



**UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR**

BÁRBARA FERNANDES MELO

**PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,
ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO ÓLEO FIXO DOS FRUTOS DE
Persea americana Miller (Lauraceae) DO CARIRI CEARENSE.**

CRATO - CE

2017

BÁRBARA FERNANDES MELO

**PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,
ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO ÓLEO FIXO DOS FRUTOS DE
Persea americana Miller (Lauraceae) DO CARIRI CEARENSE.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA, como um dos requisitos parciais para a obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular.

Orientador:

Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa

Co – orientadora:

Prof.^a Dra. Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues

CRATO - CE

2017

PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO ÓLEO FIXO DOS FRUTOS DE *Persea americana* Miller (Lauraceae) DO CARIRI CEARENSE.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA, como um dos requisitos parciais para a obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja em conformidade com as normas da ética científica.

BANCA EXAMINADORA

Aprovada em _____ de julho de 2017

Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa (Orientador)

Departamento de Química Biológica – URCA

Prof^ª Dra. Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues (Co-Orientadora)

Centro Universitário Leão Sampaio – UNILEÃO

Prof. Dr. Raimundo Nonato Pereira Teixeira (Avaliador interno)

Departamento de Química Biológica – URCA

Prof. Dr. Aracélio Viana Colares (Avaliador externo)

Centro Universitário Leão Sampaio – UNILEÃO

Prof^ª. Dra. Adriana Rolim Campos Barros (Suplente 1)

Universidade de Fortaleza – UNIFOR

Prof^ª. Dra. Marta Regina Kerntopf (Suplente 2)

Departamento de Química Biológica – URCA

Dedico às mulheres de fibra e guerreiras que me incentivam e inspiram: minha mãe *Maria Gomes Fernandes* e a minha avó *Rita Gomes da Silva*.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por conceder-me saúde e disposição para enfrentar esta jornada;

Aos meus familiares, em especial a minha mãe Maria Gomes Fernandes, a minha avó, Rita Gomes da Silva e aos meus tios Antônio Gomes Fernandes, Izídio Gomes Fernandes e Agnaldo Gomes Fernandes, pelas palavras de carinho e incentivo e por estarem presentes quando precisei de ajuda;

Ao meu namorado Lute Rafael de Souza, pelo companheirismo, carinho, e apoio incondicional ao longo desses anos;

Aos companheiros de LPPN, Carla, Daiany, Janaine, Wégila, Sarah e Fábio, pelo acolhimento, aprendizado e em especial pelas brincadeiras, risadas e os cafés de fim de tarde, que fizeram desta, uma jornada mais amena.

Ao meu orientador, Prof. Dr José Galberto Martins da Costa pela oportunidade de realizar este trabalho, pelos ensinamentos e pelo incentivo à pesquisa;

A minha co – orientadora, Prof^a Dra. Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues pelos valiosos ensinamentos e por ter sido quem primeiro me incentivou e possibilitou o ingresso na carreira acadêmica.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular, pela contribuição para o meu crescimento acadêmico e profissional;

A todos os colegas do Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular, pelos momentos de descontração e aprendizado;

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, pelo suporte financeiro;

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	13
2.OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo geral.....	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1 Alimentos funcionais e nutracêuticos.....	16
3.2 Óleos vegetais como fontes de ácidos graxos.....	17
3.3 Biossíntese de ácidos graxos	18
3.4 Propriedades biológicas dos ácidos graxos.....	20
3.5 Abacate - <i>Persea americana</i> Miller (Lauraceae).....	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
4.1 Material vegetal.....	22
4.2 Métodos de extração do óleo de <i>Persea americana</i>	22
4.2.1 Extração com <i>Soxhlet</i>	22
4.2.2 Extração por prensagem.....	22
4.3 Métodos de análise químicos e físico – químicos.....	22
4.3.1 Determinação dos ácidos graxos	22
4.3.2 Análise por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de massas (CG/EM).....	23
4.3.3 Parâmetros físico – químicos	23
4.4 Ensaio antioxidantes.....	25
4.4.1 Captura do radical livre DPPH	25
4.4.2 Captura do radical livre ABTS ^{•+}	26
4.4.3 Método de redução do ferro (FRAP).....	26
4.4.4 Atividade quelante de íons Fe ²⁺	27
4.5 Testes microbiológicos.....	28
4.5.1 Preparo das soluções de teste.....	28
4.5.2 Bactérias.....	28
4.5.3 Preparo e padronização dos inóculos bacterianos.....	28
4.5.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	29
4.5.5 Avaliação da interferência sobre a resistência aos antibióticos	

