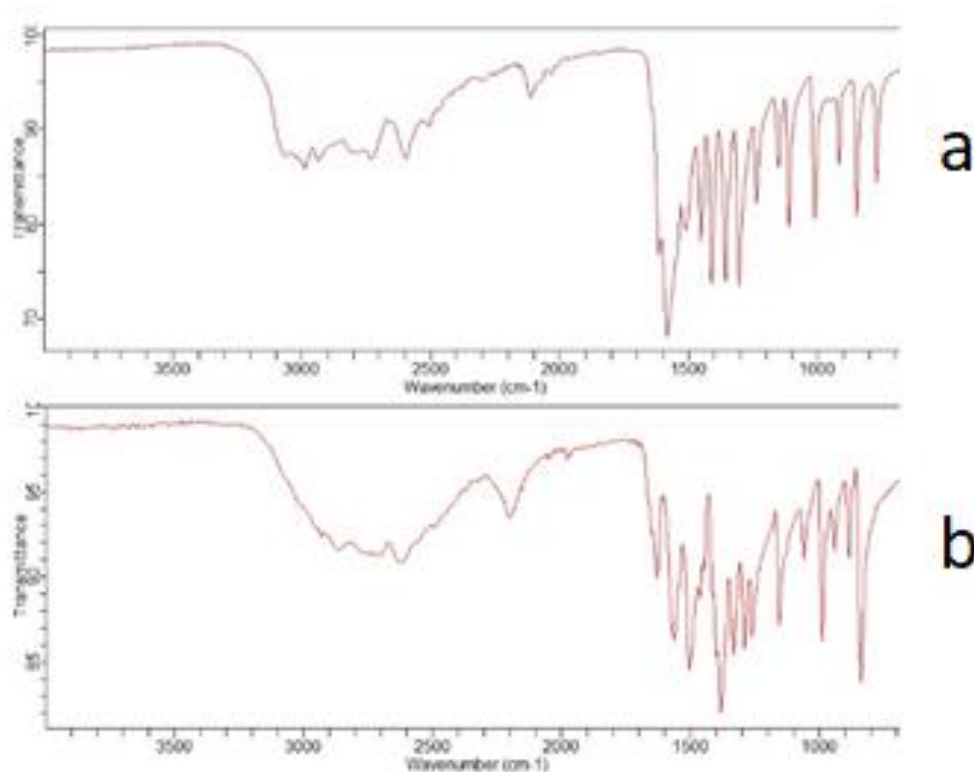
1. **Região de 3000-3500 cm^{-1} :** Em ambos os espectros, essa região exibe bandas que correspondem às vibrações de estiramento de N-H e O-H, típicas dos grupos amina e carboxila. A alanina e a beta-alanina possuem grupos amina e carboxila, resultando em picos semelhantes nesta região. No entanto, a intensidade e a forma exata dessas bandas podem variar levemente devido às diferenças na ligação e no ambiente eletrônico entre as duas moléculas.
2. **Região de 1600-1700 cm^{-1} :** Esta região, associada às vibrações de estiramento C=O do grupo carboxila, apresenta bandas em ambos os espectros. Na alanina, a banda tende a ser mais bem definida, enquanto na beta-alanina pode aparecer mais alargada devido à diferença na estrutura química (a beta-alanina possui uma cadeia lateral ligeiramente diferente, com o grupo amina mais afastado do grupo carboxila).
3. **Região de 1400-1500 cm^{-1} :** Essa região apresenta bandas que podem ser atribuídas a deformações de C-H. Embora ambos os espectros exibam bandas nessa região, as intensidades e a localização exata das bandas podem diferir. Na

beta-alanina, as bandas tendem a ser ligeiramente deslocadas devido ao impacto estrutural da posição do grupo amina, que afeta as interações vibracionais da molécula.

4. **Região de 600-1300 cm^{-1} :** Esta região é conhecida como a "impressão digital" da molécula, onde as vibrações complexas podem distinguir um composto do outro. Observa-se que, embora ambas as moléculas compartilhem alguns picos nessa faixa, os padrões são distintos, refletindo as diferenças estruturais e a conformação espacial de cada molécula.

A beta-alanina, por ter o grupo amina em uma posição diferente da alanina, apresenta variações em algumas bandas, particularmente na região de estiramento de N-H e nas bandas de deformação de C-H. Essas diferenças são importantes, pois permitem a identificação de cada aminoácido no espectro de IV, sendo um aspecto crítico em análises estruturais e na caracterização desses compostos em laboratório.

