Rev. Cienc. Tecnol.
Año 14 / Nº 18 / 2012 / 28–32

Caracterización del Aceite de Salvado de Arroz

Refined Rice Bran Oil Characterization

Caracterização do Óleo de Farelo de Arroz Refinado

Mariângela H. Bruscatto; Vanessa R. Pestana-Bauer; Josiane K. Rutz; Rui C. Zambiazi

Resumen

El objetivo de este estudio fue caracterizar al aceite de salvado de arroz refinado quimicamente y físicamente. Los aceites de salvado de arroz (Oryza sativa) fueron cedidos por las industrias Irgovel de aceites vegetales (Pelotas/RS/Brasil), y Helmut Tessmann (Camaquã/RS/Brasil). El contenido de acidez para el aceite refinado químicamente y físicamente fue del 0,3% (ácido oleico). El valor encontrado para el peróxido de aceite refinado químicamente y físicamente, respectivamente, fueron de 2,07 meq-g.Kg^{-1} y 1,72 meq-g.Kg^{-1}. El aceite refinado químicamente tuvo un contenido de 43,52 mg.100 g^{-1} de tocoferoles totales. Sin embargo, el aceite refinado físicamente presentó un valor de 35,60 mg.100 g^{-1}. El contenido de γ – orizanol en el aceite del salvado de arroz químicamente refinado fue de 33,55 mg.100 g^{-1} y de 732,60 mg.100 g^{-1} para el aceite refinado físicamente, constatando que la etapa de neutralización parece afectar el contenido de γ -orizanol.
Palabras clave: aceite de salvado de arroz, refinación química, refinación física, caracterización, tocoferoles, y-orizanol

Palabras clave: aceite de salvado de arroz, refinación química, refinación física, caracterización, tocoferoles, y-orizanol.

Abstract

The aim of this study was to characterize chemically and physically refined rice bran oil. The samples of the rice (Oryza sativa) bran oil were provided by Irgovel industry (Pelotas/RS/Brasil) and Helmut Tessmann industry (Camaquã/RS/Brasil). The acidity content of the chemically and physically refined rice bran oil was 0.3% (oleic acid). The peroxide value for chemically and physically refined rice bran oil was 2.07 meq g. Kg^{-1} and 1.72 meq g.Kg^{-1}, respectively. The chemically refined oil showed a content of 43.52 mg. 100 g^{-1} of tocopherols, and the physically refined rice bran oil was 35.60 mg.100 g^{-1}. The γ - oryzanol content was 33.55 mg.100 g^{-1} and 732.60 mg.100 g^{-1} for the chemically and physically refined rice oils, respectively. Therefore, the neutralization step affects the content of γ -oryzanol.

Key words: rice bran oil, chemically refined, physically refined, characterization, tocopherols, γ-oryzanol.

Resumo

O objetivo deste estudo foi caracterizar o óleo do farelo de arroz refinado quimicamente e fisicamente. O óleo de arroz (Oryza sativa) refinado quimicamente foi obtido da Irgovel (Pelotas/RS,/Brasil), e o óleo refinado fisicamente foi obtido da indústria Helmut Tessmann (Camaquã/RS/Brasil), indústrias processadoras de óleos vegetais. O conteúdo de acidez para o óleo refinado quimicamente e fisicamente foi de 0,3% (ácido oléico). Os valores de índice de peróxidos encontrados para o óleo refinado quimicamente e o óleo refinado fisicamente foram respectivamente de 2,07 meq-g.Kg^{-1} e de 1,72 meq-g.Kg^{-1}. O óleo refinado quimicamente apresentou um conteúdo de 43,52 mg.100g^{-1}, de tocoferóis totais, enquanto que o óleo refinado fisicamente apresentou um conteúdo de 35,60 mg.100g^{-1}. O conteúdo do γ - orizanol no óleo de arroz refinado quimicamente foi de 33,55 mg.100g^{-1} e de 732,60 mg.100g^{-1} para o óleo refinado fisicamente, constatando que a etapa de neutralização parece afetar o conteúdo de γ-orizanol.

Palavras chaves: óleo de farelo de arroz, refino químico, refino físico, caracterização, tocoferóis e Y-orizanóis.