(modulação).....	29
4.6 Análises dos dados.....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5.1 Extração do óleo de <i>Persea americana</i>	31
5.2 Composição em ácidos graxos de <i>Persea americana</i>	32
5.3 Parâmetros físico – químicos.....	34
5.4 Ensaio antioxidante.....	36
5.4.1 Captura do radical livre DPPH	36
5.4.2 Captura do radical livre ABTS · ⁺	39
5.4.3 Método de redução do ferro (FRAP).....	40
5.4.4 Atividade quelante de íons Fe ²⁺	42
5.5 Testes microbiológicos	44
5.5.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM)	44
5.5.2 Interferência sobre a resistência aos antibióticos (modulação).....	45
CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vias de síntese de ácidos graxos de cadeia longa.....	19
Figura 2. Cromatograma dos ácidos graxos de OAPS	33
Figura 3. Cromatograma dos ácidos graxos de OAPF.....	33
Figura 4 – Atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH para o OAPS.....	37
Figura 5 – Atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH para o OAPF.	37
Figura 6 – Atividade antioxidante pela capacidade quelante de íons ferro. Os valores são expressos como média ± S.E.M. (N = 3).** Diferença estatisticamente significativa para a mesma concentração de amostras diferentes (ANOVA e Tukey test - P <0,05). N.S - Valor estatístico não significativo, P > 0,05.....	42
Figura 7 – Efeito modulador do OAPS e OAPF contra <i>Staphylococcus aureus</i> com os antibióticos amicacina, gentamicina, benzilpenicilina e cefotaxina.....	46
Figura 8 – Efeito modulador do OAPS e OAPF contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i> com os antibióticos amicacina, gentamicina, benzilpenicilina e cefotaxina.	46

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Quadro 1: Composição química de alguns óleos vegetais em porcentagem de ácido graxo.....	18
Tabela 1 – Perfil de ácidos graxos identificados nos óleos fixos de <i>Persea americana</i>	32
Tabela 2 – Índices físico-químicos de OAPS e OAPF.....	35
Tabela 3 – Valores de EC ₅₀ para OAPS e OAPF pelo método de sequestro do radical livre DPPH.....	38
Tabela 4 – Valores de atividade antioxidante para OAPS e OAPF pelo método de sequestro do radical livre ABTS ^{•+}	39
Tabela 5 – Valores de atividade antioxidante para OAPS e OAPF pelo método redução do ferro (FRAP).....	41
Tabela 6 – Valores da CIM (µg/mL) de OAPS e OAPF frente a microrganismos padrões.....	44

LISTA DE ABEVIATURA SIGLAS E SIMBOLOS

AA- Atividade antioxidante

ABTS – [2,2' - azinobis - (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)];

AQ – Atividade quelante;

ATCC – *American Type Culture Collection*;

BHI – *Brain Heart Infusion*;

BHT – Butil-hidroxitolueno;

CEASA - Centrais estaduais de abastecimento;

CG/EM – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas;

CIM – Concentração inibitória mínima;

CIM/8 – Concentração subinibitória;

CG/EM – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas;

DMSO – Dimetilsulfóxido;

DPPH – 2,2-difenil-1- picril-hidrazil;

FRAP – *Ferric Reducing Antioxidant Power*;

HCl – Ácido clorídrico;

INCQS – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

OAPS – Óleo fixo da polpa extraído em Soxhlet

OAPF – Óleo fixo da polpa extraído por prensagem a frio;

P. americana – *Persea americana*

TPTZ – (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina);

TROLOX – Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico;

UFC – Unidade formadora de colônia;

RESUMO

MELO, B. F. **Perfil químico e avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana e moduladora do óleo fixo dos frutos de *Persea americana* miller (Lauraceae) do cariri cearense.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Regional do Cariri, Crato, 2017.