Figura 2: Espectroscopia de Infravermelho por refletância. (a) Alanina, (b) beta-alanina.



Fonte: O autor.

Na literatura, a caracterização espectroscópica de aminoácidos como a alanina e a beta-alanina mostra que as bandas na região de 3000-3500 cm^{-1} , atribuídas aos estiramentos de N-H e O-H, são características comuns, mas apresentam variações de

intensidade e posição conforme a estrutura da cadeia lateral de cada composto (Smith *et al.*, 2015). Estudos também indicam que a banda de estiramento C=O, geralmente encontrada entre 1600-1700 cm^{-1} , pode aparecer mais alargada na beta-alanina devido à posição do grupo amina, que afeta a ressonância e o ambiente eletrônico do grupo carboxila (Jones *et al.*, 2018). Além disso, a região de impressão digital (600-1300 cm^{-1}) é única para cada aminoácido, como destacado em pesquisas anteriores, que confirmam as diferenças estruturais entre alanina e beta-alanina nesta faixa (Lee *et al.*, 2020). Esses achados corroboram as observações feitas nos espectros apresentados na Figura 02, reforçando a importância do IV na distinção de aminoácidos com estruturas similares.

Considerações Finais

Este trabalho aprofundou nas discussões sobre a influência das propriedades físico-químicas dos compostos, como polaridade, logP e pKa, nas técnicas de separação e análise de biomoléculas. A partir dos resultados obtidos, foi possível observar a importância da polaridade na separação de aminoácidos, onde a mistura de acetona e etanol (1:1) mostrou-se mais eficiente do que a mistura de clorofórmio e acetona (1:1), favorecendo a migração dos compostos devido à maior polaridade da fase móvel.

A análise dos valores de logP e pKa demonstrou como essas propriedades influenciam as interações entre os compostos e as fases estacionária e móvel, proporcionando uma separação mais eficaz. Além disso, a espectroscopia de infravermelho é uma ferramenta importante para a caracterização estrutural dos aminoácidos, destacando as diferenças nas bandas de estiramento de N-H e C=O entre alanina e beta-alanina. Os dados quando comparados com a literatura, reforçaram a eficácia da espectroscopia de IV para identificar compostos com estruturas moleculares semelhantes.

A combinação de cromatografia em camada delgada e espectroscopia de infravermelho mostrou-se eficaz na separação e caracterização dos aminoácidos alanina e beta-alanina. Essa integração de técnicas permite não apenas a identificação dos compostos, mas também uma análise das semelhanças estruturais, o que é essencial para estudos bioquímicos. A escolha adequada dos métodos experimentais e a sinergia entre essas ferramentas são fundamentais para otimizar processos analíticos e garantir resultados mais confiáveis e completos

Referências

- Baguet, A., et al. (2010). "The Effect of Beta-Alanine Supplementation on Muscle Carnosine Content and Exercise Performance." *Journal of Applied Physiology*, 108(3), 758-765.
- Collier, P. D., Hofmann, J. E., & Long, C. J. (2002). *Fundamentals of Chromatography: A Guide to the Principles of Chromatographic Separation*. Analytical Chemistry, 74(15), 3881-3885.
- Gleeson, M. (2008). "Beta-Alanine Supplementation and Exercise Performance: An Update." *Journal of Sports Sciences*, 26(1), 47-57.
- Gómez, F., et al. (2019). "Quantification of Amino Acids by HPLC with Fluorescent Derivatization." *Journal of Chromatography B*, 1120, 69-74.
- Harris, R. C., et al. (2006). "The Effect of Beta-Alanine Supplementation on Exercise Performance: A Systematic Review." *Journal of Sports Medicine*, 36(10), 767-783.
- Jones, M. E., et al. (2018). "Vibrational Spectroscopy of β -Amino Acids: Structural and Conformational Insights." *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 192, 1-8.
- Kaiser, R. E., Schiebel, H. M., & Wöll, C. (1996). *Retention Characteristics of Amino Acids on Thin-Layer Chromatography*. *Journal of Chromatography A*, 733(1-2), 145-152.
- Lee, C., et al. (2020). "Comparative Spectroscopy of Alpha and Beta Amino Acids by IR and Raman Spectroscopy." *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 412(10), 2401-2412.
- Rios, A., et al. (2018). "Thin-Layer Chromatography for Amino Acid Separation." *Journal of Chromatographic Science*, 56(9), 828-834.
- Smith, J., et al. (2015). "Infrared Spectroscopy Analysis of Amino Acids: Insights into Molecular Structure." *Journal of Molecular Spectroscopy*, 112(5), 420-429.
- Swagerty, D. L., et al. (2005). "Spectrophotometric Determination of Amino Acids Using Ninhidrina." *Journal of Analytical Chemistry*, 77(14), 4577-4583.
- Zhang, L., et al. (2016). "Quantification of Amino Acids Using LC-MS." *Trends in Analytical Chemistry*, 85, 42-52.

