

PORQUE SE ESTUDAM OS COMPOSTOS VOLÁTEIS DOS ALIMENTOS DE ORIGEM VEGETAL?

SÍLVIA M. ROCHA *

Com este texto, pretende-se explicar que tipos de metodologias podem ser utilizados para estudar os compostos voláteis dos alimentos de origem vegetal, fazendo referência às suas vantagens e inconvenientes. Será, também, discutido o tipo de informação que pode ser extraído a partir da composição volátil dos alimentos. Os alimentos compreendem uma multiplicidade de matrizes complexas e muito diferentes sob o ponto de vista da composição química, e a composição volátil de um alimento está directamente relacionada com a sua composição química global. Assim, com o propósito de tornar este texto mais objectivo, o que facilitará a sua compreensão, este trabalho será focado nos alimentos de origem vegetal e, dentro destes, será sempre dado especial destaque aos frutos. No entanto, muitos dos conceitos e metodologias abordadas ao longo do texto são extensíveis a todo o tipo de alimentos.

COMO SE ESTUDAM OS COMPOSTOS VOLÁTEIS DOS ALIMENTOS DE ORIGEM VEGETAL?

Na bibliografia, encontram-se milhares de artigos científicos sobre a composição volátil dos alimentos. Só na última década, foram publicados cerca de 2500 artigos sobre este tema, o que mostra o interesse que tem junto da comunidade científica. Os alimentos compreendem uma multiplicidade de matrizes complexas e muito diferentes sob o ponto de vista da composição química; e a composição volátil de um alimento está directamente relacionada com a sua composição química.

Este trabalho será focado nos alimentos de origem vegetal, e dentro destes será sempre dado especial destaque aos frutos.

Os alimentos de origem vegetal têm na sua composição compostos orgânicos voláteis, que por possuírem uma elevada pressão de vapor à pressão atmosférica, podem facilmente volatilizar e passar para a atmosfera [1]. Entre estes encontram-se uma grande variedade de estruturas químicas, tais como, álcoois, ácidos, aldeídos, cetonas e ésteres alifáticos e aromáticos, entre outros. Na Figura 1 estão representadas algumas estruturas

químicas de compostos voláteis constituintes de alimentos vegetais.

identificação e quantificação. Estas últimas são normalmente realizadas por

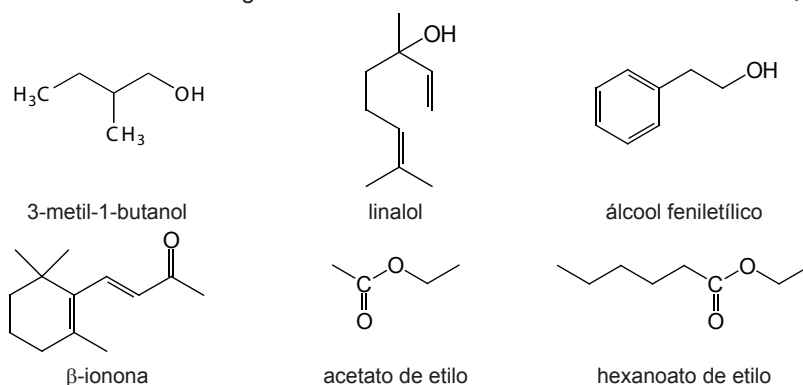


Figura 1 Exemplos de compostos voláteis presentes em alimentos vegetais

Estes compostos podem já existir na forma livre e volátil, podendo assim contribuir para o aroma dos produtos. No entanto, alguns podem estar numa forma glicosilada (não volátil), e a passagem à forma volátil pode ocorrer durante o amadurecimento, processamento, e/ou armazenamento do alimento. Os compostos voláteis quando presentes sob a forma glicosilada não contribuem para as propriedades de aroma.

Os compostos voláteis são componentes minoritários dos vegetais, estando presentes em concentrações muito baixas (ng a mg/kg). Assim, as metodologias usadas para o seu estudo incluem uma fase de enriquecimento (concentração), a qual ocorre previamente ou em simultâneo com a fase de extracção, às quais se segue a

cromatografia em fase gasosa (GC) [2]. Durante muitos anos, as extracções com solvente orgânicos, como por exemplo extracção líquido-líquido, extracção sólido-líquido, extracção e destilação simultâneas, seguidas de análise por GC, foram as metodologias mais utilizadas nesta área. Estas metodologias, além de serem relativamente morosas, levarem ao aparecimento de artefactos (especialmente durante a eliminação do excesso de solvente) e não permitirem a detecção dos compostos mais voláteis, que normalmente co-eluem com o solvente, têm ainda a desvantagem de usar solventes orgânicos [3].

Assim, nas duas últimas décadas tem sido feito um grande esforço para desenvolver metodologias que não necessitem de utilizar solventes orgânicos

* Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro

cos. Têm surgido várias alternativas, como a extracção em modo de espaço de cabeça estático e dinâmico e mais recentemente, a micro-extracção em fase sólida (*Solid Phase Micro-Extraction* - SPME) e extracção sorptiva em barra de agitação (*Stir Bar Sorptive Extraction* - SBSE). Estas duas últimas (SPME e SBSE), se bem que em termos operacionais sejam diferentes, baseiam-se basicamente no mesmo princípio, o da partição de analitos entre a fase líquida ou gasosa da amostra e uma fase estacionária [4]. Ambas são consideradas amigas do ambiente no sentido em que não é necessário o recurso a solventes orgânicos.

No entanto, a micro-extracção em fase sólida tem tido maior adesão por parte da comunidade académica e dos profissionais do meio empresarial devido especialmente à grande facilidade de manipulação e ao facto da sua utilização ser facilmente compatível com a utilização de um GC convencional.

