

Goma de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) utilizada como alternativa de meio de montagem em preparações histológicas

Cashew gum (*Anacardium occidentale* L.) used as an alternative mounting medium in histological preparations

Goma de cajú (*Anacardium occidentale* L.) utilizada como medio de montaje alternativo en preparaciones histológicas

Recebido: 02/09/2022 | Revisado: 19/09/2022 | Aceitado: 20/09/2022 | Publicado: 27/09/2022

Silvania Tavares Paz

ORCID: <https://orcid.gov/0000-0003-1027-7022>
RENORBIO, Brasil
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: silvania_rosas@yahoo.com.br

Emanuela Paz Rosas

ORCID: <https://orcid.gov/0000-0001-9895-5654>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: manu_pathy@hotmail.com

Thiago Barbosa Cahú

ORCID: <https://orcid.gov/0000-0002-7853-0613>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: thiagocahu@yahoo.com.br

Claudio Gabriel Rodrigues

ORCID: <https://orcid.gov/0000-0001-9015-5644>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: claudio.rodrigues@ufpe.br

Teresinha Gonçalves da Silva

ORCID: <https://orcid.gov/0000-0002-5971-0029>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: teresinha.goncalves@ufpe.br

Paloma Lys de Medeiros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9517-1416>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: paloma.medeiros@ufpe.br

Resumo

Neste trabalho, objetivou-se utilizar exsudato resinoso de uma planta típica do Nordeste brasileiro, a goma de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) como alternativa de meio de montagem na técnica histológica, economicamente viável e ambientalmente saudável. A goma do cajueiro foi processada de acordo com o método adaptado de Rinaudo e Milas. A leitura do índice de refração e a medida de viscosidade foram realizadas em refratômetro Abbes e viscosímetro digital MVD-20, respectivamente. De acordo com a liberação do comitê de uso de animais da Universidade Federal de Pernambuco, diferentes órgãos de ratos Wistar foram processados histologicamente e as preparações permanentes foram montadas com a goma resinosa de cajueiro (MGRC). O índice de refração do MGRC foi 1,343 e a viscosidade do meio sem óleo mineral foi $1143,7 \pm 267,4$ mPas.s e com o óleo mineral foi $939,9 \pm 103,7$ mPas.s. As preparações montadas com MGRC independentemente do tipo de coloração utilizada, apresentaram-se com imagens nítidas e morfologia das estruturas conservadas. O MGRC revelou-se de forma satisfatória como alternativa aos meios de montagem comerciais, sendo economicamente viável e gerando benefícios como biossegurança pessoal por ser atóxico, além de não prejudicar o meio ambiente.

Palavras-chave: Histotecnologia; Meios de montagem; Goma de cajueiro; Planta do Nordeste brasileiro.

Abstract

In this work, the objective was to use the resinous exudate of a typical plant of the Brazilian Northeast, the cashew tree gum (*Anacardium occidentale* L.) as an alternative mounting medium in the histological technique, economically viable and environmentally healthy. Cashew gum was processed according to the adapted method from Rinaudo and Milas. The refractive index reading, and the viscosity measurement were performed using an Abbes refractometer and an MVD-20 digital viscometer, respectively. According to the authorization of the Animal Use Committee of the Federal University of Pernambuco, different organs of Wistar rats were histologically processed and the permanent

preparations were mounted with cashew resin gum (MGRC). The refractive index of the MGRC was 1.343 and the viscosity of the medium without mineral oil was 1143.7 ± 267.4 mPas.s and with the mineral oil it was 939.9 ± 103.7 mPas.s. The preparations mounted with MGRC, regardless of the type of stain used, presented with clear images and morphology of the structures conserved. The MGRC proved to be a satisfactory alternative to commercial assembly means, being economically viable and generating benefits such as personal biosecurity as it is non-toxic, in addition to not harming the environment.

Keywords: Histotechnology; Mounting means; Cashew gum; Plant from the Brazilian Northeast.

Resumen

En este trabajo, el objetivo fue utilizar el exudado resinoso de una planta típica del Nordeste brasileño, la goma de anacardo (*Anacardium occidentale* L.) como medio de montaje alternativo en la técnica histológica, económicamente viable y ambientalmente saludable. La goma de anacardo se procesó según el método adaptado de Rinaudo y Milas. La lectura del índice de refracción y la medición de la viscosidad se realizaron utilizando un refractómetro Abbes y un viscosímetro digital MVD-20, respectivamente. De acuerdo con la autorización del Comité de Uso Animal de la Universidad Federal de Pernambuco, se procesaron histológicamente diferentes órganos de ratas Wistar y las preparaciones permanentes se montaron con goma de resina de marañón (MGRC). El índice de refracción del MGRC fue de 1,343 y la viscosidad del medio sin aceite mineral fue de $1143,7 \pm 267,4$ mPas.sy con aceite mineral fue de $939,9 \pm 103,7$ mPas.s. Las preparaciones montadas con MGRC, independientemente del tipo de tinción utilizada, presentaron imágenes nítidas y morfología de las estructuras conservadas. El MGRC demostró ser una alternativa satisfactoria a los medios comerciales de montaje, siendo económicamente viable y generando beneficios como la bioseguridad personal al no ser tóxico, además de no dañar el medio ambiente.

Palabras clave: Histotecnología; Medios de montaje; Goma de anacardo; Planta del Nordeste brasileño.

1. Introdução

O meio de montagem constitui uma interface que é adicionado entre a lâmina e a lamínula, na finalização de preparações histológicas, com o objetivo principal de proteger fisicamente a amostra ou espécime (Ravikumar et al., 2014). A consistência do meio de montagem possibilita o deslizamento da lamínula, obtendo-se um filme transparente e durável, necessário para a visualização de imagens a partir da microscopia óptica (Renshaw, 2007).

A interposição de um meio de montagem na confecção da preparação histológica é de fundamental importância para sua conservação e tempo de durabilidade; uma vez que, meios inadequados podem deslocar a lamínula expondo os cortes de tecido ao ar, resultando em opacificação e descoloramento dos preparados histológicos logo em seguida a realização do procedimento de montagem (Andrade et al., 2013).