Introdução

O óleo de farelo de arroz é extensivamente consumido como óleo comestível em vários países da Ásia, assim como Japão, China, Korea, Índia, Taiwan, Tailândia e Paquistão. A Índia e a Tailândia são os principais produtores de óleo de arroz, que juntos somam mais de 225.000 toneladas métricas de óleo por ano [1].

A utilização deste óleo tem aumentado consideravelmente nos países do ocidente, devido, em parte, ao seu suposto potencial nutracêutico, cujos componentes mais importantes incluem os tocoferóis, tocotrienóis e a fração de γ -orizanol [2].

Vários estudos realizados em animais e humanos têm demonstrado que a ingestão de ácidos graxos saturados elevam o colesterol total, em particular as lipoproteínas de baixa densidade (LDL), enquanto que os ácidos graxos insaturados reduzem o LDL [3]. O óleo de arroz tem atraído muita atenção devido a uma adequada proporção de ácidos graxos saturados e insaturados e pelo elevado nível de compostos bioativos [1]. Este óleo possui propriedades de reduzir os níveis de colesterol sangüíneo, reduzir o nível de agregação de placas nas artérias, além de apresentar ação anti - carcinogênica [1, 2, 4].

No Brasil, principalmente no sul do país, é comum o emprego de óleo de arroz para processos de frituras de alimentos. O óleo de arroz contém cerca de 19% de ácidos graxos saturados, 42% de ácido oléico, 36% de ácido linolêico e 1,8% de ácido linolênico [5].

O processo de extração do óleo do farelo de arroz origina o óleo de arroz bruto, que possui compostos indesejáveis como os ácidos graxos livres, fosfatídeos, hidrocarbonetos, aldeídos e cetonas. Estes compostos interferem negativamente a estabilidade oxidativa e a qualidade final do óleo. Por isso, para transformá-lo em um produto estável, nutritivo e com sabor agradável, o óleo é submetido ao processo de refino.

O processo de refino dos óleos pode ser realizado pelo refino químico ou pelo refino físico. O refino químico inclui como etapas principais a degomagem, neutralização, branqueamento, deceramento e a desodorização [6]. O processo de refino físico contempla estas etapas, com exceção da etapa de neutralização. Na etapa de neutralização durante o refino químico, a soda cáustica é adicionada ao óleo e através da saponificação ocorre à remoção dos ácidos graxos livres, resíduos de metais e pigmentos. A borra formada é removida por centrifugação e o óleo neutro é conduzido para remoção de sabões residuais.

O óleo de arroz tem sido refinado industrialmente, mais comumente pelo processo químico; no entanto, este processo gera perdas consideráveis de óleo neutro, de 18 a 22% [7]. As perdas de óleo neutro na desacidificação química do óleo de arroz são consideravelmente maiores do que para outros óleos vegetais com conteúdos similares de ácidos graxos livres. Isto tem sido relacionado ao efeito sinergético das ceras com a fração de γ - orizanol.

Além das elevadas perdas de óleo neutro, o refino químico provoca uma grande produção de sabão e de resíduos que geram poluição ambiental [3]. Por isso, vários autores têm proposto a utilização do refino físico para óleos com altos níveis de ácidos graxos livres. O processo de refino físico utiliza vapor seco sob vácuo para remover os ácidos graxos livres, os quais são removidos por destilação. Estima-se uma perda de aproximadamente 80 a 90% de γ-orizanol pelo processo de refino químico, enquanto que no processo de refino físico esta perda seria inferior a 10%, porque o γ - orizanol não é destilado juntamente com os ácidos graxos livres [8]. No entanto, a desacidificação através do processo de refino físico não é tão eficaz quanto a do refino químico (alcalino), além de muitas vezes provocar o escurecimento do óleo [9, 10].

O objetivo deste estudo foi caracterizar os óleos de arroz refinado quimicamente e refinado fisicamente quanto ao perfil lipídico, conteúdo de tocoferóis e de orizanóis.

Materiais e métodos

O óleo de farelo de arroz (oryza sativa) refinado quimicamente foi cedido pela indústria processadora de óleo de arroz - Indústria Rio Grandense de Óleos vegetais Irgovel (Pelotas/RS/Brasil). O óleo de farelo arroz refinado fisicamente foi cedido pela indústria processadora de óleo de arroz - Helmut Tessmann (Camaquã/RS/Brasil).