No caso da SBSE, o injectador do GC necessita de um sistema de dessorção térmica específico para esta técnica. Esta necessidade é por vezes contornada por combinação com o uso de volumes muito reduzidos de solvente [5,6].

No entanto, a SBSE apenas permite a análise da composição volátil de matrizes líquidas, não sendo de todo aplicável na análise dos compostos voláteis de matrizes sólidas, como é o caso dos vegetais.

A micro-extracção em fase sólida é uma metodologia de fácil manipulação, relativamente selectiva, apresenta elevada sensibilidade e reprodutibilidade, e é muito mais rápida do que as metodologias de extracção convencionais, anteriormente referidas [4,7].

Outras das grandes vantagens da micro-extracção em fase sólida é o facto de permitir analisar os compostos voláteis emitidos pelos alimentos, os quais podem interagir com o sistema olfactivo humano, sendo desta forma potencialmente responsáveis pelo aroma (Figura 2).

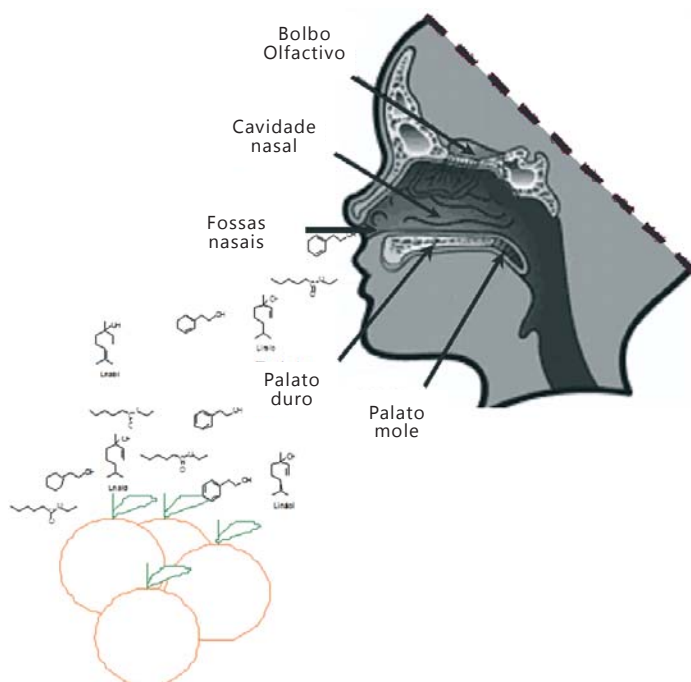


Figura 2 Interação dos compostos voláteis emitidos por um alimento com o sistema olfactivo humano

A micro-extracção em fase sólida foi desenvolvida nos anos 90 por Pawliszyn e seus colaboradores, sendo inicialmente aplicada na análise de poluentes em água [8]. Trata-se de uma técnica de extracção e pré-concentração simultânea de compostos voláteis e semi-voláteis.

Envolve uma fibra de sílica fundida revestida com uma fina camada de uma fase estacionária (sólida, líquida ou mista) que pode ser imersa na amostra (caso das amostras líquidas) ou introduzida no seu espaço de cabeça (HS-SPME) para a extracção de compostos voláteis (Figura 3).

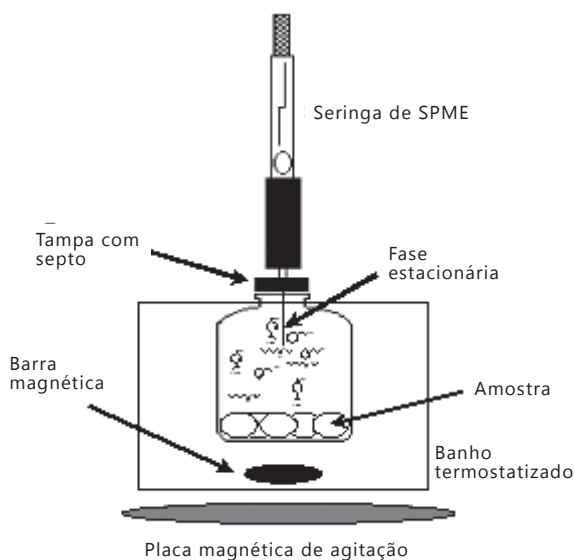


Figura 3 Montagem de um sistema de micro-extracção em fase sólida (SPME), em modo espaço de cabeça (fase estacionária introduzida na fase de vapor da amostra), para extracção/concentração de compostos voláteis emitidos por alimentos

Neste tipo de metodologia não ocorre uma extracção exaustiva dos analitos, apenas uma pequena fracção é extraída, a qual é representativa da composição global, se as condições experimentais forem devidamente controladas [7,8].

Após a partição dos analitos entre fases (fase estacionária - fase de vapor (também designada espaço de cabeça) e/ou fase estacionária - fase de vapor - fase líquida e/ou fase sólida) os compostos sorvidos pela fase estacionária podem ser termicamente

desorvidos no injector de um cromatógrafo [8]. Esta técnica pode ser aplicada na análise da composição volátil de matrizes sólidas, líquidas ou gasosas.

Existem disponíveis no mercado vários tipos de fases estacionárias para SPME, apresentando diferentes polaridades, espessuras de filme e tipos de interação com o analito (absorção e adsorção). A escolha da fase estacionária mais adequada depende das propriedades físico-químicas dos analitos e das amostras, devendo as condições experimentais ser optimizadas para cada tipo de analito e fase estacionária. A eficiência extractiva e a reprodutibilidade desta técnica são dependentes dos parâmetros experimentais, tais como, temperatura e tempo de extracção, quantidade de amostra, composição química da amostra, agitação e adição de sais (efeito *salting out*) [8,9]. Esta metodologia tem sido amplamente aplicada na análise de matrizes vegetais [10].