Algumas propriedades são fundamentais e recomendadas para a utilização de um meio de montagem, tais como: (1) o índice de refração deve estar o mais próximo possível ao do vidro (1,53); (2) deve ser incolor e transparente; (3) não deve causar mancha difusa ou desaparecer; (4) deve estar seco para conferir consistência antiaderente e endurecer de forma relativamente rápida; (5) não deve retrair abaixo da lamínula; (6) deve permear completamente e preencher os interstícios dos tecidos; (7) não deve ter efeito adverso para os componentes do tecido; (8) deve ser resistente à contaminação (crescimento de microrganismos); (9) deve proteger a secção histológica ou a preparação citológica contra danos físicos e atividade química (oxidação e alterações no pH); (10) deve ser completamente miscível com desidratante ou agente de limpeza; (11) deve fixar sem cristalizar, rachar ou encolher (ou deformar o material que está sendo montado) e não reagir, lixiviar ou induzir o desbotamento (manchas) nas colorações e nos produtos de reação (incluindo aqueles de procedimentos histoquímicos, de hibridização e imuno-histoquímicos); e finalmente, (12) uma vez definido, o composto deve permanecer estável em função das características anteriormente mencionadas (Culling et al., 1985; Michalany, 1988; Ono et al., 2001; Bancroft; Gamble, 2002; Renshaw, 2007; Ravikumar et al., 2014).

No contexto atual as colas naturais despontam como uma promissora alternativa às colas sintéticas (derivadas do petróleo); uma vez que, apresentam vantagens em termos ambientais e com relação à saúde (Ramamoorth et al., 2016). O interesse por colas naturais tem crescido no mundo inteiro como possíveis substitutos de resinas fenólicas, e setores como

farmacêutico, agroindústria, biorremediação e cosméticos foram considerados como os principais mercados consumidores de produtos naturais (Enríquez, 2001).

A região Nordeste do Brasil tem uma vasta diversidade de fruteiras nativas e exóticas adaptadas às suas condições edafoclimáticas, representando um grande potencial socioeconômico, para mercados interno e externo, seja de comercialização de frutas *in natura*, como para industrialização (Aguiar et al., 2000; Assunção; Mercadante, 2000). O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), uma planta rústica, típica de clima tropical, encontrada nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, tem-se destacado com relevância econômica ao gerar emprego, renda e impostos, devido aos produtos industrializados oriundos do fruto e pseudofruto, principalmente para os Estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte (Aguiar et al., 2000; Maia et al., 2000; Assunção et al., 2000; Maia et al., 2001; Moura et al., 2001; Valexport, 2003; Sancho et al., 2007; Cunha e Silva et al., 2013; Catarino et al., 2015; MDCl, 2019).

A goma resinosa produzida pelo cajueiro localiza-se nos seus ductos resinosos do córtex e lenho, havendo também exsudação na casca e caule da árvore (Araujo et al., 2018). O exsudato secretado pelo cajueiro ocorre devido ao seu metabolismo normal (proteção a dessecação e contra infecções) e a situações de estresse ambiental, sendo a resina produzida por células epiteliais em resposta a ataques de patógenos ou a estímulos mecânicos por meio de talhos realizados na casca da árvore ou através da inoculação de substâncias química (Kumar et al., 2012; Ribeiro et al., 2016).

A utilização da goma do cajueiro se justifica, por apresentar características de um biopolímero de baixo custo, sendo atóxica e biodegradável (Dias et al., 2016). As propriedades da goma de caju são semelhantes à goma arábica e pode ser usada como substituto de cola líquida para papel (Azeez, 2005), na indústria cosmética e farmacêutica como aglutinante para cápsulas e comprimidos (Carneiro-da-Cunha et al., 2009) e na indústria alimentícia como estabilizante de sucos e como aditivo na fabricação de gomas de mascar devido ao seu poder espessante (Cordeiro et al., 2017). Com isso, objetivou-se utilizar a goma resinosa do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) como uma alternativa de meio de montagem economicamente viável na rotina de laboratórios de histotécnica, uma vez que o país ainda tem altos custos com a importação da goma arábica (Santos-Serejo et al., 2009; Mirhosseini; Amid, 2012; Licá et al., 2018; Ferreira et al., 2022).

2. Metodologia

Obtenção do material de estudo

A goma bruta do cajueiro foi coletada entre agosto de 2018 a janeiro de 2019 (três coletas, no intervalo de três meses) e foi cedida pelo Sr. Edil França, da Fazenda Grande, Buíque, Pernambuco, Brasil, 270, Km-32. Buíque, situa-se a 846 metros de altitude e tem as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 8° 36' 51" Sul, Longitude: 37° 9' 39" Oeste.

Processamento da goma de cajueiro para obtenção do meio de montagem

Amostras de goma *in natura* foram submetidas a processo de purificação, de acordo com método adaptado de Rinaudo e Milas (1994) (Rodrigues et al, 1993; Lopes et al., 1994; Silva, 2013). Inicialmente, a goma de cajueiro bruta foi triturada em moinho de facas (IKA mini G A-10) e o pó resultante da moagem foi colocado num Becker, para dissolução em água destilada autoclavada obtendo-se uma solução de 4% (m/v) a temperatura ambiente e o pH foi ajustado para 7,5 com adição de NaOH (0,5 M). A solução passou por filtragens em lâ de vidro e funil de vidro sinterizado até se tornar transparente. Após essa etapa, o polímero do cajueiro foi precipitado pela adição de etanol anidro por 24h. Em seguida, a solução foi novamente submetida à filtração a vácuo com funil de vidro sinterizado e colocada em capela de exaustão de gases com temperatura controlada para secagem parcial (Figura 1).

Figura 1: Etapas do processamento da goma resinosa de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) para obtenção de meio de montagem utilizado na confecção de preparações histológicas.



Fonte: Autores (2022).