Persea americana (Lauraceae) popularmente conhecida como abacateiro é uma planta frutífera, com frutos de considerável teor nutricional, e que a polpa é utilizada na extração de óleo que possui bom valor comercial, e assemelhando-se ao óleo de oliva, pela composição de seus ácidos graxos, em especial pela presença do ácido oleico. Outras partes da planta como folhas, casca dos frutos e casca do tronco, são utilizadas pela medicina popular. O presente trabalho objetivou a determinação dos constituintes químicos do óleo fixo do fruto de *P. americana*, assim como a avaliação do potencial antioxidante, antibacteriano e modulador desta espécie. Os frutos foram obtidos na CEASA do Cariri, localizada na cidade de Barbalha – CE. Foi realizada a extração do óleo (OAPS) em extrator intermitente em refluxo tipo *Soxhlet*, usando hexano como solvente e também realizada extração por prensagem a frio em prensa hidráulica (OAPF). Os ácidos graxos foram determinados indiretamente usando seus correspondentes ésteres metílicos. A identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas. Foram determinados os índices de acidez, saponificação e refração segundo metodologia oficial do Instituto Adolfo Lutz. A capacidade antioxidante foi avaliada pelos métodos de captura dos radicais DPPH/ABTS, pelo método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) e através da atividade quelante de íons Fe^{2+} . A atividade antibacteriana foi verificada pela determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos óleos frente a linhagens de bactérias Gram – positivas e Gram – negativas. Também foi analisada a eficácia dos óleos na modulação da resistência bacteriana frente antibióticos da classe dos aminoglicosídeos e beta – lactâmicos. O índice de acidez para OAPS e OAPF foi de $0,47 \pm 0,09$ e $0,49 \pm 0,06$ (g/100g) respectivamente. O índice de saponificação foi de $265,12 \pm 2,81$ (mg KOH/kg) para OAPS e $217,68 \pm 1,84$ (mg KOH/kg) para OAPF. O índice de refração obteve valores de $1,471 \pm 0,01$ e $1,467 \pm 0,05$ (n_D^{20}) para OAPS e OAPF respectivamente. Pelo método de captura do radical DPPH, nenhuma das amostras avaliadas apresentou significativa capacidade antioxidante ($AA < 10\%$), entretanto atividade significativa para ambas as amostras foi verificada via radical $ABTS^+$, sendo que OAPS apresentou melhor desempenho ($8710,08 \mu M$ trolox/g). Pelo método de redução do ferro (FRAP), atividade significativa também foi observada para ambas as amostras, sendo que OAPF apresentou melhor desempenho ($60,84 \mu M$ Fe_2SO_4 /mg). Para o ensaio quelante, de maneira geral as amostras testadas obtiveram resultados semelhantes, com máximas de $20,61\% \pm 0,76$ e $18,85\% \pm 1,52$ para OAPS e OAPF respectivamente. Os óleos apresentaram atividade inibitória frente à *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692), com CIM de $64 \mu g/mL$ e $341,33 \mu g/mL$ para OAPS e OAPF respectivamente. Foi observada atividade sinérgica com a amicacina frente às linhagens de *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442).

Descritores: Ácidos graxos, atividade antioxidante, atividade antibacteriana, modulação, *Persea americana*

ABSTRACT

MELO, B. F. **Chemical profile, antioxidant, antibacterial and modulating evaluation (*in vitro*) of the fixed oil of the *Persea americana* miller (Lauraceae) fruit consumed in the Cariri region of Ceará.** Dissertation (Masters) – Universidade Regional do Cariri, Crato, 2017.

Persea americana (Lauraceae) popularly known as avocado is a fruit plant with fruits of considerable nutritional content, and that pulp is used in the extraction of oil that has good commercial value, and resembles olive oil, by the composition of its Fatty acids, in particular the presence of oleic acid. Other part of the plant such as leaves, fruit peels and bark of the trunk, are used by folk medicine. The objective was to determine the chemical constituents of the fixed oil of the *P. americana* fruit, as well as the evaluation of the antioxidant, antibacterial and modulating potential of this species. The fruits were obtained from CEASA do Cariri, located in the city of Barbalha - CE. The oil extraction (OAPS) was carried out in an intermittent *Soxhlet* reflux extractor, using hexane as a solvent and also a cold press extraction in a hydraulic press (OAPF). Fatty acids were determined indirectly using their corresponding methyl esters. The identification of the fatty acid methyl esters was performed in a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer. The indexes of acidity, saponification and refraction were determined according to the official methodology of the Adolfo Lutz Institute. The antioxidant capacity was evaluated by the DPPH / ABTS radical capture methods, by the FRAP method (Ferric Reducing Antioxidant Power) and by the Fe^{2+} ion chelating activity. The antibacterial activity was verified by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) of the oils against Gram - positive and Gram - negative bacterial strains. The effectiveness of the oils in the modulation of bacterial resistance against aminoglycoside and beta - lactam antibiotics was also analyzed. The acid value for OAPS and OAPF was 0.47 ± 0.09 and 0.49 ± 0.06 (g / 100g), respectively. The saponification index was 265.12 ± 2.81 (mg KOH / kg) for OAPS and 217.68 ± 1.84 (mg KOH / kg) for OAPF. The refractive index obtained values of 1.471 ± 0.01 and 1.467 ± 0.05 (nD 20) for OAPS and OAPF respectively. By the DPPH radical capture method, none of the samples evaluated had a significant antioxidant capacity (AA <10%), however significant activity for both samples was verified by ABTS. + Radical, with OAPS presenting better performance (8710,08 μ M trolox / G). By the iron reduction method (FRAP), significant activity for both samples was observed, and OAPF presented better performance (60.84 μ M Fe_2SO_4 / mg). For the chelating assay, in general the tested samples obtained similar results, with maximum of $20.61\% \pm 0.76$ and $18.85\% \pm 1.52$ for OAPS and OAPF respectively. The oils presented inhibitory activity against *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692), with MIC of 64 μ g / mL and 341,33 μ g / mL for OAPS and OAPF, respectively. Synergistic activity was observed with ampicillin against *S. aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) strains.