Os compostos sorbidos na fase estacionária são normalmente desorvidos no injector de um GC com detecção por espectrometria de massa (GC-MS). Por vezes são utilizados detectores específicos como por exemplo o ECD (*Electron Capture Detector*), o NPD (*Nitrogen/Phosphorous Detector*), entre outros, com vista a incrementar a sensibilidade e especificidade da metodologia relativamente a um dado analito. A detecção por espectrometria de massa é amplamente utilizada, especialmente quando o objectivo não é pesquisar um analito específico, mas sim o estudo integral da fracção volátil.

Actualmente, este tipo de equipamento está suficientemente desenvolvido, apresentando detectores robustos e *software* com algoritmos que facilitam o processamento de dados [11]. Além disso, incluem bases de dados de espectros de massa que representam um auxílio fundamental na identificação dos analitos, especialmente daqueles que não estão disponíveis comercialmente como padrões. É muito comum não estarem disponíveis no mercado padrões para confirmar a identificação de analitos presentes em matrizes vegetais, as quais apresen-

tam uma composição volátil complexa, com compostos de diferentes grupos químicos e em quantidades muito variáveis (Figura 4).

Esta técnica baseia-se na combinação de duas colunas com diferentes fases estacionárias, como por exemplo uma apolar e outra polar, ligadas em série

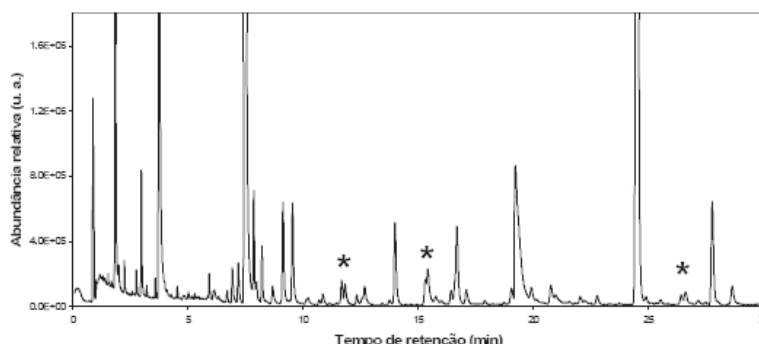


Figura 4 Cromatograma de um fruto obtido por SPME/GC-MS (a. u. - unidades arbitrárias; * exemplo de zonas que apresentam baixa resolução cromatográfica)

O GC-MS é um equipamento amplamente utilizado na análise de alimentos. Apesar da análise cromatográfica unidimensional ser utilizada para obter dados analíticos muito válidos, por vezes a complexidade das amostras excede a capacidade separativa de um único processo cromatográfico.

Nestes casos, os cromatogramas apresentam inúmeras co-eluições (Figura 4), o que dificulta imenso as tarefas de identificação e quantificação dos analitos. Assim, nos últimos anos têm sido desenvolvidos vários estudos com o objectivo de incrementar a resolução cromatográfica. A cromatografia compreensiva bidimensional GCxGC apresenta-se como uma alternativa, incluindo dois mecanismos ortogonais para separar os vários componentes de uma amostra numa única análise [12].

através de uma interface específica, um modulador. Esta interface fixa por criofocagem pequenas fracções (correspondendo a alguns segundos) eluídas a partir da primeira coluna e reinjecta-as na segunda coluna. Cada pico da primeira dimensão é modulado várias vezes, o que permite a preservação da separação nesta dimensão. A segunda coluna é muito curta e fina e, consequentemente, cada fracção modulada é separada muito rapidamente antes que a próxima modulação se inicie. Usando este tipo de equipamento, os compostos co-eluídos na primeira coluna serão adicionalmente separados na segunda coluna [12]. Assim, a capacidade separativa é altamente incrementada quando comparada com uma cromatografia unidimensional por GC. Na Figura 5 apresenta-se um exemplo em que se combinou uma coluna apolar com outra polar.

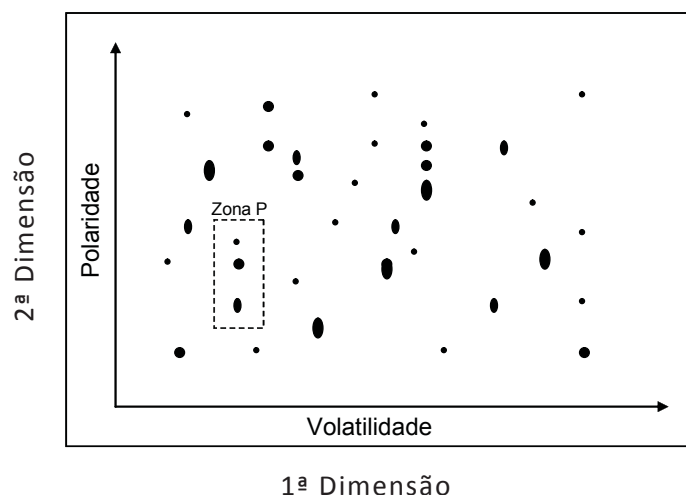


Figura 5 Cromatograma de contornos gerado em duas dimensões, resultante da combinação de uma coluna apolar com uma polar

Assim, os compostos não separados na primeira coluna porque apresentavam volatilidade similar foram separados na segunda coluna de acordo com as suas diferentes características de polaridade (ver zona P).