Determinação do índice de refração do meio de montagem obtido a partir do processamento da goma resinosa de cajueiro (MGRC)

O índice de refração (IR) foi determinado pelo Técnico Sebastião Camilo de Melo Filho, no Laboratório de Experimentação em Análise de Alimentos (LEAL) do Departamento de Nutrição - CCS/UFPE. Determinou-se o índice de refração do meio de montagem obtido a partir do processamento da goma resinosa de cajueiro acrescido de duas gotas de óleo mineral. As leituras foram realizadas em refratômetro Abbes (marca Analytik Jena), sendo o mesmo inicialmente ajustado com água destilada a um índice de refração conhecido (1,333). As amostras foram filtradas e a leitura foi realizada colocando-se duas gotas de cada amostra no prisma do aparelho. No decorrer de cada leitura o aparelho foi limpo com auxílio de álcool e algodão. As leituras foram realizadas a temperatura de 30 °C e os valores das mesmas foram corrigidos para uma temperatura padrão de 40 °C, de acordo com a fórmula:

$$R = R' + K (T' - T)$$

R = leitura a temperatura padrão

R' = leitura a temperatura ambiente

T = temperatura padrão (40 °C)

T' = temperatura ambiente na qual a leitura R' foi realizada (°C)

K = 0,0003650 para gorduras e 0,0003885 para óleos

Determinação da viscosidade do MGRC

A medida da viscosidade com a variação da temperatura, foi realizada através de viscosímetro digital MVD-20 (Marte Científica, Brasil) em temperatura ambiente de (25°C), em colaboração com pesquisadores do Laboratório de Enzimologia do departamento de Bioquímica – CB/UFPE, de acordo com a metodologia de Becker et al. (2001). A quantidade de amostra foi de aproximadamente 3 g para cada análise com umidade corrigida para 14% e foi acrescida água destilada até completar 28 g. A variação de temperatura iniciou em 25°C com aumento gradual até 95 °C, permaneceu constante por 3 minutos e foi resfriada gradualmente até 25°C.

Animais utilizados no estudo

Ratos adultos (04 machos e 04 fêmeas), pesando aproximadamente 270 gramas, albinos da linhagem Wistar, procedentes do Biotério de Criação José Paulino Ventura Ramos do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da UFPE foram utilizados e cuidados de acordo com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guid for Care and Use of Laboratory Animals, sendo adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) do Centro de Biociências da UFPE. Os animais foram anestesiados com Cloridrato de Cetamina (50 mg/Kg) associado ao Cloridrato de Xilazina (5 mg/Kg), via intraperitoneal. Após constatação de arreflexia profunda, os animais foram submetidos à laparotomia mediana para retirada de determinados órgãos. Este estudo foi aprovado pelo Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco (n°. do registro: 108/2021).

Processamento histológico e finalização com o MGRC

Os órgãos (testículo, epidídimo, colo de útero, coração, rim, fígado, pavilhão auricular e osso) foram colocados em fixador por 24 horas (formol tamponado a 10%) e processados segundo metodologia de Paz (2017), no Laboratório de Histotecnologia do Programa de Pós-graduação em Saúde Translacional do Centro de Ciências Médicas da UFPE - Recife/PE, Brasil. As montagens das preparações permanentes foram realizadas com o uso de cola comercial e com o meio de montagem obtido a partir do processamento da goma resinosa de cajueiro (Figura 2). Fotomicrografias foram obtidas com o auxílio de microscópio DM500 com câmera acoplada ICC50 W (ambos da marca Leica®).

Figura 2: Preparações histológicas montadas com meio da goma resinosa de cajueiro (MGRC).



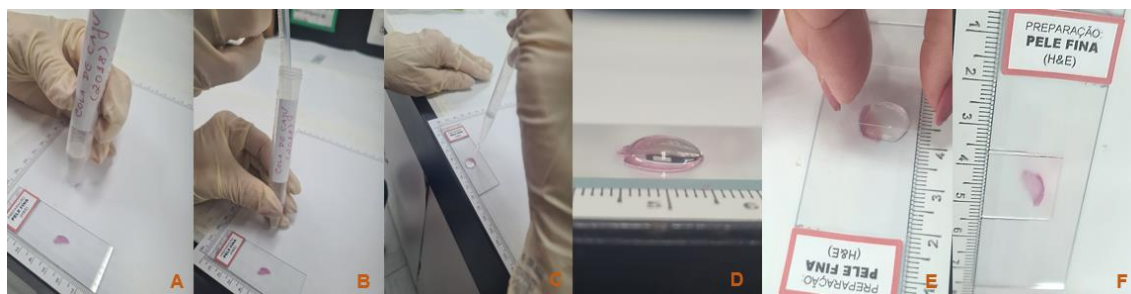
Fonte: Autores (2022).

3. Resultados e Discussão

Montagem de preparação histológica com o MGRC

O meio polimérico extraído da goma resinosa de cajueiro (MGRC) foi utilizado, pela primeira vez neste trabalho, na montagem de preparações histológicas processadas de acordo com o método de Paz (2017). O processamento da goma resinosa de cajueiro foi considerado de fácil reprodutibilidade, sendo de baixo custo e não produziu resíduos. O MGRC apresentou-se translúcido e foi depositado na forma de gotícula sobre os cortes de tecido animal, sendo cobertos por lamínulas que se mantiveram firmemente aderidas devido ao rápido endurecimento do meio utilizado (Figura 3).

Figura 3: Procedimento de montagem de preparação histológica com meio polimérico extraído da goma resinosa de cajueiro (MGRC)



Fonte: Autores (2022).

Gomas polissacarídicas têm se destacado em função de suas diversas aplicabilidades como agentes ligantes e de suspensão, materiais formadores de filme, inibidores de cristalização, agentes espessantes dentre muitas outras e essas aplicações estão relacionadas não somente às suas propriedades reológicas, mas também com referência a disponibilidade e custo, promovendo a geração de produtos potenciais para diferentes indústrias como química, alimentícia e de medicamentos (Licá et al., 2018).