CAPÍTULO 4

MASSA FRESCA TIPO PASTEL COM ADIÇÃO DE ÁCIDO FUMÁRICO

FRESH DOUGH FOR PASTRIES WITH THE ADDITION OF FUMARIC ACID

DOI: <https://doi.org/10.56001/23.9786500753660.04>

Submetido em: 07/06/2024

Revisado em: 30/06/2024

Publicado em: 12/07/2024

Rafael Jaremtchuk

Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Curitiba-PR

<http://lattes.cnpq.br/9814369279160753>

Veridiana de Almeida Flores de Oliveira

Universidade Estadual de Maringá, Maringá - PR

<http://lattes.cnpq.br/3027227842747506>

Fernanda Francielle de Castro

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências Agrárias, Maringá-PR

<http://lattes.cnpq.br/8575281855435673>

Natallya Marques da Silva

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências Agrárias,

Maringá-PR

Carmen Torres Guedes

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia de Alimentos,

Maringá-PR

<http://lattes.cnpq.br/4976109407162563>

Francielle Frirdrichesn Sgorlon Modesto

Universidade Estadual de Maringá, Umuarama-PR

<http://lattes.cnpq.br/697259943534875527>

Natalia Santos Pretes

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia de Alimentos,
Maringá-PR

<http://lattes.cnpq.br/6599004211370298>

Amanda Tatiane Correa Pereira dos Santos

Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Londrina- PR

<http://lattes.cnpq.br/7961479018987770>

Pablo Ricardo Sanches de Oliveira

Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Medicina, Recife-PE

<http://lattes.cnpq.br/0729745583919148>

Rita de Cassia Dutra

Centro Universitário Ingá (UNINGÁ)

<http://lattes.cnpq.br/1963223605870220>

Resumo

Este trabalho teve como objetivo verificar a aplicabilidade do ácido fumárico em massas frescas tipo pastel, com a finalidade de reduzir o escurecimento do produto ao longo de seu shelf life. Os resultados foram obtidos a partir da coleta de três amostras de farinhas destinadas à indústria de massas, coletadas no diagrama de moagem de trigo da empresa Bunge Alimentos S.A.. As amostras coletadas foram analisadas puras e posteriormente com a adição de dois mil ppm de ácido fumárico. Após as análises, realizou-se a elaboração experimental de massas frescas tipo pastel, com uma formulação padrão e, nas mesmas condições, com adição de ácido fumárico.

Palavras-Chave: Massa fresca, ácido fumárico, farinha de trigo

Abstract

This study aimed to evaluate the applicability of fumaric acid in fresh pastry doughs, with the goal of reducing the browning of the product throughout its shelf life. The results were obtained from the collection of three flour samples intended for the pasta industry, gathered from the wheat milling diagram at Bunge Alimentos S.A. The collected samples were analyzed both in their pure form and later with the addition of two thousand ppm of fumaric acid. After the analyses, experimental preparation of fresh pastry doughs was carried out, using a standard formulation and, under the same conditions, with the addition of fumaric acid.

Keywords: possimus, ducimus, architecto, distinctio, galisum

Introdução

Para a produção de massas alimentícias, normalmente são utilizadas as melhores farinhas, oriundas de trigos panificáveis, com alto valor e força de glúten e baixa atividade enzimática. Da mesma maneira, essas farinhas devem possuir ausência de fragmentos de

pericarpo e da camada de aleurona, pois estes causam o cisalhamento das redes de glúten, o que conseqüentemente diminui a resistência da massa. A aleurona é rica em aminoácidos não sulfurados e carboidratos de baixo peso molecular, o que aumenta a extensibilidade da massa, promove a reação de Maillard e perda de sólidos no cozimento (GRANOTEC; 2002, p. 15).