Além da separação cromatográfica, a sensibilidade e os limites de detecção também são incrementados devido à focagem do pico no modulador e à separação dos analitos do *background* [13]. A GCxGC também oferece novas oportunidades no estabelecimento de cromatogramas estruturados (estrutura ordenada do cromatograma de contornos GCxGC baseada na presença de compostos estruturalmente relacionados), que permite definir espaços cromatográficos associados a determinadas estruturas moleculares. Esta abordagem facilita a identificação de analitos em novas amostras [14].

QUE INFORMAÇÃO SE PODE OBTER A PARTIR DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS?

A partir da composição volátil de um alimento podem obter-se diversos tipos de informação. Desde logo, um tipo de informação muito importante é o aroma. O aroma de um alimento pode ser definido como o conjunto de sensações olfactivas e gustativas que o alimento transmite ao consumidor através do olfacto, resultante dos diferentes compostos voláteis e/ou semi-voláteis emitidos por este (Fig. 2). Os compostos que contribuem para o aroma têm que estar presentes em concentração igual ou superior aos seus respectivos limites de percepção sensorial. Estes limites são diferentes de composto para composto, e podem variar para o mesmo composto pois também dependem do tipo de matriz (alimento sólido, líquido, gordo, etc.). O limite de percepção sensorial é a concentração mínima necessária de um dado composto que permite o reconhecimento do seu aroma.

A aceitabilidade de um alimento pelo seu consumidor depende bastante das características sensoriais que apresenta, incluindo o aroma. A combinação da micro-extracção em fase sólida com a cromatografia em fase gasosa tem sido usada para estudar os compostos voláteis emitidos por vários frutos frescos e processados. A

combinação sobre a identificação dos compostos voláteis detectados com os respectivos descritores de aroma (sensação olfactiva provocada por um composto presente em concentração igual ou superior ao seu limite de percepção sensorial), permite inferir sobre as características de aroma dos produtos. Para melhor explicar a aplicabilidade desta metodologia usam-se dois exemplos: a maçã Bravo de Esmolfe [15] e a Ameixa d'Elvas [16] (um fruto confitado em calda de açúcar). Esta abordagem representa um contributo fundamental para definir as características varietais de aroma da maçã Bravo de Esmolfe, e a combinação das características varietais com as resultantes do processamento térmico para o caso da Ameixa d'Elvas.

Estes dois casos representam produtos DOP (Denominação de Origem Protegida), e a avaliação do seu aroma é fundamental para definir e controlar a sua qualidade. Assim, foi possível explicar com base científica o carácter cítrico peculiar da maçã Bravo de Esmolfe, o qual é explicado pela presença de cimeno, nerolidol e 3-(metiltio) propionato de etilo [15]. Além disso, foi estudada a composição volátil do fruto ao longo de 4 meses de armazenamento a 4°C, tendo-se verificado que durante 3 meses não ocorrem alterações significativas.

O estabelecimento deste período é particularmente importante na sociedade actual em que as transacções comerciais são globais, havendo necessidade de transporte e armazenamento dos produtos para consumo em períodos afastados da fase de colheita do fruto. Daí que a necessidade de armazenamento dos frutos a baixas temperaturas e/ou em atmosferas modificadas, e o conhecimento das modificações que possam ocorrer nestas condições seja fundamental para garantir que são preservadas as características peculiares deste produto DOP. No que diz respeito à Ameixa d'Elvas, foi possível identificar os compostos com impacto no aroma adocicado e frutado (notas de pêssego, alperce, nectarina e cereja) deste produto. A Ameixa d'Elvas contém compostos voláteis com diferentes origens: i) provenientes do fruto fresco (ácidos, compostos terpénicos,

lactonas e ésteres), ii) produzidos durante o processamento térmico na presença de sacarose (furanos e compostos libertados a partir dos precursores glicosilados), e iii) compostos que parecem indiciar a ocorrência de processos fermentativos (etanol, eugenol, ésteres e ácido acético). Alguns destes compostos têm mais do que uma origem [16].

O estudo da composição volátil permite inferir um sem número de informações para além do aroma, permitindo extrair conhecimento sobre a caracterização varietal dos produtos de origem vegetal, tais como a uva [14,17-19], o vinho [20], o café [21], e a maçã [15], entre outros. Também a avaliação do impacto do amadurecimento [17-19], do armazenamento [15], do processamento [16,22,23], e a detecção de defeitos [23-25] são tipos de dados que podem ser estudados a partir dos compostos voláteis. Estas são importantes vertentes de trabalho que fornecem dados com aplicabilidade em duas grandes áreas, a área do controlo de qualidade e a área emergente da metabolómica. Quer por imposições legais, quer como garante da qualidade dos alimentos que o consumidor adquire, é muito importante o desenvolvimento de metodologias rápidas, com elevado nível de sensibilidade, e especificidade, e isentas de solventes orgânicos. O estudo dos compostos voláteis por SPME-GC enquadra-se perfeitamente nesta tipologia de requisitos.

Os progressos recentes na caracterização de biomoléculas e na biotecnologia associada a práticas agrícolas têm apresentado um enorme impacto na selecção, preservação e processamento dos produtos vegetais. A metabolómica imprime uma nova dimensão nesta área, a qual se tem focado no incremento do conhecimento das matrizes biológicas através do estudo sistemático e compreensivo do metabolismo, e que tem apresentado desenvolvimentos em várias áreas nomeadamente na vertente do metabolismo das plantas [26].