Este polissacarídeo possui algumas características de interesse para uso biotecnológico, especialmente por não apresentar toxicidade e ser hidrofílico, biocompatível e biodegradável, revelando propriedades semelhantes à goma arábica em relação ao peso molecular, teor de ácido urônico e mesmo tipo de unidades monossacarídicas (Paula et al., 2011). Logo, o desenvolvimento de novos bioprodutos a base de polissacarídeos do cajueiro pode ser uma alternativa para agregar valor à cajucultura, visto ser um produto à base de matéria prima regional com baixo custo-benefício (Silva et al., 2013).

No contexto atual, os meios de montagem sintéticos (artificiais), ainda fazem parte da rotina dos Laboratórios de Histotécnica, como Permont[®], Entellan[®] e Eurapal[®] que são substâncias dissolvidas em xileno, benzeno e tolueno (Michalany, 1998). A toxicidade desses meios se deve principalmente a volatilização dos solventes, podendo ser inalados durante a obtenção das preparações histológicas e capazes de causar danos irreversíveis à saúde do histotecnologista devido a exposição contínua (Kum et al., 2007; Sandikci et al., 2009). Logo, o interesse pela utilização de colas naturais tem crescido no mundo inteiro como possíveis substitutos de resinas sintéticas (Enríquez, 2001).

Determinação do índice de refração do MGRC

O índice de refração (IR) do meio de montagem obtido a partir da goma resinosa de cajueiro (MGRC) foi de 1,343 e apesar de não ser similar ao do Entellan[®] (1,490-1,500), não interferiu na resolução das imagens com o microscópio utilizado. A forma de processamento dos tecidos, com uso de xileno na técnica histológica de rotina e principalmente sem o uso desse solvente (Paz, 2017), influenciou na qualidade da finalização das preparações obtidas. Foi também determinado o IR da água obtendo-se o valor de 1,333 e do óleo mineral de 1,460 (Tabela 1).

Tabela 1: Análise de índice de refração das amostras avaliadas no estudo: água, óleo e meio de goma resinosa de cajueiro (MGRC).

AMOSTRAS	ÍNDICE DE REFRAÇÃO
Água	1,333
Óleo mineral	1,460
MGRC	1,343

Fonte: Autores (2022).

Numa concepção geral, qualquer tampão aquoso pode servir como meio de montagem. Todavia, o índice de refração (IR) da água (1,333) difere significativamente da lâmina de vidro e lamínula (1,510), líquidos de imersão em óleo (1,510) e da própria secção de tecido (1,380-1,460) (Ravikumar et al., 2014). Logo, a utilização de água como meio de montagem pode resultar em incompatibilidade dos IRs, ocasionando o alargamento do ponto focal ou aberração esférica, o que pode causar degradação da resolução e modificar o brilho da amostra (Renshaw, 2007). É por isso que combinar o RI do seu meio de montagem com o RI dos componentes de vidro e líquido de imersão (quando usado) otimizará a clareza, a resolução e o brilho das imagens (Diaspro et al., 2002; Renshaw, 2007).

Muitos meios de montagem à base de água usam glicerol como o principal componente, devido ao IR do glicerol (1,470) ser próximo o suficiente do vidro para permitir imagens de alta qualidade, enquanto o filme final seco de um meio de montagem à base de solvente geralmente terá um IR de 1,450 a 1,490, que possibilita imagens de alta qualidade (Ravikumar et al., 2014).

Determinação da viscosidade rotacional dinâmica

As medidas de viscosidade aparente foram realizadas com registro de dados comuns de temperatura (°C), rotação (90 rpm) e dados variáveis de torque (%) utilizando *spindle* de aço inox (n°. 4). A viscosidade (mPas) das soluções obtidas a partir do processamento da goma resinosa de cajueiro com e sem óleo mineral foram determinadas utilizando o viscosímetro digital (Marte, MVD-20) em temperatura ambiente de 25°C. Os resultados da viscosidade foram expressos em mPas.s e os valores obtidos e dados de torque foram descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Análise de viscosidade rotacional das amostras de biopolímero de cajueiro, n= 3 para cada amostra, a 25 °C e 90 rpm. Os dados apresentados na forma dos valores (mínimo e máximo) e média ± desvio padrão.

AMOSTRAS	TORQUE (%)		VISCOSIDADE (mPas.s)		
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Média ± DP
Meio obtido da resina de <i>A. occidentale</i> L. sem óleo mineral	13,0	23,0	923,0	1.588,0	1.143,7 ± 267,4
Meio obtido da resina de <i>A. occidentale</i> L. com óleo mineral	12,7	15,0	821,6	1.015,2	939,9 ± 103,7

Fonte: Autores (2022).

A goma de caju com óleo mineral apresentou baixa viscosidade, comparável em muitos aspectos à goma arábica (Maciel et al., 2007). O meio de montagem obtido da resina de cajueiro apresentou viscosidade máxima de aproximadamente 1.015,2 (com óleo mineral) e 1,588 (sem óleo mineral). Alguns estudos referem viscosidades absolutas de soluções de 1% dessas gomas de 1,0 mPa.s (goma de caju) e de 1,8 mPa.s (goma arábica) (Paula; Rodrigues, 1995).

Valores de tensão mais altos relatados para emulsões de goma arábica (GA) reforçam a consistência desta goma em relação às emulsões de goma de cajueiro (GC). GA é um emulsificante amplamente utilizado devido à sua alta solubilidade em água, baixa viscosidade aparente mesmo em altas concentrações, com capacidade de criar uma forte película protetora na interface óleo-água (Jafari et al, 2008). A GC, também tem sido alvo em potencial para a indústria alimentícia, pois possui boas propriedades emulsificantes e menor viscosidade aparente que o GA nas mesmas concentrações.

