

publicações detalhadas a respeito desse assunto. Os objetivos do presente trabalho foram detectar a etiologia da miopatia dorsal cranial, bem como de verificar se a lesão apresenta um potencial risco à saúde pública. Para atender a esses objetivos, foram conduzidos experimentos de avaliação da associação entre a miopatia dorsal cranial e a síndrome ascítica; de ausência de inclusão de vitamina E e selênio na dieta de frangos de corte, na tentativa de reproduzir a lesão; quantificação de vitamina E (alfa tocoferol) e selênio em músculos lesados e músculos normais; avaliação do papel do exercício na indução da miopatia dorsal cranial, bem como sua associação com a miopatia peitoral profunda. Também foram realizadas pesquisas de bactérias de interesse em saúde pública em músculos com lesão. Não há risco de intoxicação através do consumo do músculo anterior *latissimus dorsi* lesado ou normal em relação às bactérias pesquisadas. Os níveis médios de alfa tocoferol e selênio nos músculos anterior *latissimus dorsi* lesados ou normais são compatíveis com os níveis de carcaças usualmente suplementadas. Músculos com lesão apresentaram níveis mais elevados de selênio do que músculos sem lesão. Pode-se constatar, também, a ausência de associações entre a miopatia dorsal cranial e a síndrome ascítica, bem como à miopatia peitoral profunda. A causa, ou as causas, da miopatia dorsal cranial não foi(foram) identificada(s). Contudo foi possível a conclusão de que o exercício e a ingestão de baixos níveis de vitamina E não estão envolvidos no processo.

*Bolsista de Pós-Doutorado, PPG-Cirurgia.

**Bolsista CNPq DTI-1.

Apoio Financeiro: Mapa/CNPq.

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia

Av. Bento Gonçalves, 8824, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: ctps@ufrgs.br

²Universidade Luterana do Brasil, Canoas, RS, Brasil.

³Instituto Federal Catarinense, Concórdia, SC, Brasil.

Avaliação da depleção linfóide folicular da bursa de Fabricius: uma metodologia alternativa que emprega análise digital de imagem e redes neurais artificiais

Evaluation of follicular lymphoid depletion in the Bursa of Fabricius: an alternative methodology using digital image analysis and artificial neural networks

Moraes, L. B.^{1*}; Osório, F. S.²; Salle, F. O.^{1**}; Souza, G. F.³; Fallavena, L. C. B.⁴; Nascimento, V. P.¹; Santos, L. R.⁵; Moraes, H. L. S.¹; Salle, C. T. P.¹

A avicultura industrial apresenta altos índices produtivos e caracteriza-se pela alta tecnificação e eficiência. Contudo, inúmeros fatores podem prejudicar esses resultados. Dentre os mais importantes citam-se as doenças imunodepressoras, consideradas causas primárias responsáveis pelo estabelecimento de inúmeros patógenos capazes de agravar o quadro clínico das aves, elevando ainda mais as perdas. Em vista disso, foi pesquisado um método mais eficaz para a determinação da depleção linfocitária da bolsa de Fabricius, órgão fundamental para a proliferação e maturação de linfócitos B. Dentre as doenças que mais acometem a bolsa de Fabricius encontram-se a doença infecciosa da bolsa de Fabricius, as micotoxicoses e a anemia infecciosa. Foram utilizadas 50 amostras de bolsa de Fabricius coletadas intactas, processadas e o escore óptico de depleção foi estabelecido (de 1 a 5). As bolsas foram divididas em

quadrantes e 12 foliculos selecionados por amostra. As imagens foram adquiridas, analisadas com o software MatLab® 6.5 e suas características extraídas. Com os dados foram geradas redes neurais (Neuroshell®), comparando-se os escores óticos e a classificação realizada pela rede. A rede foi capaz de classificar corretamente, com alta sensibilidade (até 89,81%) e especificidade (até 96,17%) a maioria dos foliculos, tendo um melhor desempenho utilizando-se três categorias (sensibilidade de até 79,39% e especificidade de até 91,94%) e duas categorias (sensibilidade e especificidade chegando a 92,54%). Os resultados mostraram que é possível a utilização de análise de imagem e redes neurais para a classificação histopatológica de depleção linfocitária da bolsa de Fabricius. A análise de imagem é uma ferramenta prática, com resultados objetivos, dimensiona o erro classificatório e padroniza a avaliação da depleção linfocitária da bolsa.

*Bolsista CNPq DTI-1, CDPA-UFRGS.

**Bolsista de Pós-Doutorado, PPG-Cirurgia, Fac. Medicina – UFRGS.

Auxílio Financeiro: Mapa/CNPq.

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia

Av. Bento Gonçalves, 8824, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: ctps@ufrgs.br

²Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

³Diplomata Alimentos, Concórdia, SC, Brasil.