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) tem sido a técnica mais utilizada nesta área, mas muitos desenvolvimentos têm também sido feitos

por recurso a outras técnicas, nomeadamente ao GC-MS, que apresenta a vantagem de ser mais sensível. No entanto, esta é uma área onde há muito por explorar, e a complementaridade entre a informação obtida pelas diferentes técnicas é fundamental. Considerando a multiplicidade e complexidade de dados obtidos, é crucial o recurso a ferramentas avançadas de análise multivariada para tratamento de dados de forma a criar bases de dados e extrair informação estruturada. A análise multivariada, que explica e extrai as principais fontes de variabilidade ou direcções de interesse de um conjunto de dados, pode também ser usada para distinguir amostras através do seu perfil metabólico. Equipamentos com elevada performance, tais como o GC-MS e o GCxGC-TOFMS, tornam-se fundamentais nesta área.

Uma das grandes limitações na valorização dos produtos naturais prende-se com a falta de conhecimento e controlo da sua composição. É fundamental caracterizar para valorizar. O desenvolvimento de métodos rápidos, simples e fiáveis representarão seguramente uma importante linha de acção nesta área, contribuindo para a valorização dos produtos vegetais como matéria-prima e como produto final para consumo, além de que aumenta a confiança do mercado. O perfil metabólico volátil que compreende informação de natureza qualitativa e/ou quantitativa sobre um conjunto de metabolitos de um produto, pode ser usado para extrair informação útil para estabelecer biomarcadores varietais, origem geográfica, e controlar práticas agrícolas ou processos industriais, entre outros. Seguidamente descrevem-se alguns exemplos.

A produtividade e qualidade do tomate (*Solanum lycopersicum*) dependem largamente da quantidade e tipo de metabolitos produzidos. O estudo recente sobre o perfil metabólico do tomate abriu a possibilidade de investigar os mecanismos de regulação metabólica que afectam a produtividade e qualidade do fruto [27]. O estabelecimento do perfil metabólico volátil da maçã McIntosh (*Malus domestica* Borkh.) permitiu avaliar a sua resistência a vários agentes patogénicos

e definir marcadores voláteis associados às diferentes doenças que se podem desenvolver na maçã. Este tipo de informação é muito útil para os armazenistas de frutos, os quais podem detectar maçãs afectadas ainda numa fase precoce [28]. A definição do perfil das uvas em compostos monoterpénicos por SPME/GCxGC-TOFMS abre a possibilidade de usar estes compostos como marcadores varietais, uma vez que estes compostos são metabolitos secundários cuja síntese é codificada por genes relacionados com a variedade [14]. O estabelecimento do perfil metabólico volátil de variedades de *Vitis vinífera* L. permitiu identificá-la como fonte potencial de compostos sesquiterpénicos [17-19], os quais apresentam inúmeros efeitos benéficos para a saúde. Por outro lado, têm sido desenvolvidas metodologias rápidas para análise dos compostos voláteis emitidos por alimentos, baseadas em SPME/MS-MVA, as quais permitem obter em poucos minutos impressões digitais metabólicas, que podem ser usadas para rapidamente classificar amostras, prever características sensoriais ou estimar o impacto de processos tecnológicos [20].

NOTAS FINAIS

Os compostos voláteis emitidos pelos alimentos de origem vegetal representam, sem dúvida, uma fonte imensa de informação. O recurso a metodologias que combinam a micro-extracção em fase sólida com a cromatografia em fase gasosa (nas várias vertentes, GC-MS, GCxGC-TOFMS, e outras) apresenta-se como uma abordagem muito adequada para a análise directa (compostos libertados para o espaço de cabeça) de matrizes sólidas complexas e heterogéneas, como é o caso das matrizes vegetais, sem recurso a etapas prévias de preparação da amostra. Considerando a multiplicidade e complexidade de dados obtidos a partir destas metodologias, é crucial o recurso a ferramentas avançadas de análise multivariada para tratamento de dados de forma a criar bases de dados e extrair informação estruturada. A aplicação destas metodologias é extensível a outro tipo de matrizes além dos alimentos. Por exemplo, o estudo das moléculas voláteis sinalizadoras emitidas por microorganismos permite avaliar e controlar a sua patogenicidade (capacidade de um agente

biológico causar doença em um hospedeiro) [29]. Na área da higiene ocupacional e segurança no trabalho, têm sido realizados vários estudos envolvendo a análise dos compostos voláteis presentes no ar ambiente, emitidos a partir dos materiais de revestimento das superfícies, bombas e óleos dos equipamentos, colas, polímeros, etc [30]. Para finalizar, refere-se uma aplicação muito interessante que se prende com a análise dos compostos voláteis libertados no ar exalado. O estudo da composição volátil do ar exalado como metodologia rápida e não invasiva é uma área em franco desenvolvimento. Com este tipo de abordagem podem-se estabelecer biomarcadores de doenças, os quais poderão vir a ser usados como meio de diagnóstico, ou de acompanhamento do desenvolvimento da doença e monitorização de terapias [31]. Exemplos de biomarcadores de doenças são: a acetona na diabetes, óxido nítrico na asma, alcanos e metilalcanos no cancro da mama e dos pulmões.