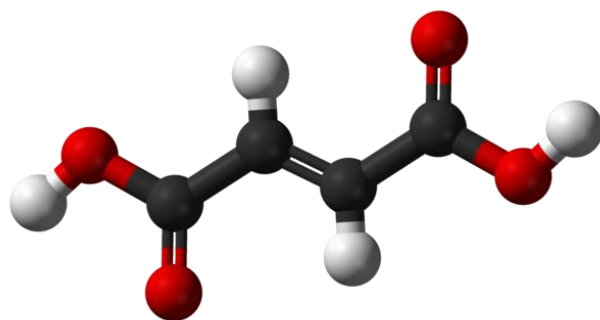
A massa pode ser classificada quanto ao teor de umidade, em seca ou fresca. Massas alimentícias secas são submetidas a processo de secagem até que o produto final apresente umidade máxima de 13,0 %. Por outro lado, as frescas não são submetidas ao processo de secagem, devendo, dessa forma, o produto final apresentar um percentual de umidade inferior a 35,0%. De acordo com Carolina Garib, a massa fresca deve ser clara e possuir uma coloração amarela uniforme, livre de fragmentos de pericarpo e gérmen (GARIB, 2002, p. 47).

Define-se o processo de produção de massas frescas como a extrusão, corte ou laminação de uma massa coesa e consistente obtida pelo amassamento de uma mistura equilibrada de farinha de trigo e água (GRANOTEC, 2002, p. 31).

A modelagem das massas frescas é realizada através do processo de laminação. A massa é laminada diversas vezes até obter a espessura adequada. O corte e a espessura da massa dependem da especificação do produto final, os mais comuns são: Talharim, lasanha, raviole e capeleti (GARIB, 2002, p. 56). As massas alimentícias possuem alta atividade de água, e assim tornam-se suscetíveis a várias alterações causadas por enzimas.

O ácido fumárico (figura 1) é obtido através do processo de isomerização do ácido maléico ou através do processo de fermentação biológica. Este ácido apresenta baixa solubilidade em água e não é higroscópico. É utilizado como acidulante em farinhas de trigo e pré-misturas, balas, pudins e flans”. (FOOD INGREDIENTS BRASIL Nº 19 – 2011 p. 25).

Figura 1. Estrutura do Ácido Fumárico.



Fonte: Hardinger, 2017.

Segundo a RDC nº 45, de 03 de novembro de 2010, tratando do assunto de aditivos alimentares, o limite máximo permitido para a utilização do ácido fumárico é de 2000 ppm (BRASIL; ANVISA, 2010, p. 13). O objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência da adição do ácido fumárico adicionado à formulação de massa fresca tipo pastel de retardar alterações indesejadas na coloração do produto por um período de 30 dias. Estudar a influência deste ácido nas características físico-químicas da farinha de trigo, como umidade, pH e cinzas. Verificar o comportamento reológico da farinha de trigo com a adição de ácido fumárico.

Metodologia

Coletou-se 6 Kg de amostra de três farinhas de passagens destinadas à produção de massas do diagrama de moagem da empresa Bunge alimentos. Cada amostra foi dividida em duas partes de 3 Kg, sendo que em uma das partes foram adicionadas 2000 ppm de ácido fumárico comercial. Utilizou-se para a produção das massas tipo pastel os seguintes materiais:

- – Ovos;
- – Óleo de soja;
- – NaCl comercial;
- – Água potável;
- – Ácido fumárico comercial.

Para a preparação das amostras e análises foram utilizados os seguintes equipamentos:

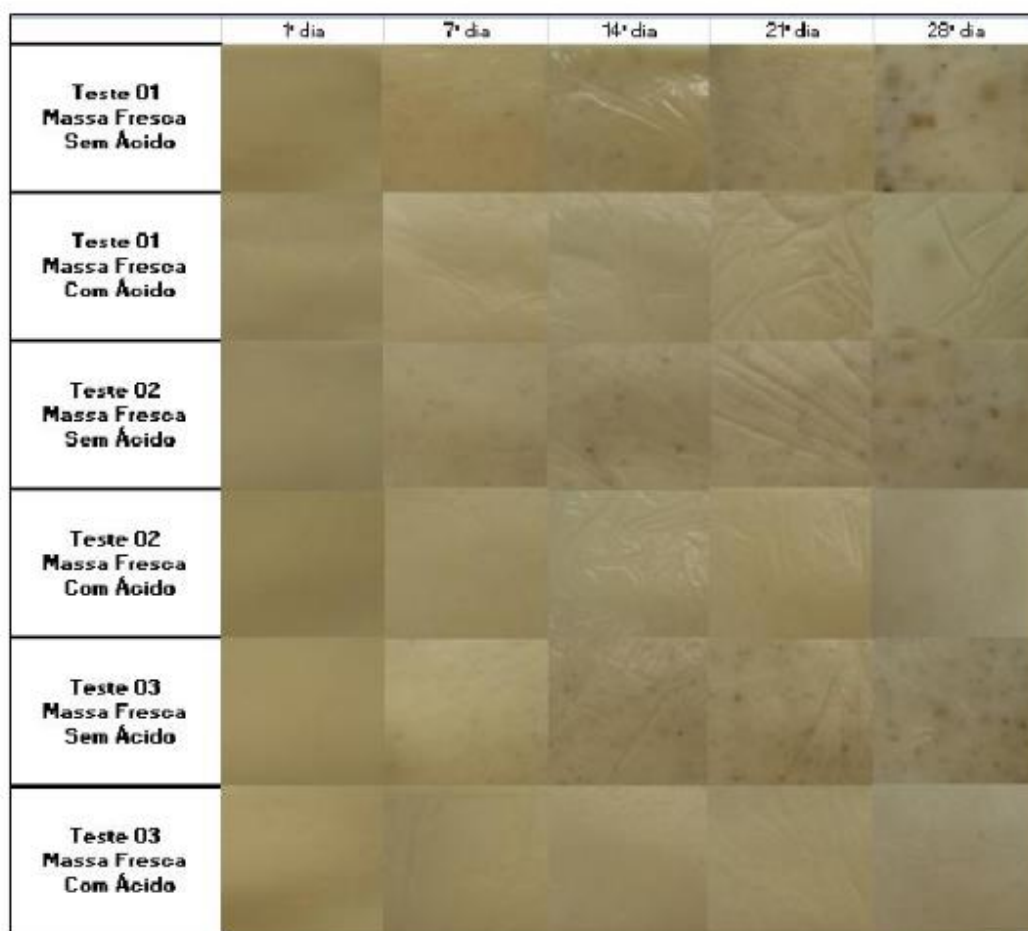
- – Homogeneizador Chopin;
- – Termobalança Brabender;
- – Falling Number Perten;
- – Alveógrafo Chopin;
- – Farinógrafo Brabender;
- – Colorímetro Minolta;
- – pHmetro tecnal;
- – Cilindro para massas Lieme;
- – Refrigerador Brastemp;
- – Câmera fotográfica Sony Sybershot.

O teste de massa fresca tipo pastel foi realizado utilizando as seguintes proporções: a farinha de trigo como o ingrediente de referência, adicionado de 30,0% de água, 10,0% de ovos, 3,0% de óleo de soja e 2,0% de sal. Elaborou-se as massas das amostras com a formulação padrão para o controle, e utilizando a mesma formulação com a adição de 2000ppm de ácido fumárico comercial, para testar a eficiência deste. Este procedimento foi realizado com as três amostras de farinhas coletadas.

Resultados e Discussão

De modo geral, os testes nos quais foram aplicados ácido fumárico comprovaram significativa redução no escurecimento das massas, tanto em escala L* a* b* quanto em escala L* C* h*. No entanto, devem-se considerar as alterações nas características reológicas. Observou-se visualmente o retardo da coloração desde a primeira semana de monitoramento, o que é possível observar na figura abaixo. Figura 2.

Figura 2 – Fotos de massas com e sem tratamento; dias, 1, 7, 14, 21 e 28.



Fonte: Autores.

Pôde-se observar na tabela 1 que não há mudança significativa nos parâmetros físico-químicos, exceto o valor de pH, ocorrido nas farinhas adicionadas de ácido fumárico.

Tabela 1- Resultados comparativos das análises físico-químicas e reológicas da farinha com e sem adição de ácido fumárico.