⁴Universidade Luterana do Brasil, Canoas, RS, Brasil.

⁵Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil.

Implicações para exatidão na quantificação do gossipol livre: I. Análise da variabilidade intrínseca à matriz

Implications for accuracy in quantifying free gossypol: I. Analysis of intrinsic matrix variability

Romero, A. C.; Uliana, R.; Mariano, I. C.; Louvandini, H.; Abdalla, A. L.

O gossipol é um alcalóide polifenólico tóxico presente em plantas do gênero *Gossypium*, como o algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) e apresenta toxicidade na forma livre. Após a prensagem do caroço, o gossipol complexa-se com proteínas, convertendo-se à forma ligada, menos tóxica. Para a análise da toxicidade, o gossipol livre deve ser mensurado considerando-se também fatores como variabilidade intrínseca à matriz e à metodologia analítica. A cromatografia líquida de alta eficiência tem se mostrado eficiente, considerando sua exatidão e sensibilidade. Entretanto, é imprescindível que a amostra analítica seja capaz de representar adequadamente a amostra total. Neste estudo, foi avaliada a variação do teor de gossipol individual entre 75 caroços de algodão de uma mesma variedade (IAC 25-RMD), colhidos num mesmo período, a fim de verificar a variabilidade presente em 5g de amostra, como proposto para amostra analítica pela AOCS. A metodologia para extração do gossipol livre proposta por Wang foi utilizada, com algumas modificações. Os caroços descascados foram pesados, triturados, macerados em acetona (10 mL) por 16h, filtrados em papel de filtro sob vácuo, com três lavagens do resíduo com 2 mL de acetona. O filtrado foi seco e redissolvido em 10 mL de clorofórmio:ácido acético (99:1, v/v). Na cromatografia foi utilizada coluna Zorbax C18 (250 x 4,6 mm, i.d. 5 µm), eluição gradiente (80:20; metanol-0,1% ácido ortofosfórico:água, 70:30 v/v, e clorofórmio), com fluxo de 1,1 mL minuto-1 e detecção a 254 nm (detector de arranjo de fotodiodos). O peso médio

dos caroços sem casca foi de $0,06 \pm 0,01g$ e o teor de gossipol apresentou uma ampla faixa, de 298 a $9.644 \mu g g^{-1}$ (média = $1.028,6 \mu g g^{-1} \pm 1.058,3$). Não houve correlação entre o peso do grão e o teor de gossipol. O alto coeficiente de variabilidade observado (102%), dos quais apenas 10% podem ser provenientes da metodologia, sugere a possibilidade de sub ou superestimativa do gossipol a ser administrado na alimentação animal e pode dificultar a realização de estudos para comparação de metodologias analíticas. Observou-se que vários estudos utilizam quantidades de caroço de algodão menores que 1g, com base no teor esperado de gossipol presente, como proposto pela AOCS. Por outro lado, a realização de moagem de uma quantidade maior de caroço de algodão, a fim de oferecer maior representatividade da amostra e diminuir a variabilidade, favorece a conversão do gossipol livre à forma ligada, menos tóxica e não extraída em acetona. Uma possibilidade para contornar esse problema é a realização da moagem do caroço de algodão em acetona, formando uma pasta a partir da qual a amostra analítica pode ser obtida.

Apoio: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, concessão de bolsa de estudos (2009/51265-9) e a Mapa/CNPq 578541/2008-4.

Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura
Av. Centenário, 303, CEP 13416-000, Piracicaba, SP, Brasil.

E-mail: acromero@cena.usp.br

Implicações para exatidão na quantificação do gossipol livre: II. Variabilidade associada à extração e efeito do tempo de maceração

Implications for accuracy in quantifying free gossypol: II. Variability associated to extraction and time for maceration

Romero, A. C.; Mariano, I. C.; Uliana, R.; Louvandini, H.; Abdalla, A. L.