REFERÊNCIAS

- [1] A. Voilley, P. Etiévent, *Flavour in Food*, Woodhead Publishing in Food Science, Technology and Nutrition, CRC Press LLC, Boca Raton, FL, USA (2006) Cap 6, 117-132.
- [2] M.A. Coimbra, S.M. Rocha, A.S. Barros, *Methodologies for improved quality control assessment of food products*, in *Advances in Food Diagnostics*, F. Toldrá e L. Nollet Eds, Blackwell Publishing, Iowa, USA (2007) Cap 2, 11-47.
- [3] H.F. Linskens, J.F. Jackson, *Plant Volatile Analysis*, in *Modern Methods of Plant Analysis*, Springer-Verlag, Berlin, Alemanha (1997) Cap. 19.
- [4] D-W. Lou, X. Lee, J. Pawliszyn, *Journal of Chromatography A* **1201** (2008) 228-234.
- [5] E. Coelho, R. Perestrelo, N. Neng, J.S. Câmara, M.A. Coimbra, J.M.F. Nogueira, S.M. Rocha, *Analytica Chimica Acta* **624** (2008) 79-89.
- [6] E. Coelho, M.A. Coimbra, J.M.F. Nogueira, S.M. Rocha, *Analytica Chimica Acta* **635** (2009) 214-221.
- [7] F.M. Musteata, J. Pawliszyn, *Trends in Analytical Chemistry* **26** (2007) 36-45.
- [8] J. Pawliszyn, *Journal of Chromatographic Science* **38** (2000) 270-278.
- [9] S. Rocha, V. Ramalheira, A. Barros, I. Delgadillo, M.A. Coimbra, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49** (2001) 5142-5151.

- [10] F.M. Musteata, J. Pawliszyn, *Trends in Analytical Chemistry* **26** (2007) 36-45.
- [11] K. Dettmer, P.A. Aronov, B.D. Hammock, *Mass Spectrometry Reviews* **26** (2007) 51-78.
- [12] T. Górecki, O. Panić, N. Oldridge, *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies* **29** (2006) 1077-1104.
- [13] J. Zrostlíková, J. Hajšlová, T. Čajka, *Journal of Chromatography A* **1019** (2003) 1738-186.
- [14] S.M. Rocha, E. Coelho, J. Zrostlíková, I. Delgadillo, M.A. Coimbra, *Journal of Chromatography A* **1161** (2007) 292-299.
- [15] S.F.A.R. Reis, S.M. Rocha, A.S. Barros, I. Delgadillo, M.A. Coimbra, *Food Chemistry* **113** (2009) 513-521.
- [16] C. Nunes, M.A. Coimbra, J. Saraiva, S.M. Rocha, *Food Chemistry* **111** (2008) 897-905.
- [17] S.M. Rocha, E. Coelho, J. Vinholes, M.A. Coimbra, "Grapes and wine from *Vitis vinifera* L. as a potential source of sesquiterpenoids", in Natural Products, Series Recent Progress in Medicinal Plants, Editora Studium Press LLC, Huston, Texas, USA, (2006) Vol.15, Cap. 12, 253-272.
- [18] E. Coelho, S.M. Rocha, I. Delgadillo, M.A. Coimbra, *Analytica Chimica Acta* **563** (2006) 204-214.
- [19] E. Coelho, S.M. Rocha, A.S. Barros, I. Delgadillo, M.A. Coimbra, *Analytica Chimica Acta* **597** (2007) 257-264.
- [20] S.M. Rocha, P. Coutinho, A. Barros, I. Delgadillo, M.A. Coimbra, *Journal of Chromatography A* **1114** (2006) 188-197.
- [21] S. Rocha, L. Maeztu, A. Barros, C. Cid, M.A. Coimbra, *Journal of the Science of Food and Agriculture* **84** (2004) 43-51.
- [22] S.M. Rocha, P. Coutinho, I. Delgadillo, A. Dias Cardoso, M.A. Coimbra, *Journal of the Science of Food and Agriculture* **85** (2005) 199-205.
- [23] P.V. Neto, S.M. Rocha, A.J.D. Silvestre, *Journal of the Science of Food and Agriculture* **87** (2007) 632-640.
- [24] S. Rocha, I. Delgadillo, A.J. Ferrer Correia, A. Barros, P. Wells, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46** (1998) 145-151.
- [25] R. Aparicio, S. Rocha, I. Delgadillo, M.T. Morales, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48** (2000) 853-860.
- [26] D. Ryan, K. Robards, *Separation & Purification Reviews* **35** (2006) 319-356.
- [27] Y. Iijima, K. Aoki, *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* **78** (2009) 14-22.
- [28] A. Vikram, B. Prithviraj, H. Hamze-hzarghani, A. Kushalappa, *Journal of the Science of Food and Agriculture* **84** (2004) 1333-1340.
- [29] M. Martins, M. Henriques, J. Azeredo, S.M. Rocha, M.A. Coimbra, R. Oliveira, *Eukaryotic Cell* **6** (2007) 2429-2436.
- [30] L.A. Coelho, Z.L. Cardeal, *Journal of Chromatography B* **853** (2007) 1-9.
- [31] N.M. Grob, M. Aytekin, R.A. Dweik, *Journal of Breath Research* **2** (2008) 1-18.

ACTUALIDADE CIENTÍFICA

INOVAÇÕES DE 2008

A revista *Science* de 19 de Dezembro 2008 elegeu as inovações ("breakthroughs") de 2008. A "reprogramação de células" foi eleita a inovação de 2008 e nove outras inovações foram colocadas em segundo lugar.