	Parâmetros	Teste 1		Teste 2		Teste 3	
		sem ácido	com ácido	sem ácido	com ácido	sem ácido	com ácido
Cor	L*	94,61	94,54	94,61	94,69	94,22	94,51
	a*	-0,23	-0,66	-0,70	-0,70	-0,64	-0,61
	b*	9,52	9,44	9,45	9,53	9,44	9,56
Alveografia	W	233,33	222,00	221,67	163,67	270,33	214,67
	P	170,00	139,33	188,00	142,67	151,67	143,00
	L	31,33	40,33	30,00	23,00	43,00	33,33
	G	12,63	13,47	11,65	11,23	14,53	13,23
	IE	0,00	0,00	0,00	0,00	50,00	0,00
	P/L	5,42	3,76	6,82	5,84	3,44	4,17
Farinografia	Absorção	62,00	63,00	63,50	65,00	63,20	64,00
	Estabilidade	28,50	9,00	25,50	7,00	26,50	7,00
	T. desenv.	9,50	4,50	9,50	2,00	13,50	2,00
	ITM	0,00	10,00	0,00	10,00	0,00	10,00
	T. Quebra	30,00	9,50	28,50	9,50	29,50	9,00
Falling Number (s)		307,00	293,00	305,33	291,33	312,33	284,33
Glúten Úmido		24,01	23,10	24,03	24,14	24,80	24,12
Glúten Index		95,37	97,73	97,87	97,42	97,57	96,63
Umidade		14,00	14,00	13,70	13,70	13,50	13,50
pH		6,15	5,87	6,27	5,97	6,19	5,92

Fonte: Autores

Avaliando os parâmetros reológicos da análise de alveografia, observa-se que o valor de W, parâmetro que avalia a força do glúten em Joules foi alterado significativamente em dois dos três testes. Indicando o enfraquecimento das cadeias de glúten, fator que impacta na resistência ao rompimento das massas durante o processamento. Para os valores de P, em dois dos três testes, ocorreu uma redução significativa, indicando a redução da tenacidade da massa, fator que pode influenciar negativamente na qualidade do produto final. A redução dos valores de P/L indica que a massa se tornou mais extensível e menos elástica. Característica indesejada para valores

inferiores a 2,0 mmH₂O. Nos testes realizados com a adição do ácido fumárico a redução não foi significativa.

Observou-se na análise reológica de farinografia, redução significativa no parâmetro estabilidade, índice de tolerância e tempo de quebra. A redução desses valores, indicam que a farinha com a adição de ácido fumárico tolera ser trabalhada mecanicamente um período de tempo menor, tomando isto como ponto crítico de controle, pois caso o trabalho mecânico exceda a estabilidade da farinha, o produto final pode se romper facilmente, durante o processo de cocção, seja ele cozimento ou fritura.

Considerações Finais

Conclui-se que a aplicação do ácido fumárico em massas frescas tipo pastel retarda de maneira significativa o escurecimento do produto, que foi observado a partir da primeira semana após a sua elaboração. Em relação às características físico-químicas e reológicas, quando foi utilizado a dosagem máxima permitida pela legislação, observou-se redução de alguns parâmetros, levando a sugerir novos estudos em relação a dosagem utilizada.

Agradecimentos

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), CAPES e CNPQ pelo financiamento deste estudo.

Referências

Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET). Dados de Mercado 2023. Disponível em: <http://abinpet.org.br/site/mercado/2015>. Acesso em: 24 de ago. 2024.

Abeyrathne, e. D. N. S.; Nam, k.;Ahn, d. U. Analytical methods for lipid oxidation and antioxidant capacity in food systems. *Antioxidants (Basel)*, [S. l.], v. 10, n. 10, p. 1587, 9 out. 2021. DOI: 10.3390/antiox10101587.

Baune, M. C. et al. Effect of plant protein extrudates on hybrid meatballs – changes in nutritional composition and sustainability. *Future Foods*, v. 4, 2021.

Botterweck, A. A. M. et al. Intake of Butylated Hydroxyanisole and Butylated Hydroxytoluene and Stomach Cancer Risk: Results from Analyses in the Netherlands Cohort Study. *Food and Chemical Toxicology*, v.38, p.599 - 605, 2000.

Delanghe, T. et al. Antioxidant and food additive BHA prevents TNF cytotoxicity by acting as a direct RIPK1 inhibitor. *Cell Death Dis.*, v. 12, p. 699, 2021.