O óleo refinado quimicamente estava acondicionado em bambona de plástico opaca com capacidade de 30 L, e o óleo refinado fisicamente estava acondicionado em galões plásticos opacos de 5 L. Ambos os óleos permaneceram em temperatura ambiente até o momento das análises.

Os reagentes e solventes utilizados no experimento foram de grau de pureza p.a e grau cromatográfico, adquiridos da Vetec, Synth e Sigma-Aldrich.

Análises físico-químicas

Determinou-se o teor de umidade dos óleos, segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz [11]; os resultados foram expressos em %. A determinação da acidez dos óleos foi realizada pela dissolução da amostra em solução de éter etílico:álcool etílico (2:1, v/v), e subsequente titulação com solução alcalina de hidróxido de sódio, segundo metodologia da AOCS [12]; os resultados foram expressos em % de ácido oléico. O índice de peróxido nos óleos foi determinado pelo método titulométrico, segundo metodologia descrita pela AOCS [12]; os resultados foram expressos em $meqgO_2.Kg^{-1}$ de amostra. Determinou-se o índice de refração nos óleos em refratômetro de ABBE, realizando a leitura a 40 ºC, seguindo metodologia da AOCS [13]. A determinação de matéria insaponificável foi realizada segundo metodologia descrita por Zambiazi [5]. O pH foi realizado no óleo à temperatura ambiente, com auxílio de um potenciômetro.

Determinação de Tocoferóis

A análise dos tocoferóis foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Chen e Bergman [14], com pequenas modificações. Pesou-se aproximadamente 0,25

mg de óleo de arroz, que foram diluídas com acetona até completar o volume de 5mL. Procedeu-se a centrifugação por 6 minutos a 9000 rpm (5443 FCR) em microcentrífuga (NT800 Nova Técnica), transferindo-se a fase orgânica para frasco com capacidade de 1,5 mL.

Injetou-se entre 10-20 µL de amostra no sistema de cromatografia líquida de alta eficiência-HPLC (SHIMADZU), constituído por um módulo de mistura dos solventes LC-10AT$_{VP}$, desgaseificador FCV-10AL$_{VP}$, bomba reodine DGU-14$_{A}$, sistema de controle SCL-10$^{A}_{VP}$, forno da coluna CTO-10AS$_{VP}$ e amostrador automático SIL-10AF. A separação foi realizada em uma coluna analítica de fase reversa, Shim-Pak CLC-ODS (3,9 cm x 150 mm x 4 µm), tendo como fase estacionária grupamentos octadesil. Utilizou-se o detector fluorescência com excitação de 290 nm e emissão a 330 nm. Os dados foram adquiridos e processados com uso do software Class-VP.

Utilizou-se como fase móvel inicial acetonitrila:metanol:isopropanol nas proporção 50:40:10 (v/v/v) por 10 minutos; alterando-se para acetonitrila:metanol:isopropanol (30:65:5, v/v/v) até atingir 12 minutos; e retornando para a fase móvel inicial até 15 minutos de análise. Utilizou-se fluxo constante de 1 mL min-1 .

Para realizar a identificação e quantificação dos tocoferóis, utilizou-se curvas de calibração com os padrões de α -, γ - e δ - tocoferol, através das equações correspondentes às respostas do detector em função da concentração dos padrões.

Determinação de γ - orizanol

A análise de γ - orizanol foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Chen e Bergman [14], com pequenas modificações. Pesou-se aproximadamente 0,50 mg de óleo, que foram diluídos com acetona até completar o volume de 5 mL. Procedeu-se a centrifugação por 6 minutos a 9000 rpm (5443 FCR) em microcentrífuga, transferindo-se a fase orgânica para frasco com capacidade de 1,5 mL. Injetou entre 20 - 40 µL de amostra no sistema de cromatografia líquida de alta eficiência HPLC (SHIMADZU) equipado com coluna de fase reversa, Shim-Pak CLC-ODS (3,9 cm x 150 mm x 4 um) e fase estacionária com grupamentos octadesil.