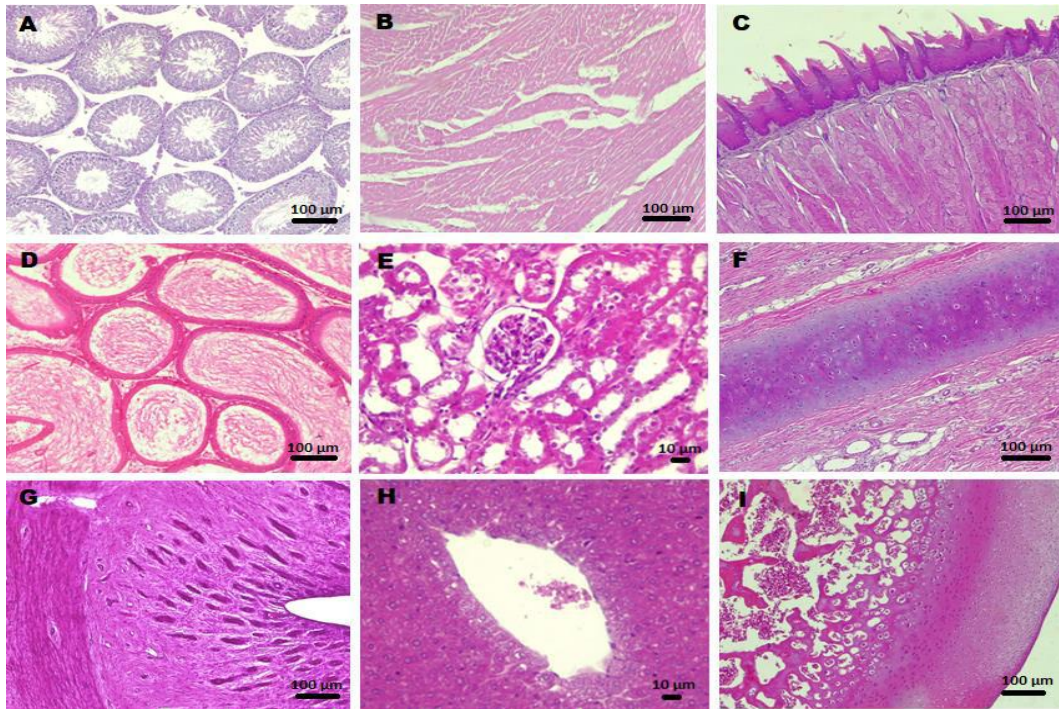
Um fluido viscoso é espesso e pegajoso, como cola, resiste a tentativas de o fazer fluir (Villetti, 2010). A viscosidade é a quantidade de resistência ao fluxo e configura-se numa medida de esforço que se têm ao tentar dividir o fluido, ultrapassar a fricção entre camadas e moléculas (Villetti, 2010; Zortéa et al., 2011).

Avaliação morfológicas de preparações histológicas montadas com meio obtido a partir do processamento da goma resinosa de cajueiro e com meio comercial

Cortes histológicos de diferentes órgãos (testículo, epidídimo, colo de útero, coração, rim, fígado, pavilhão auricular e osso) foram avaliados quanto ao procedimento de montagem, tendo-se utilizado meio comercial (Entellan®) e meio obtido a partir da goma resinosa de cajueiro (MGRC). As preparações montadas com MGRC (Figura 4) apresentaram-se com imagens nítidas e morfologia das estruturas conservadas, no mesmo padrão daquelas processadas e montadas com o meio comercial (Figura 5).

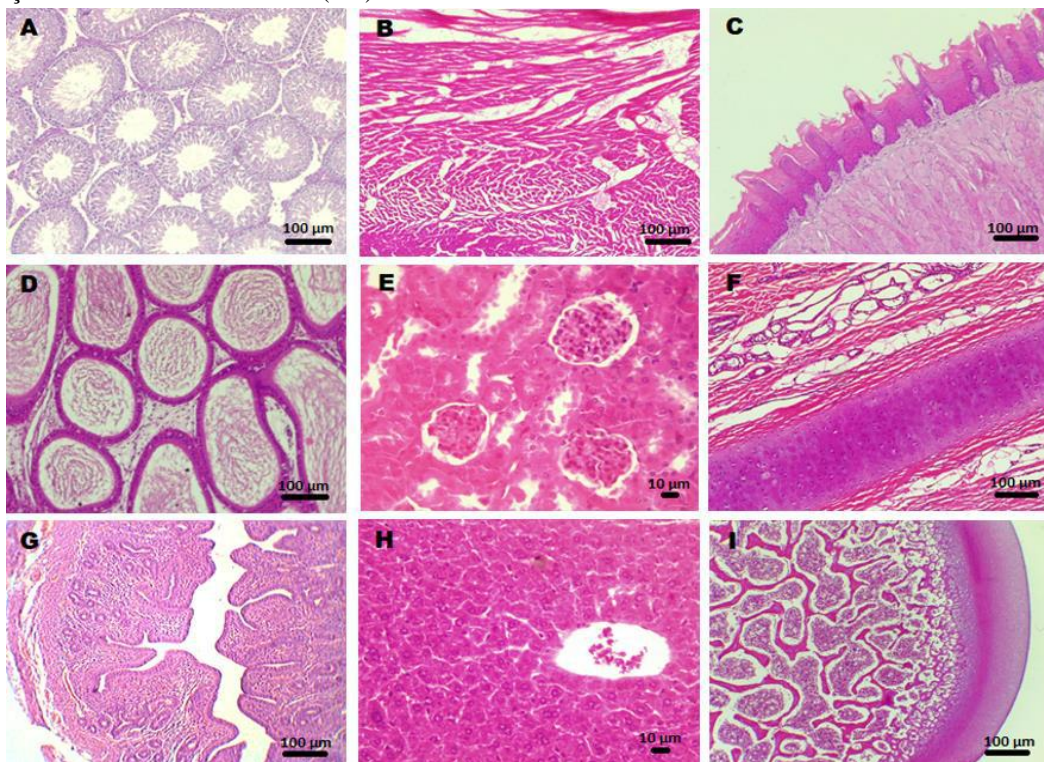
Aparentemente, foi percebido uma melhor qualidade de imagens das preparações histológicas montadas com o MGRC em comparação àquelas montadas com Entellan® e isto se refletiu particularmente, em função do processamento do material; uma vez que, as preparações montadas com MGRC (“cola natural”) foram obtidas a partir de um método inovador sem uso de xilol (Paz, 2017).