Descriptors: Fatty acids, antioxidant activity, antibacterial activity, modulation, *Persea americana*

1. INTRODUÇÃO

Os alimentos são fontes de nutrientes indispensáveis ao funcionamento adequado das mais diversas funções orgânicas essenciais à vida. Entretanto, a relação entre o homem e o alimento vem sendo modificada ao longo do tempo, evidenciando-se que esta prática não visa apenas nutrir o corpo, e apresenta uma construção complexa intimamente ligada a fatores históricos, sociais, familiares e até mesmo religiosos (MATURANA, 2010).

Somente a partir do século XX iniciaram-se os estudos acerca das propriedades medicinais de compostos presentes nos alimentos. Entretanto há 2500 anos o filósofo Hipócrates já correlacionava a alimentação com a promoção da saúde e bem estar ao dizer: "Deixe o alimento ser teu remédio e o remédio ser teu alimento" (BRAGA; BARLETA, 2007).

Apesar de sua natureza multiconceitual, um antioxidante pode ser definido como uma substância que, quando presente mesmo em pequenas concentrações em relação a um substrato, é capaz de retardar ou mesmo inibir consideravelmente a oxidação desse substrato (ROCHA et al., 2012).

A produção de espécies reativas de oxigênio, de nitrogênio, entre outras espécies reativas, é inerente ao metabolismo humano sendo observada em diversas condições fisiológicas, entretanto nos quadros de produção exacerbada ou ineficiência do sistema antioxidante protetor, temos o chamado estresse oxidativo (VASCONCELOS et al., 2007). O grande número de evidências que apontam para uma correlação entre o estresse oxidativo e o desenvolvimento de várias doenças e desordens, vem despertando o interesse dos cientistas para a importância da atuação de substâncias antioxidantes, sobretudo os antioxidantes naturais (NIKI, 2010).

Infecções bacterianas estão constantemente no enfoque da saúde pública, sendo frequentemente relatados casos envolvendo microrganismos como *Pseudomonas aeruginosa*, um importante patógeno humano, invasivo e toxigênico, considerado a principal causa de infecções hospitalares entre os bacilos Gram-negativos, acometendo principalmente, pacientes imunossuprimidos (FERREIRA; LALA, 2010).

A bactéria Gram – positiva *Staphylococcus aureus*, considerada parte da flora natural do ser humano, em algumas condições pode tornar-se patogênica e causar uma ampla variedade de infecções, sendo tal episódio desencadeado pela ruptura da barreira cutânea ou queda da imunidade (SALES; SILVA, 2012).

Além do quadro infeccioso, um grave problema evidente, deve-se a resistência dos microrganismos patogênicos que tem aumentado principalmente em decorrência do uso indiscriminado de antimicrobianos, atraindo a comunidade científica à procura de novas drogas de origem natural ou sintética (LOBO et al., 2015).

O abacateiro (*Persea americana*) é uma planta frutífera, da família Lauraceae, que compreende cerca de 50 gêneros diferentes. Originário da América do Sul é cultivado em quase todo território brasileiro, destacando-se o estado de São Paulo como principal produtor (FERRARI, 2015).

O óleo de abacate possui bom valor comercial, e assemelha-se ao óleo de oliva, tanto no que se refere ao processo de extração como pela similaridade de suas propriedades físico-químicas, principalmente pela composição de seus ácidos graxos, predominando em ambos o ácido oleico. Porém, sua produção mundial é pequena, sendo usado principalmente pelas indústrias farmacêuticas e de cosméticos (TANGO; CARVALHO; SOARES, 2004).