1. Reprogramação de células: Com a introdução de genes que retrocedem o relógio do desenvolvimento de células, os investigadores estão a conseguir obter conhecimentos sobre os processos celulares subjacentes às doenças e sobre a biologia de como uma célula decide o seu destino. Os cientistas conseguiram retirar células da pele de pacientes sofrendo de várias doenças e reprogramá-las para células estaminais. Este feito pode também constituir um passo importante no longo percurso para tratar doenças com células do próprio doente. As células estaminais têm a capacidade de se renovarem e de se diferenciarem numa variedade de células especializadas. Há duas fontes de células estaminais: as embrionárias e as encontradas nos tecidos adultos. Num embrião em desenvolvimento as células estaminais podem diferenciar-se para formar todos os tecidos embrionários. O isolamento de células estaminais a partir de embriões implica a sua destruição, razão pela qual tem havido uma enorme controvérsia a nível mundial sobre a investigação deste tipo de células. Por isso, os cientistas têm vindo a estudar alternativas. As células estaminais adultas funcionam como um sistema reparador, podem dividir-se e criar outras células

como elas ou mais diferenciadas. Tem havido um enorme esforço para compreender a capacidade de se dividirem ou de se autorrenovarem e qual o seu potencial de diferenciação. Estas células estaminais adultas pluripotentes podem ser encontradas no sangue do cordão umbilical. A preservação criogénica do cordão umbilical é actualmente uma área de grande potencial comercial. Os cientistas conseguiram, primeiro em células de rato e mais recentemente em células humanas, com a introdução de genes em células adultas, crescer células que se assemelham a células estaminais embrionárias. Estas foram designadas de células estaminais pluripotentes. Foi possível mostrar que células adultas podem assim ser reprogramadas para formarem células especializadas. Estes resultados são surpreendentes porque as células especializadas adultas quase nunca mudam de percurso, ou seja, não mudam por exemplo de células musculares para células pulmonares. Contudo, para este processo se tornar útil, necessita ser muito mais eficiente. Na maioria das experiências conseguiram-se apenas reprogramar menos de uma célula em 10000!

2. Observação de exoplanetas: Os astrónomos têm procurado outros planetas que orbitem em torno de outras estrelas, que não o Sol. A procura destes planetas exteriores ao sistema solar tem por objectivo detectar planetas habitáveis (ou habitados). Para tal, os astrónomos necessitam ver o seu alvo. Contudo, as detecções de exoplanetas (mais de 300) têm sido feitas de forma indirecta: ou através dos efeitos dos seus

campos gravíticos sobre as estrelas próximas ou quando estes, durante a sua órbita em torno da estrela, provocam oscilações da luz total que os telescópios recebem do conjunto da estrela e planeta. Neste último caso, a passagem da luz da estrela através da atmosfera do planeta pode revelar a sua composição. De facto, água, metano e dióxido de carbono têm sido detectados nestas experiências. Contudo, os planetas que, com a tecnologia actual, podem, por esta via, ser caracterizados dificilmente serão propícios à sustentação de vida. Assim, só resta a detecção directa dos exoplanetas. De facto, nos últimos meses, foram observados directamente, pela primeira vez, meia dúzia de candidatos, alguns dos quais confirmando observações indirectas anteriores. Este avanço resultou do desenvolvimento de grandes telescópios e das tecnologias para separar a luz que vem do exoplaneta da da estrela em torno da qual orbita.

3. Genes do cancro: Os investigadores centraram a atenção sobre o ADN errante que conduz ao crescimento descontrolado das células dos tumores. Estas células possuem erros genéticos que destroem processos celulares cruciais, removendo os travões da divisão celular. Com a conclusão do genoma humano e com sequenciações mais baratas, os cientistas podem agora estudar de forma sistemática muitos genes de células cancerosas, procurando identificar as alterações que métodos anteriores não detectaram. Desta forma, e em particular para cancros mais mortíferos, os cientistas têm podido construir um catálogo de

genes de cancro, que tem revelado uma enorme complexidade, sugerindo que os tratamentos que atacam os percursos biológicos têm maior potencial do que as drogas que atacam genes específicos.

4. Novos supercondutores de elevada temperatura:

Os físicos descobriram uma segunda família de supercondutores de elevada temperatura crítica, materiais que podem transportar corrente eléctrica sem resistência a temperaturas bastante acima do zero absoluto. Em Fevereiro de 2008, um grupo de cientistas japoneses reportou a observação de supercondutividade até uma temperatura crítica de 26 kelvin no óxido $\text{LaFeAsO}_{1-x}\text{F}_x$. A este primeiro anúncio seguiram-se, no espaço de 3 meses, outros anúncios de grupos chineses que, com substituição do lantânio por outros elementos, conseguiram subir o valor da temperatura crítica até 55K. O valor máximo situa-se a 56 K. Este valor é, contudo, inferior ao valor record de 138K observado na outra família de supercondutores de elevada temperatura crítica – os cerâmicos à base de óxido de cobre, descobertos em 1986 por Bednorz e Müller (descoberta galar-dada com o Prémio Nobel da Física de 1987). Esta descoberta causou sensação porque pode ajudar a resolver o mistério que ainda perdura sobre o mecanismo responsável pela ocorrência de supercondutividade nos óxidos de cobre ou pode, em alternativa, adensar o mistério se se vier a verificar que o mecanismo é diferente.

5. Observação de proteínas em acção:

Os cientistas debatiam há muito a forma como as proteínas se ligam aos seus alvos. Muitos pensam que a forma de uma molécula alvo determina a adopção, pela proteína de uma conformação complementar. Porém, é também possível que as proteínas em solução vão serpenteando, assumindo várias conformações, até que uma se adapte ao alvo. Estudos computacionais realizados na Alemanha e nos Estados Unidos forneceram evidência que mostra que uma proteína parece dançar entre muitas conformações. Uma outra equipa de investigadores norte-americanos seguiu proteínas individuais e descobriu que um único acontecimento molecular, aleatório, pode mudar uma célula bacteriana de um estado metabólico para outro.