Figura 4: Preparações histológicas montadas com meio obtido a partir do processamento da goma resinosa de cajueiro (MGRC). Cortes histológicos de diferentes órgãos de ratos Wistar: A) testículo, B) coração, C) língua, D) epidídimo, E) rim, F) pavilhão auricular, G) colo de útero, H) Fígado e I) osso. Escala de barra = 100 μ m (testículo, coração, língua, epidídimo, pavilhão auricular, colo de útero e osso) e 10 μ m (rim e fígado). Coloração: Hematoxilina & Eosina (HE).



Fonte: Autores (2022).

Figura 5: Preparações histológicas montadas com meio comercial (Entellan®). Cortes histológicos de diferentes órgãos de ratos Wistar: A) testículo, B) coração, C) língua, D) epidídimo, E) rim, F) pavilhão auricular, G) colo de útero, H) Fígado e I) osso. Escala de barra = 100 μ m (testículo, coração, língua, epidídimo, pavilhão auricular, colo de útero e osso) e 10 μ m (rim e fígado). Coloração: Hematoxilina & Eosina (HE).



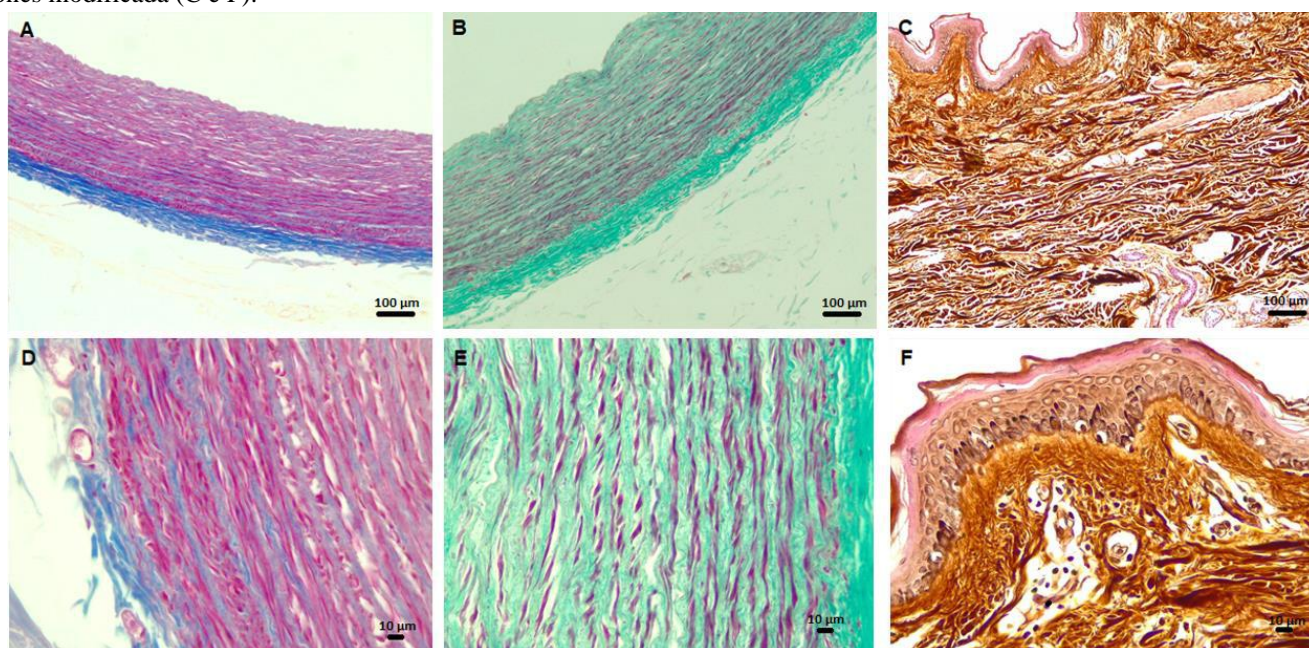
Fonte: Autores (2022).

As preparações histológicas montadas com MGRC têm apresentado considerável durabilidade desde o período em que foram confeccionadas coincidindo com a coleta de material (2018 a 2019), mantendo-se até o momento com nitidez e colorações conservadas. Graças à viscosidade mais elevada do MGRC com óleo mineral ($939,9 \pm 103,7$ mPa.s) comparada a do Entellan® (250 - 600 mPa.s, a 20°C, dados do fabricante), as lamínulas se tornaram fixas rapidamente (de 10 a 15 minutos de secagem) em temperatura ambiente, garantindo desta forma a higidez das preparações obtidas ao longo do tempo.

Embora as resinas sintéticas ainda sejam utilizadas como Eurapal®, Entellan® e Permout® (Kraus; Arduin, 1997), estas possuem em sua composição o denominado de 1,2 dimetil-benzeno, metil tolueno ou xilol, como é mais conhecido, especialmente por sua toxicidade. No contexto atual, as colas naturais têm despontado como uma promissora alternativa às colas sintéticas (derivadas do petróleo) por apresentarem vantagens em termos ambientais e com relação à saúde do histotecnologista (Ramamoorth et al., 2016).

Preparações histológicas com colorações especiais (trícromico de Masson, tricrômico de Gomori e impregnação argêntica), também, foram avaliadas quanto a montagem utilizando-se o MGRC (Figura 6) e mais uma vez, os resultados foram satisfatórios, especialmente em função da nitidez, integridade da coloração e conservação das estruturas, aspectos necessários ao estudo morfológico; devendo-se ter em consideração que a neutralidade de um meio é bastante relevante quando se usa corantes básicos de anilina ou metacromáticos (Michalany, 1988; Bancroft; Gamble, 2002).