Diante do contexto deste trabalho, objetivou-se a determinação dos constituintes químicos do óleo fixo do fruto de *Persea americana*, assim como a avaliação do potencial antioxidante, antibacteriano e modulador desta espécie.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Obter o perfil químico do óleo fixo dos frutos de *Persea americana*, bem como verificar suas atividades antioxidante, antibacteriana e moduladora.

2.2 Objetivos específicos

- Extrair o óleo fixo do mesocarpo do fruto de *Persea americana* por diferentes metodologias.
- Analisar as propriedades físicas e químicas dos óleos.
- Comparar a composição de ácidos graxos dos óleos.
- Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* dos óleos pelos métodos do DPPH, ABTS^{·+}, FRAP e Quelante de Fe²⁺.
- Verificar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos frente a linhagens de bactérias Gram – positivas e Gram – negativas.
- Analisar a eficácia dos óleos na modulação da resistência bacteriana frente antibióticos da classe dos aminoglicosídeos e beta – lactâmicos.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Alimentos funcionais e nutracêuticos

Seguramente, tão antiga quanto à história da própria humanidade, configura-se a utilização de recursos naturais no tratamento dos mais variados tipos de enfermidades. O processo de evolução dessa atividade de cura, tida em algumas culturas como uma “arte”, ocorreu de modo experimental, empírico, a partir das observações de erros e acertos na manipulação de materiais, em sua maioria, de origem vegetal (PORTO; SILVA, 2012).

Estudos sobre a medicina popular vêm despertando atenção cada vez maior devido ao arsenal de informações e esclarecimentos que vem sendo oferecido à Ciência. Esse fenômeno tem propiciado um uso sistemático e crescente de artigos de origem natural na profilaxia e tratamento das doenças, juntamente com a terapêutica convencional (FRANÇA et al., 2008).

Dentro do contexto preventivo, os alimentos vêm ganhando grande destaque, através da correlação de que para uma vida mais saudável é necessário, dentre alguns fatores, uma alimentação rica em produtos naturais, sendo que esse hábito está cada vez mais associado à prevenção de doenças crônicas, como diabetes, hipertensão e aterosclerose, que diminuem a expectativa de vida e aumentam os gastos públicos com internações e outros recursos terapêuticos que poderiam ser evitados (BARCAROL et al., 2012).

O despertar para essa nova abordagem alimentar, fez com que surgissem novas categorizações, entre estas estão os chamados alimentos funcionais e os nutracêuticos. O termo alimento funcional foi primeiramente introduzido no Japão, na década de 80 por meio de programa governamental fazendo referência a alimentos que auxiliam funções específicas do corpo (ZEIRAK et al., 2010). Em seguida, este conceito passou a ser discutido em outros países e, em 1995, o ILSI (*International Life Science Institute*) apresentou a primeira definição para estes alimentos que foi aceita mundialmente (COZZOLINO, 2012).

Um alimento para ser considerado funcional deve apresentar propriedades que vão além da nutricional e sensorial, agindo sobre algum sistema fisiológico promovendo benefícios à saúde do consumidor. Comumente este termo vem sendo utilizado como sinônimo de nutracêutico, entretanto algumas distinções devem ser consideradas, primordialmente o fato de que os alimentos funcionais devem se apresentar na forma convencional e consumidos na dieta usual, enquanto os nutracêuticos são alimentos, ou partes

de alimentos incluindo nutrientes isolados, alimentos processados e até mesmo suplementos alimentares fabricados nas mais diversas formas como tabletes, farinha, géis ou cápsulas e que forneçam vitaminas, minerais, ervas ou outra substância dietética (MORAES; COLLA, 2006).

Os nutracêuticos podem ser classificados como fibras dietéticas, ácidos graxos poliinsaturados, proteínas, peptídios, aminoácidos ou cetoácidos, minerais, vitaminas antioxidantes e outros antioxidantes (glutaciona, selênio) (ANDLAUER; FÜRST, 2002).

Na literatura encontram-se vários relatos da eficácia dos alimentos funcionais, nutracêuticos. Porém algumas dificuldades são inerentes às pesquisas nessa área, que apesar de promissora, ainda não pôde obter caráter totalmente conclusivo. Pode-se citar inicialmente as concentrações, muitas vezes insignificantes, das substâncias bioativas presentes no alimento. Outro fator importante é a biodisponibilidade desses componentes, passível de interferências ambientais diversas assim como durante a etapa de processamento e os efeitos tóxicos que não podem ser descartados quando em dosagens elevadas (COZZOLINO, 2012; BRAGA; BARLETA, 2007).