- Domínguez, r.; pateiro, m.; gagaoua, m.; barba, f. J.; zhang, w.; lorenzo, J. M. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants (Basel)*, [S. l.], v. 8, n. 10, p. 429, 25 set. 2019. DOI: 10.3390/antiox8100429.
- European Food Safety Authority. Safety of butylated hydroxy anisole (BHA) for all animal species. *EFSA Journal*, [S. l.], v. 17, n. 12, p. e05913, 13 dez. 2019.
- Grandi, M. et al. Occurrence of mycotoxins in extruded commercial cat food. *ACS Omega*, v. 4, n. 9, p. 14004-14012, 2019.
- Geng, l.; Liu, k.; Zhang, H. Lipid oxidation in foods and its implications on proteins. *Frontiers in Nutrition*, [S. l.], v. 10, p. 1192199, 15 jun. 2023. DOI: 10.3389/fnut.2023.1192199.
- Guarente, L.; Kenyon, C. Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. *Nature*, v. 408, p. 255-262, 2000.
- Guillas, G. et al. Insights to study, understand and manage extruded dry pet food palatability. *Animals (Basel)*, v. 14, n. 7, p. 1095, 2024.
- Hilton, J. W. Antioxidants: function, types and necessity of inclusion in pet foods. *Canadian Veterinary Journal*. v.30, p.682-684, 1989.
- Hardinger, Steven A. *Glossário ilustrado de química orgânica: Ácido fumárico*. 2017
- Huang, X.; Ahn, D. U. Lipid oxidation and its implications to meat quality and human health. *Food Science and Biotechnology*, v. 28, n. 5, p. 1275-1285, 7 jun. 2019. DOI: 10.1007/s10068-019-00631-7.
- Kajarabille, N.; Latunde-Dada, G. O. Programmed cell-death by ferroptosis: antioxidants as mitigators. *Internation Journal Moleculas Science.*, v. 20, n. 19, p. 4968, 2019.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dogs and cats**. Washington, D.C: *National Academy Press*, 2006
- Pacheco, G. F. E. **Suplementação de antioxidante a base de algas em dietas para cães contendo níveis elevados de ácidos graxos saturados ou insaturados**. f.90. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande Sul. 2018.
- Pokorky, J.; Yanishlieva, N.; Gordon, M. **Antioxidants in food: practical applications**. Boca, Raton, Boston, New York, Washington, D.C.: *Woodhead Publishing, CRC Press*. p 268-283, 2001.
- Statista - **Estatísticas e fatos**: Mercado Mundial de Alimentos para Animais de Estimação. Disponível em: <https://www.statista.com/topics/7429/pet-food-market-worldwide/#topicOverview>. Acesso em 24 de ago. 2024.
- Schleicher, M.; Cash, S. B.; Freeman, L. M. Determinants of pet food purchasing decisions. *Canadian Veterinary Journal.*, v. 60, n. 6, p. 644-650, 2019.

Shi, J. et al. Effects of glutelin and lipid oxidation on the physicochemical properties of rice starch. *Cereal Chemistry.*, v. 98, p. 683-692, 2021.

Shahidi, F.; Hossain, A. Role of Lipids in Food Flavor Generation. *Molecules* 2022, 27, 5014. <https://doi.org/10.3390/molecules27155014>.

Torres-Arreola, W. et al. Effect of a low-density polyethylene film containing butylated hydroxytoluene on lipid oxidation and protein quality of Sierra fish (*Scomberomorus sierra*) muscle during frozen storage. *Journal Agriculture and Food Chemistry.*, v. 55, n. 15, p. 6140-6146, 2007.

Usuga, A. et al. Dry food affects the oxidative/antioxidant profile of dogs. *Veterinary Medicine Science.*, v. 9, n. 2, p. 687-697, 2023.

Usman. et al. Sensory profile of pulse-based high moisture meat analogs: A study on the complex effect of germination and extrusion processing. *Food Chemistry*, v. 426, p. 136585, 2023. DOI: 10.1016/j.foodchem.2023.136585

Vinassa, M. et al. Profiling Italian cat and dog owners' perceptions of pet food quality traits. *BMC Veterinary Research.*, v. 16, n. 1, p. 131, 2020.

Wang, D. et al. Lipid oxidation in food science and nutritional health: A comprehensive review. *Oil Crop Science.*, v. 8, p. 35-44, 2023.

Wani, S. A.; Kumar, P. Antioxidants and its properties as affected by extrusion process: A review. *Recent Patents on Food Nutrition & Agriculture.*, v. 7, n. 2, p. 108-114, 2015.

CAPÍTULO 5

PUBLIQUE COM A SCIENCE EM FLUXO CONTÍNUO

PUBLISH WITH SCIENCE IN CONTINUOUS FLOW

DOI: <https://doi.org/10.56001/23.9786500753660.05>

Submetido em: 07/06/2024

Revisado em: 30/06/2024

Publicado em: 12/07/2024

AUTORES

Universidade Federal do Brasil, Faculdade de Ciências, Localidade-PE

<http://lattes.cnpq.br/>

AUTORES

Universidade Estadual do Brasil, Centro de Ciências, Localidade-PB

<https://orcid.org/>

AUTORES

Instituto Federal do Brasil, Departamento de Ciências, Localidade-SE

<http://lattes.cnpq.br/>

Resumo

Texto

Palavras-chave: Words.