O sistema cromatográfico, fase móvel e fluxo, foram os mesmos utilizados na separação dos tocoferóis. Para a identificação dos picos utilizou-se o detector de UV/VIS a 325 nm.

A quantificação foi realizada a partir de uma curva padrão do γ – orizanol, que foi construída utilizando a soma total da área dos picos correspondentes aos compostos individuais presentes no padrão de γ - orizanol. Optou-se pela soma total dos picos pela falta de padrões individuais correspondentes a cada componente presente no γ -orizanol.

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada através da análise de variância (ANOVA), e comparação de médias pelo teste de Tukey, ambos ao nível de 5% de propabilidade, através do programa Statística 7.0 [15].

Resultados e discussão

Análises físico-químicas

Os resultados das análises físico-químicas referentes à avaliação da qualidade do óleo de arroz refinado quimicamente e refinado fisicamente estão expostos na Tabela 1.

Tabela 1. Características físico-químicas do óleo de arroz

Determinações	Óleo de arroz	
	ORQ	ORF
Acidez (% de ácido oléico)	0,19 b	1,10 a
Índice de refração	1,468 a	1,471 a
Índice de peróxido (meq-g.Kg^{-1})	2,07 a	1,72 a
Matéria Insaponificável (%)	2,47 a	2,62 a
pH	6,31 a	4,55 b
Umidade (%)	0,07 a	0,08 a
Tocoferóis totais (mg.100g^{-1})	43,52a	35,60 b
γ - Orizanóis totais (mg.100g^{-1})	33,55 b	732,60 a

Valores seguidos por letra iguais na mesma linha não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey (p<0,05); ORF - óleo refinado fisicamente; ORQ - óleo refinado quimicamente.

A acidez máxima permitida pela legislação brasileira ANVISA [16], para o óleo de arroz refinado fisicamente e refinado quimicamente é de 0,3%. Portanto, somente o óleo de arroz refinado quimicamente apresenta acidez de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira.

O tipo de processo utilizado no refino físico pode ter influenciado no elevado conteúdo de acidez, pois o óleo refinado quimicamente passa pela etapa de neutralização, onde os ácidos graxos livres são removidos pela adição de álcali, a qual não ocorre no processo de refino físico. Assim, observa-se menor eficiência na remoção de ácidos graxos livres pelo processo de refino físico, o qual utiliza apenas vapor seco sob vácuo para a remoção dos ácidos graxos livres, os quais são removidos por destilação a vapor.

Observou-se que o índice de refração do óleo de arroz refinado quimicamente (1,468) apresentou-se no limite superior dos valores estipulados pela legislação brasileira, que permite uma oscilação entre 1,465 a 1,468 ANVISA [16]. No entanto, os valores do índice de refração do óleo refinado fisicamente (1,471) apresenta-se acima dos valores estipulados pela legislação. Os valores superiores do índice de refração do óleo obtido pelo processo de refino físico podem ser atribuídos a um maior conteúdo de compostos presentes, pois no processo de refino químico ocorre a

etapa de neutralização, que além da remoção de ácidos graxos livres auxilia em uma maior remoção de compostos que não fazem parte da fração glicerídica.

O óleo de arroz refinado quimicamente e o óleo refinado fisicamente não apresentaram diferenças significativas quanto ao conteúdo de matéria insaponificável, estando dentro do estabelecido pela legislação brasileira, que estipula o conteúdo máximo de 5% no óleo de arroz ANVISA [16]. Pestana [6], relata resultados similares para o óleo de arroz refinado quimicamente (2.01%). De e Bhattacharyya [8], relatam valores de 4,8% de matéria insaponificável no óleo de arroz bruto. Mesmo não apresentando diferenças significativas, o óleo de arroz refinado fisicamente apresenta maior conteúdo de matéria insaponificável, o que condiz com o índice de refração superior.

Os valores de índice de peróxidos encontrados para o óleo refinado quimicamente e no óleo refinado fisicamente foram respectivamente de 2,07 meq-g.Kg^{-1} e de 1,72 meq-g.Kg^{-1}. Os óleos analisados apresentaram índices de peróxidos dentro do estipulado pela legislação brasileira ANVISA [16], onde o máximo permitido é de 10 meq-g. Kg^{-1}.