Figura 6: Preparações histológicas montadas com meio obtido a partir do processamento da goma resinosa de cajueiro (MGRC). Cortes histológicos de diferentes órgãos de ratos Wistar: aorta (A, B, D e E) e pele (C e F). Escala de barra = 100 µm (A, B e C) e 10 µm (D, E e F). Colorações especiais: tricrômico de Masson (A e D), tricrômico de Gomori (B e E) e prata de Jones modificada (C e F).



Fonte: Autores (2022).

4. Conclusão

O meio polimérico extraído da goma resinosa de cajueiro (MGRC) utilizado, pela primeira vez, na montagem de preparações histológicas, revelou-se de forma satisfatória como uma alternativa aos meios de montagem comerciais, proporcionando nítida visualização das estruturas dos diferentes órgãos avaliados independente das colorações usadas, sendo economicamente viável e gerando benefícios como biossegurança pessoal por ser atóxico, além de não prejudicar o meio ambiente.

Agradecimentos

Os autores agradecem em especial ao Técnico Especializado, Sebastião Camilo de Melo Filho, pelo auxílio na determinação dos índices de refração realizado no Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Assim como, aos Coordenadores da Pós-graduação em Saúde Translacional do Centro de Ciências Médicas da UFPE, pela disponibilização do Laboratório de Histotécnica e do Programa de Doutorado em Biotecnologia - Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), representado em Recife/Pernambuco - Brasil, pelo Coordenador Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes do Departamento de Antibióticos do Centro de Biociências da UFPE, por todo incentivo e apoio na realização deste estudo.

Referências

- Aguiar, M. J. N., Sousa Neto, N. C., Braga, C. C., Brito, J. I. B., Silva, E. D. V., Silva, F. B. R., Burgos, N., Varejão-Silva, M. A., & Costa, C. A. R. (2000). Zoneamento pedoclimático para a cultura do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) no Nordeste do Brasil e Norte de Minas Gerais. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical/Recife: Embrapa-CNPS-ERP-NE.
- Araújo, S., Sousa, I. J. O., Gonçalves, R. L. G., França, A. R. S., Negreiros, O. S., Brito, A. K. S., Oliveira, A. P., & Lima, E. B. S. (2018). Aplicações farmacológicas e tecnológicas da goma do cajueiro (*Anacardium Occidentale* L.) - um produto obtido da flora brasileira. *Geintec*, 8(1), 4292-4305.
- Assunção, R. B., & Mercadante, A. Z. (2000). Caju *in natura* (*Anacardium occidentale* L.) - carotenóides e vitamina C. In: XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2000, Fortaleza, Ceará. Resumos Fortaleza: SBCTA, 2(5), 101.
- Azeez, O. S. (2005). Decolourization of Gum Arabic Using Activated Charcoal. *Leonardo Journal of Sciences*, 4(7), 23-32.
- Bancroft, J. D., & Gamble, M (2002). Theory and Practice of Histological Techniques. 5a. edition. *Churchill Livingstone Publication*, 63-108.
- Becker, A., Hill, S. E., & Mitchell, J. R. (2001). Milling - A further parameter affecting the Rapid Visco Analyser (RVA) Profile. *Cereal Chemistry*, 78(2), 166-172.
- Carneiro-da-Cunha, M. G., Cerqueira, M. A., Souza, B. W. S., & Souza, M. P. (2009). Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Journal of Food Engineering*, 95, 379-385.
- Catarino, L., Yusuf, M., & Yusuf, S. R. (2015). Cashew cultivation in Guinea-Bissau – risks and challenges of the success of a cash crop. *Scientia Agricola*, 72 (5), 459-457.
- Cordeiro, M. S. F., Da Silva, C. M. B., Vieira, A. C. Q. D. M., Nadvorny, D., De Sá, L. L. F., De Souza, F. R. L., & Ribeiro, A. J (2017). Biopolymers and pilocarpine interaction study for use in drug delivery systems (DDS). *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 127(2), 1777-1785.
- Culling, C. F., Allison, R. T., & Barr, W. T. (1985). Staining procedure. *Handbook of Cellular Pathology Techniques*. 4th ed. Saint Louis, Missouri, U.S.A.: Butterworth-Heinemann, 146-151.
- Cunha e Silva, M. C., Silva, R. A. O., Marques, L. G. A., Freitas, R. M., Santos, M. S. F, Silva Filho, E. C., & Santos, M. R. M. C. (2013). Aplicação da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) em nanotecnologia. *Anais SIMTEC*, 1(1), 567-580.
- Dias, S. F, Nogueira, S. S, de França Dourado, F., Guimarães, M. A, de Oliveira Pitombeira, N. A, Gobbo, G. G, Primo, F. L, de Paula, R. C, Feitosa, J. P, Tedesco, A. C, Nunes, L. C, Leite, J. R & da Silva, D. A (2016). Acetylated cashew gum-based nanoparticles for transdermal delivery of diclofenac diethyl amine. *Carbohydrate Polymers*, 143:254-261.
- Diaspro, A, Federic, I. F., & Robello, M (2002). Influence of refractive-index mismatch in high-resolution three-dimensional confocal microscopy. *Applied Optics*, v. 41(4), 685-690.
- Enríquez, G. V. (2001). A trajetória de tecnologia dos produtos naturais biotecnológicos derivados na Amazônia. Belém: 2001. 168 ISBN 85-88307-01-3.
- Ferreira, D, Vale, J, Curado, M, Polónia, A & Eloy, C (2022). The impact of different coverslipping methods in the quality of the whole slide images used for diagnosis in pathology, *Journal of Pathology Informatics*, 13, 100098.
- Jafari, S. M, Assadpoor, E, He, Y & B (2008) Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. *Drying Technology*, 26(7), 816-835.
- Kraus, J. E., & Arduin, M (1997). Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica: EDUR, 198 p.
- Kum, C, Kiral, F, Sekkin, S, Seyrek, K & Boyacioglu, M (2007). Effects of xylene and formaldehyde inhalations on oxidative stress in adult and developing rats livers. *Experimental animals*, 56(1), 35-42.
- Kumar, A, Moon, A, Shruthi, R, Ahmed, A & Shivakumar, H. G (2012). Cashew gum a versatile hydrophilic polymer, a Review. *Current Drug Therapy*, 7(1), 2-12.
- Licá, I. C. L., dos Santos Soares, A. M., de Mesquita, L. S. S., & Malik, S. (2018). Biological properties and pharmacological potential of plant exudates. *Food Research International*, 105, 1039-1053.