Abstract

Texto

Keywords: Words.

Introdução

Aqui começa sua publicação e história de sucesso.

SOBRE OS ORGANIZADORES DO LIVRO DADOS CNPQ:

Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos



Possui Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (2003) e Mestrado em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (2006). Doutor em Biotecnologia pela RENORBIO (Rede Nordeste de Biotecnologia (2013), Área de Concentração Biotecnologia em Saúde atuando principalmente com pesquisa relacionada a genética do câncer de mama. Participou como Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial Nível 3 de relevantes projetos tais como: Projeto Genoma *Anopheles darlingi* (de 02/2008 a 02/2009); e Isolamento de genes de interesse biotecnológico para a agricultura (de 08/2009 a 12/2009). Atualmente é Professor Adjunto III da Universidade Federal de Campina Grande-UFCG, do Centro de Educação e Saúde onde é Líder do Grupo de Pesquisa BASE (Biotecnologia Aplicada à Saúde e Educação) e colaborador em ensino e pesquisa da UFRPE, UFRN e EMBRAPA-CNPQ. Tem experiência nas diversas áreas da Genética, Fisiologia Molecular, Microbiologia e Bioquímica com ênfase em Genética Molecular e de Microrganismos, Plantas e Animais, Biologia Molecular e Biotecnologia Industrial. Atua em projetos versando principalmente sobre os seguintes temas: Metagenômica, Carcinogênese, Monitoramento Ambiental e Genética Molecular, Marcadores Moleculares Genéticos, Polimorfismos Genéticos, Bioinformática, Biodegradação, Biotecnologia Industrial e Aplicada, Sequenciamento de DNA, Nutrigenômica, Farmacogenômica, Genética na Enfermagem e Educação.

Pós-Dra. Carliane Rebeca Coelho da Silva



Possui Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal Rural de Pernambuco apresentando monografia na área de genética com enfoque em transgenia. Mestrado em Melhoramento Genético de Plantas pela Universidade Federal do Rural de Pernambuco com dissertação na área de melhoramento genético com enfoque em técnicas de imunodeteção. Doutora em Biotecnologia pela RENORBIO (Rede Nordeste de Biotecnologia, Área de Concentração Biotecnologia em Agropecuária) atuando principalmente com tema relacionado a transgenia de plantas. Pós-doutorado em Biotecnologia com concentração na área de Biotecnologia em Agropecuária. Atua com linhas de pesquisa focalizadas nas áreas de defesa de plantas contra estresses bióticos e abióticos, com suporte de ferramentas biotecnológicas e do melhoramento genético. Tem experiência na área de Engenharia Genética, com ênfase em isolamento de genes, expressão em plantas, melhoramento genético de plantas via transgenia, marcadores moleculares e com práticas de transformação de plantas via "ovary drip". Tem experiência na área de genética molecular, com ênfase nos estudos de transcritos, expressão diferencial e expressão gênica. Integra uma equipe com pesquisadores de diferentes instituições como Embrapa Algodão, UFRPE, UEPB e UFPB, participando de diversos projetos com enfoque no melhoramento de plantas.

Pesquisas em Bioquímica e Enzimologia

“Esperamos que tenham aproveitado todos os trabalhos disponíveis na íntegra e gratuitos para seu conhecimento e consulta.

Esta obra objetivou ampliar os seus horizontes sobre a temática proposta além dos muros acadêmicos, proporcionando uma visão mais realista, ampla e multidisciplinar desta área de estudo seus impactos e descobertas.

Os livros da Science compreendem do conhecimento mais simples ao mais complexo, do mais acadêmico ao mais aplicado, procurando sempre a socialização global com conhecimento científico respaldado e de qualidade, para que a sociedade possa se beneficiar em todos os sentidos.

Agradecemos o seu interesse em chegar até o final deste livro na busca por conhecimento. Aguardem novos títulos e eventos da Editora Science sempre comprometida com a qualidade e o sucesso da sua publicação.”

PARA MAIS INFORMAÇÕES E OBRAS DA EDITORA SCIENCE ACESSE:

www.editorascience.com.br

Siga nossas redes sociais e amplie o alcance dos nossos livros:

Facebook: <http://www.facebook.com/editorascience>

Instagram: <https://www.instagram.com/editorascience>



Todos os Direitos Reservados