6. Água para queimar: As fontes de energia renováveis, como a eólica e a solar, são muito promissoras. São abundantes, sem carbono, e os seus preços continuam a diminuir. Contudo, não existe uma forma eficiente de armazenar, à escala industrial, o excesso de electricidade. Foi anunciado, por investigadores norte-americanos, a descoberta de um catalisador que usa electricidade para decompor a água em oxigénio e hidrogénio. O hidrogénio pode depois ser queimado ou usado em pilhas de combustível para gerar electricidade. Este catalisador, uma mistura de cobalto e fósforo, pode permitir substituir a platina, rara e muito cara, que há muito se sabe ser capaz de decompor a água. Apesar de a velocidade de reacção com este novo catalisador ser demasiado bai-

xa para uso industrial, a possibilidade de usar um metal mais barato e abundante, permite perspectivar a possibilidade de as energias renováveis poderem ser usadas em qualquer lugar a qualquer hora.

7. Vídeo de um embrião: A dança das células que acompanha a transformação de um ovo fertilizado num organismo está no centro da biologia do desenvolvimento. Contudo, a maioria dos microscópios apenas permite obter vislumbres parciais do processo. Cientistas alemães conseguiram agora visualizar o *ballet* com detalhe sem precedentes, usando um novo microscópio que usa um feixe laser para varrer um espécime vivo, captando imagens reais e evitando os danos causados pela luz que nos equipamentos anteriores limitava as observações a algumas horas. Os investigadores filmaram e analisaram filmes que mostram os movimentos de cerca de 16000 células que formam o embrião de um peixe zebra ao fim de um dia de desenvolvimento. Foi também possível observar uma estirpe mutante de peixe muito conhecida, revelando, pela primeira vez, o que de facto ocorre de “errado” durante o desenvolvimento do embrião.

8. Gordura de uma cor diferente: A gordura, como se conhece desde há cerca de 400 anos, pode ser branca ou castanha. A gordura branca, é o chumaço que armazena energia e que incomoda médicos e dietistas. Se a gordura branca é uma colcha alchochoada, a gordura castanha é um cobertor eléctrico. Devido à presença de muitas mitocôndrias, são queimadas moléculas de gordura para gerar calor. Os cientistas admitiram, há muito, que ambas as variedades derivavam do mesmo tipo de células progenitoras. Um grupo de cientistas norte-americanos descobriu agora que a gordura castanha podia ser convertida em músculo e vice-versa. Esta descoberta pode permitir um progresso significativo no desenvolvimento de tratamentos contra a obesidade que destruam a gordura branca, quer promovendo a actividade de células castanhas pré-existentes que queima gordura quer transplantando novas células.

9. Previsão da massa do protão: Foi possível calcular com precisão a massa do protão e de outras partículas feitas de quarks e glúões. Os valores não são novos: experimentalistas foram capazes de pesar um protão há cerca de um século. Contudo, estes novos resultados mostram que os físicos podem finalmente fazer cálculos precisos da força forte ultracomplexa que liga os quarks. Os protões são constituídos por três quarks com glúões movendo-se entre eles para transmitir a força forte. Devidos às incertezas da Mecânica Quântica, inúmeros glúões e pares quark-antiquark são criados e “destruídos” num protão num frenesim que é quase impossível de analisar mas que produz 95% da massa do protão. Um grupo de cientistas franceses, alemães e húngaros foi agora capaz de calcular a massa do protão e de outras partículas com uma precisão de cerca de 2%. Estes resultados mostram que os físicos conseguem finalmente lidar com a força forte.

10. Vulgarização da sequenciação: O desenvolvimento de novas tecnologias de sequenciação, mais rápidas e baratas do que as usadas na primeira decifração do genoma humano, está a provocar uma explosão nesta área. Foram decifrados os genomas de um urso das cavernas, de um Neandertal e 70% do genoma global de um mamute.

Fenómeno do ano LHC. Em Setembro de 2008, os primeiros feixes circularam no *Large Hadron Collider*, LHC (Grande Colisionador de Hadrões). Apesar de o seu funcionamento ter sido interrompido alguns dias após a inauguração, este feito posicionou a Europa numa posição de topo na área da Física e mostrou a sua ambição e sucesso na construção de grandes infraestruturas científicas. Note-se, em particular, que a construção de uma infraestrutur semelhante nos EUA (*Superconducting Super Collider*) foi cancelada em 1993. É ainda de assinalar o sucesso do CERN, enquanto modelo de um laboratório Pan-Europeu. Outra prova do empenho europeu foi a decisão de acolher a construção em Cadarache, França, do ITER, o projecto mundial de construção de um reactor que pretende demonstrar que a fusão nuclear é uma fonte de energia viável. O plano de construções de grandes infraestruturas elaborado pelo ESFRI (*European Strategy Forum on Research Infrastructures*) e publicado em 2006 enumera 35 projectos. Embora a UE não disponha dos fundos necessários à sua construção, decidiu no entanto avançar com estudos de *design* preliminares, de modo a colocar os projectos numa situação em que possam ser objecto de uma decisão política.

Colapso do ano. Crise financeira. A baixa repentina de vendas que se tornou numa contracção do crédito e no outono de 2008 numa crise financeira global deixa uma grande mancha no desempenho económico de 2008 e consequências que, tudo aponta, se farão sentir nos próximos anos. O pânico atingiu as bolsas mundiais, companhias de investimento entraram em colapso e grandes empresas e indústrias atravessam graves crises ou entraram mesmo em processos de falência. Felizmente a investigação científica não sentiu ainda um impacto directo mas os cientistas sentem, como todos, as consequências desta crise e os orçamentos para a ciência podem vir a sofrer cortes. Empresas que necessitam de capital para desenvolver novas tecnologias estarão sem dinheiro, projectos para o desenvolvimento de energias serão certamente atrasados e universidades e laboratórios financiados pelo estado irão certamente reduzir gastos em novas instalações e, porventura, em contratações.

JM