O valor do pH no óleo de arroz refinado quimicamente foi similar ao encontrado por Pestana [6], em óleo de arroz refinado quimicamente, que relata valores de 6,09. O valor do pH do óleo de arroz refinado fisicamente foi inferior ao valor do óleo de arroz refinado quimicamente, indicando ser um óleo mais ácido, o que é comprovado pelo seu maior teor de acidez, em função do maior conteúdo de ácidos graxos livres.

Verifica-se que não houve diferenças significativas no teor de umidade nos óleos, apresentando valores similares aos relatados por Pestana [6], que cita um teor de umidade de 0,08% para o óleo de arroz refinado quimicamente.

O óleo refinado quimicamente apresentou um conteúdo de 43,52 mg.$100g^{-1}$ de tocoferóis, enquanto que o óleo refinado fisicamente apresentou um conteúdo de 35,60 mg.$100g^{-1}$. Com isto observa-se que a etapa de neutralização parece não afetar a redução do teor de tocoferóis nos óleos.

O conteúdo do γ - orizanol no óleo de arroz refinado quimicamente foi de 33,55 mg.$100g^{-1}$, estando de acordo com o encontrado por Rogers *et al.* [17], os quais relatam um conteúdo de 10 a 80 mg.$100g^{-1}$, no óleo de arroz refinado quimicamente. No entanto, de acordo com Krishna *et al*. [4], o óleo de arroz refinado quimicamente apresentou um conteúdo de 190 a 200 mg.$100g^{-1}$ de γ - orizanol. Rodrigues, Meirelles e Onoyana [18] relatam conteúdos de γ - orizanol de 120 mg.$100g^{-1}$ no óleo de arroz refinado quimicamente, e Gopala, Khatoon e Babylatha [19] encontraram um conteúdo de 140 mg.$100g^{-1}$. No entanto, o conteúdo de γ - orizanol no óleo refinado fisicamente foi muito superior, de 732,60 mg.$100g^{-1}$. Estes resultados foram similares aos encontrados por Gopala Krishna, Khatoon e Babylatha [19], que citam conteúdos de 560 mg.$100g^{-1}$ e de 1390 mg.$100g^{-1}$ respectivamente, para óleos refinados fisicamente com médio e alto conteúdo de γ - orizanol. Estes dados reforçam estudos de Pestana [6], que relata perdas de até 95,9% de γ - orizanol na etapa de neutralização durante o refino químico do óleo de arroz.

Conclusão

Com isto, observou-se que a etapa de neutralização parece não afetar a redução do teor de tocoferóis nos óleos. No entanto, o conteúdo de Y - orizanol no óleo refinado fisicamente foi muito superior ao encontrado no óleo de arroz refinado quimicamente, sugerindo que o processo de refino químico, gera perdas consideráveis de óleo neutro e conseqüentemente perdas de Y-orizanol.

Referências bibliográficas

1. **Hoed, V.V.; Depaemelaere,G.; Ayala, J.V.; Santiwattana, P.; Verhé, R.; Greyt, W. D.,** Influence of chemical refining on the major and minor componentes of rice bran oil. Journal of American Oil Chemists' Society 83, nº4: p. 315-321. 2006.
2. **Balachandran, C; Mayamol, P.N. Thomas, S.; Sukumar, D.; Sundaresan, A.,** An ecofriendly approach to process rice bran for high quality rice bran oil using supercritical carbon dioxide for nutraceutical applications. Bioresource Technology 99: p.290 -2912. 2008.
3. **Wilson, T.A.; Nicolosi, R. J.; Woolfrey,B.; Kritchevsky, D.,** Rice bran oil and oryzanol reduce plasma lipid and lipoprotein cholesterol concentrations and aortic cholesterol éster accumulation to a greater extent than ferulic acid in hypercholesterolemic hamsters. Journal of Nutritional Biochemistry 3, nº 18: p.105 -112. 2007.
4. **Krishna, A.G.G.; Khatoon, S.; Shiela, P.M.; Sarmandal, C.V.; Indira, T.N.; Mishara, A.** Effect of refining of crude rice bran oil on the retention of oryzanol in the refined oil. Journal of American Oil Chemists' Society 78, nº 2: p. 127-131. 2001.
5. **Zambiazi, R.C.; Przybylski, R.; Zambiazi, M.W.; Mendonca, C.B.** Fatty acid composition of vegetable oils and fats. Boletim do CEPPA 25, nº 1: p.111-120. 2007.
6. **Pestana, V. R.** Avaliação da qualidade do óleo de arroz e do conteúdo de tocoferóis e orizanóis durante o processo de refino, Pelotas, RS. 74f. Dissertação (Mestrado em ciência e Tecnologia Agroindustrial), Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. 2007.
7. **Orthoefer, F.T.,** Rice bran oil: healthy lipid source. Food Technology 50: p. 62-64. 1996.
8. **De, B.K.; Bhattacharyya, D.K.,** Physical refining of rice bran oil in relation to degumming and dewaxing. Journal of American Oil Chemists' Society 75, nº 11: p. 1683-