O gossipol é um alcalóide polifenólico tóxico presente em plantas do gênero *Gossypium*, como o algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) e apresenta toxicidade na forma livre. Neste estudo, foi mensurada a contribuição da metodologia analítica para a variabilidade dos resultados, bem como o efeito do tempo de maceração em relação ao teor extraído. A metodologia proposta por Wang foi utilizada, com algumas modificações. Para a obtenção uma amostra com teor de gossipol homogêneo para as replicatas, 2,04 g de caroços descascados foram triturados em acetona (10 mL). A pasta obtida foi filtrada e as partículas foram passadas por peneiras de 1 mm e 0,25 mm. Foram realizadas seis replicatas com 1 e 0,25 mm de granulometria, às quais foram adicionados 10 mL de acetona e macerados por 16h, para obter a variabilidade analítica. O extrato foi filtrado em papel de filtro sob vácuo, seco e redissolvido em 10 mL de clorofórmio:ácido acético (99:1, v/v). A cromatografia foi realizada em coluna Zorbax C18 (250 x 4,6 mm, i.d. 5 μm), eluição gradiente (80:20; metanol-0,1% ácido ortofosfórico:água, 70:30 v/v, e clorofórmio), com fluxo de 1,1 mL .minuto⁻¹ e detecção a 254 nm (DAD). Para a avaliação da influência do tempo de maceração no teor de gossipol extraído, foi realizado o mesmo preparo destinado a obtenção de partículas de 0,25 mm. Foram analisados os tempos 1, 2, 4, 8 e 16h de maceração. A análise das replicatas não apresentou diferença no coeficiente de variabilidade entre as granulometrias (11,5 e 10,3%, 1 e 0,25 mm, respectivamente). Observou-se que as replicatas de menor tamanho apresentaram menor teor de gossipol extraído ($650 \mu g g^{-1} \pm 68$ e $1.691,45 \mu g g^{-1} \pm 159$), provavelmente devido à extração por prensagem manual para o preparo da amostra em acetona, a exemplo do que ocorre durante a moagem convencional, na qual o gossipol liberado entra em contato com outras

proteínas e pode se complexar e originar o gossipol ligado. Com relação ao efeito do tempo de maceração, considerando 16h de maceração como 100% de extração ($3.896,05 \mu g g^{-1}$), observou-se que os tempos inferiores (1, 2, 4 e 8h) apresentaram 70 ($2.715,7 \mu g g^{-1}$), 74 ($2.887,7 \mu g g^{-1}$), 73 ($2.864,8 \mu g g^{-1}$) e 72% ($2.792,6 \mu g g^{-1}$) do teor de gossipol. Embora sejam inferiores ao tempo referência, os valores não diferem entre si num período de 1 a 8h. É possível que tempos a partir de uma hora sejam suficientes para a extração de uma quantidade de gossipol, provavelmente ligada à matriz mais superficialmente. Entretanto, ao longo de 16h, o teor restante, aderido fortemente a matriz, é extraído pelo maior tempo de contato com a acetona.

Apoio: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, concessão de bolsa de estudos (2009/51265-9) e a Mapa/CNPq 578541/2008-4.

Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura
Av. Centenário, 303, CEP 13416-000, Piracicaba, SP, Brasil.

E-mail: acromero@cena.usp.br

Desenvolvimento de novos métodos analíticos para verificação da qualidade do leite de vaca

Development of new analytical methods for cow milk quality evaluation

Santos, P.M.¹; Colnago, L.A.²; Pereira-Filho, E.R.¹

O leite de vaca tem sido frequentemente alvo de processo de adulteração não só no Brasil, mas também em outros países. Como resultado dessa prática, é necessário o desenvolvimento de novos métodos destinados à avaliação da autenticidade desse alimento. Nesse contexto, o presente trabalho investigou comparativamente a potencialidade de quatro diferentes métodos analíticos adotados para verificar a qualidade do leite bovino: análise multivariada de imagens digitais, ressonância magnética nuclear de baixo campo (RMN-LR), espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) e espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). Para isso, amostras de leite bovino cru de boa qualidade foram adulteradas com a adição de água, peróxido de hidrogênio, soro de leite, leite sintético e urina, em diferentes proporções, de modo a fornecerem amostras com 5, 15, 25, 35 e 50% (v/v) de adulteração. No caso da soda cáustica, amostras de leite de boa qualidade foram submetidas a um processo natural de degradação (com diminuição do pH) e, em seguida, foi adicionada soda cáustica para reestabelecer o pH original. Para obtenção das imagens digitais, 5 mL da amostra de leite foram misturados com 100 mL de um indicador ácido-base e, em seguida, digitalizados em um scanner HP, modelo color laserjet CM1312 MFP. Essas imagens foram analisadas com a média de dez parâmetros de cor: R, G, B, H, S, V, L (luminosidade), e dos coeficientes tricromáticos (r , g e b). As mensurações de RMN foram efetuadas no espectrômetro SLK-SG-100 com aplicação da sequência de pulso CPMG. Os espectros de NIR foram adquiridos no modo absorvância de um espectrômetro. Já o monitoramento das concentrações de Na e Ca foi efetuado em um espectrômetro. Todos os dados obtidos foram analisados com auxílio de ferramentas estatísticas e os resultados indicaram que esses métodos apresentam um elevado potencial para verificação da qualidade do leite bovino. Os modelos de classificação construídos com os resultados obtidos via análise multivariada de imagens digitais, RMN e NIR demonstraram que essas propostas são capazes de identificar, com alta eficiência, uma amostra de leite adulterada quando a concentração do adulterante presente é superior a 25%. Resultados obtidos