- Maciel, J. S., Kosaka, P. M., Silva, DA, Paula, R. C. M., Feitosa, J. P. A., & Petri, D. F. S. (2007). Formation of Cashew Gum Thin Films onto Silicon Wafers or Amino-Terminated Surfaces and the Immobilization of Concanavalin A on Them. *Carbohydrate Polymers*, 69(3), 522-529.
- Maia, J. G. S., Andrade, E. H. A., & Zoghbi, M. G. B. (2000). Volatile constituents of the leaves, fruits and flowers of cashew (*Anacardium occidentale* L.). *Journal of food composition and analysis*, 13, 227-232.
- Maia, G. A., Monteiro, J. C. S., & Guimarães, A. C. L. (2001). Estudo da estabilidade físico-química e química do suco de caju com alto teor de polpa. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 21 (1), 43-46.
- MDCI - Ministério da Economia, Indústria, Comércio Exterior e Serviços. [Base de dados - Internet]. Estatísticas de Comércio Exterior: Séries Históricas. 2019. <http://www.mdic.gov.br/index.php/comercio-exterior/estatisticas-de-comercio-exterior/series-historicas>.
- Michalany, J (1988). Operações fundamentais da técnica histológica. In: Técnica Histológica em Anatomia Patológica. São Paulo: Editora Michalany LTDA, cap. II, p. 24-31.
- Mirhosseini, H., & Amid, B. T (2012). Influence of chemical extraction conditions on the physicochemical and functional properties of polysaccharide gum from durian (*Durio zibethinus*) seed. *Molecules*, 17, 6465-6480.
- Moura, C. F. H., Alves, R. E., Innecco, R., & et al (2001). Physical characteristics of cashew apples for fresh fruit market. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23 (3), 537-540.
- Ono, M, Murakami, T, Kudo, A, Isshiki, M, Sawada, H & Segawa, A (2001). Quantitative Comparison of Anti-Fading Mounting Media for Confocal Laser Scanning Microscopy. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 49 (3), 305-312.
- Paula, RCM. & Rodrigues, JF (1995). Composition and rheological properties of cashew tree gum, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Carbohydrate polymers*, 26, 177-181.
- Paula, H. C, Sombra, F. M, de Freitas C. R., Abreu, F. O, de Paula, R. C (2011). Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with Lippia sidoides essential oil. *Materials Science and Engineering C*, 31 (2), p. 173-178.
- Paz, S. T. (2017). Metodologia inovadora sem uso do xilol para a técnica histológica de rotina. 2017, 68 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Patologia) - Programa de Pós-Graduação em Patologia, do Departamento de Patologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE.
- Ramamoorth, A, Ravi, S, Jeddy, N, Thagavelu, R & Janardhanan, S (2016). Natural alternatives for chemicals used in histopathology Lab-A Literature Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(11), EE01-EE04.
- Ravikumar, S, Surekha, R & Thavarajah, R (2014). Mounting media: An overview. *Journal Dr. NTR University of Health sciences*, 3(5), 1-8.
- Renshaw, S (2007). Immunochemical staining techniques. *Immunocytochemistry: methods Express. Bloxham: Scion Publishers*, 46-95.
- Ribeiro, A. J, de Souza, F. R. L., Bezerra, J. M. N. A., Oliveira, C., Nadvorny, D., de La Roca Soares, M. F., Nunes, L. C. C., Silva-Filho, E. C., Veiga, F & Soares Sobrinho, J. L (2016). Gums' based delivery systems: Review on cashew gum and its derivatives. *Carbohydr Polym*, 20,147: 188-200.
- Lopes, L, Milas, M & Rinaudo, M. (1994). Influence of the method of purification on some solution properties of welan gum. *Int J Biol Macromol.*, 16(5): 253-258.
- Rodrigues, J. F., De Paula, R. C. M & Costa, S. M. O (1993). Métodos de isolamento de gomas naturais: comparação através da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, São Carlos, ano III, 1, 31- 36.
- Sancho, S. O, Maia, G. A, Figueiredo, R. W, Rodrigues, S., & De Sousa, P. H. M. (2007). Alterações químicas e físico-químicas no processamento de suco de caju (*Anacardium occidentale* L.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(4), 878-882.
- Sandikci, M, Seyrek, K, Aksit, H & Kose, H (2009). Inhalation of formaldehyde and xylene induces apoptotic cell death in the lung tissue. *Toxicological and Industrial Health*, 25(7), 455-61.
- Santos-Serejo, J. Á., & et al (2009). *FruticulturaTropical -Espécies Nativas e Exóticas*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 509 p.
- Silva, R. A. O., Marques, L. G. A., de Freitas, R. M., dos Santos, M. S. F., Silva Filho, E. A., do Ó Pessoa, C., & Santos, M. R. M. C. (2013). Prospecção tecnológica: aplicação da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale*) em nanotecnologia. *Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias*, 3(4), 55-69.
- Valexport (2003). Associação dos produtores e exportadores de hortifrutigranjeiros do Vale do São Francisco. Petrolina, PE, 16.
- Villetti, M. A. (2010). Determinação do Coeficiente de viscosidade pelo Viscosímetro de Oswald. Documento eletrônico disponível em <<http://w3.ufsm.br/juca/viscosidade.pdf>>.
- Zortéa, M. E. B., Demiate, I. M., Praxedes, M. A., & Wosiacki, G (2011). Avaliação da viscosidade aparente de pastas de amidos nos viscosímetros Brookfield RVDV-II+ PRO e rápido visco-analisador RVA-4. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 5(1).