1686. 1998.

9. **Krishna, A. G. G.; Hemakumar, K. H.; Khatoon, S.**, Study on the composition of rice bran oil and its higher free fatty acids value. Journal of American Oil Chemists' Society 83, nº 2: p. 117-120. 2006.
10. **Antoniassi, R.; Esteves, W.; Meirelles, A.J.A.**, Pretreatment of corn oil for physical refining. Journal of American Oil Chemists' Society 75, nº 10: p.1411-1415. 1998.
11. **INSTITUTO ADOLFO LUTZ**. Normas analíticas do Instituto Adolfo lutz: Método químico e físicos para análise de alimentos. v.1, São Paulo: O Instituto, p.245-263. 1985.
12. **AOCS**. American oil Chemists, Society. Official and tentative methods of the American Oils Chemists Society, Champaign, IL. 1992.
13. **AOCS**. American oil Chemists, Society. Official and tentative methods of the American Oils Chemists Society, Champaign, IL. 1993.
14. **Chen, M. H.; Bergman, C.J.**, A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and γ-oryzanol contents. Journal of Food Composition and Analysis 18: p.139-151. 2005.
15. **STATSOFT Inc.** Statistica for Windows. Versão 7.0. Tulsa, OK, 2004.
16. **ANVISA**. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais. Anexo 3. resolução nº. 482, de 23 de setembro de 1999. On line. Disponível na internet: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/482 99.htm> acesso em: 3 de junho de 2007..
17. **Rogers, E.J.; Rice, S.M.; Nicolosi, R.J.; Carpenter, D.R.; Mc Clelland, C. A.; Romanczyk, L.J.** Identification and quantit of γ-orizanol components and simultaneous assessment of tocols in rice bran oil. Journal of the American Oil Chemists Society, Champaign 70, nº 3: p.301-307. 1993.
18. **Rodrigues, C.E.C.; Onekama, M.M.; Meirelles, A.J.A.**, Optimization of the rice bran oil deacidification process by liquid-liquid extraction. Journal of Food Engineering, Brazil 73, nº 4: p. 370-378. 2005.
19. **Gopala, A.G.K. Khatoon, S.; Babylatha, R.** Frying performance of processed rice bran oils. Journal of Food Lipids, India12: p.1-11. 2004.

Recibido: 21/06/2012
Aprobado: 2/10/2012

- Mariângela H. Bruscatto[1]
  Doutoranda do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ciência e Tecnologia agroindustrial – Universidade Federal de Pelotas - UFPel, CEP 96010-900, Pelotas – RS Brasil. Email: marianhbruscatto@yahoo.com.br

- Vanessa R. Pestana-Bauer[2]
  Professora Instituto Federal Sul-rio-grandense Pelotas – RS Brasil. Email: vanessapestana@yahoo.com.br

- Josiane K. Rutz2
  Mestranda do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – UFPel. E-mail: josianekr@gmail.com

- Rui C. Zambiazi2
  Centro de Ciências Químicas e Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas – Campus Universitário Capão do Leão, Caixa. Postal 354, Pelotas/RS, 96010-900, Brasil. E:mail: zambiazi@gmail.com

1. U- Universidade Federal de Pelotas l, CEP 96010-900, Pelotas – RS Brasi;
2. Instituto Federal Sul-rio-grandense Pelotas