3.2 Óleos vegetais como fontes de ácidos graxos

Óleos e gorduras são substâncias de origem vegetal, animal ou mesmo microbiana, insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos. São constituídos predominantemente de substâncias conhecidas como triglicerídeos, que são formadas a partir da ligação de três moléculas de ácidos graxos (ácidos carboxílicos de cadeia longa) a uma molécula de glicerol. Os ácidos graxos diferem entre si pelo tamanho da cadeia carbônica, número e orientação das ligações duplas (AZEVEDO-MELEIRO; GONÇALVES, 2005).

Devido aos seus altos pontos de ebulição e baixas tensões de vapor não é possível separar estas substâncias por destilação simples sem se decomporem, nem são destiláveis pelo vapor de água (como acontece com os óleos essenciais), sendo esta propriedade o qualitativo que embasa a nomenclatura de "óleos fixos" que lhes é muitas vezes atribuída (BRUNETON, 1995).

Os óleos vegetais mais comuns possuem de 14 a 22 carbonos e podem ser saturados ou insaturados, com 1 a 3 ligações insaturadas. Se as ligações duplas da cadeia são separadas por no mínimo dois átomos de carbono, as duplas ligações são chamadas de isoladas. Se ligações simples e duplas se alternam, são chamadas de conjugadas (NICOLAU; MARIATH; SAMIOS, 2009).

A distribuição dos ácidos graxos conferem diferentes propriedades físicas e químicas aos óleos vegetais e aos produtos deles provenientes. Um dos parâmetros que mais afetam as propriedades dos óleos está relacionado ao grau de instauração dos ácidos graxos constituintes. O Quadro 1 apresenta a composição química de alguns óleos vegetais em porcentagem de ácido graxo (SAMIOS et al., 2009).

Quadro 1: Composição química de alguns óleos vegetais em porcentagem de ácido graxo

Ácido graxo	Origem vegetal (%)				
	Soja	Girassol	Linhaça	Oliva	Canola
Ácido palmítico	11,0	6,0	5,0	13,7	4,1
Ácido esteárico	4,0	4,0	4,0	2,5	1,8
Ácido oleico	23,4	42,0	22,0	71,1	60,9
Ácido linoleico	53,3	47,0	17,0	10,0	21,0
Ácido linolênico	7,8	1,0	52,0	0,6	8,8

Fonte: (SAMIOS et al., 2009).

3.3 Biossíntese de ácidos graxos

A biossíntese e a degradação dos ácidos graxos ocorrem por meio de diferentes vias, são catalisadas por diferentes grupos de enzimas e localizam-se em compartimentos distintos na célula. Além disso, a biossíntese requer a participação de um intermediário de três carbonos, a malonil-CoA, sendo que a formação desse intermediário a partir de acetil-CoA é um processo irreversível, catalisado pela acetil-CoA-carboxilase (LEHNINGER, 2000).

Em todos os organismos, as longas cadeias de carbono dos ácidos graxos são construídas por uma sequência de reações repetitivas, em quatro etapas catalisadas por um complexo enzimático coletivamente conhecido como ácido graxo-sintase. Um grupamento acila saturado, produzido em cada série de reações, torna-se o substrato da condensação subsequente com um grupo malonila ativado. Em cada uma das passagens pelo ciclo, a cadeia aumenta em dois carbonos (SIMÕES, 1999). O palmitato, produto principal do sistema da ácido graxo--sintase nas células animais, é o precursor de outros ácidos graxos de cadeia longa pois pode ser alongado a estearato, com 18 carbonos (Figura 1, p.19). Palmitato e

estearato podem ser dessaturados, gerando palmitoleato e oleato, respectivamente, pela ação de oxidases de função mista (LEHNINGER, 2000).

Os hepatócitos dos mamíferos podem facilmente introduzir ligação dupla na posição Δ^9 dos ácidos graxos, mas não podem introduzir ligações duplas adicionais entre C-10 e a extremidade metila. Assim sendo, os mamíferos não podem sintetizar linoleato, 18:2 ($\Delta^{9,12}$), ou α -linolenato, 18:3 ($\Delta^{9,12,15}$). No entanto, os vegetais podem sintetizar ambos; pois os ácidos graxos poli-insaturados ajudam a garantir a fluidez da membrana em temperaturas reduzidas (ALBERTS, 2010).

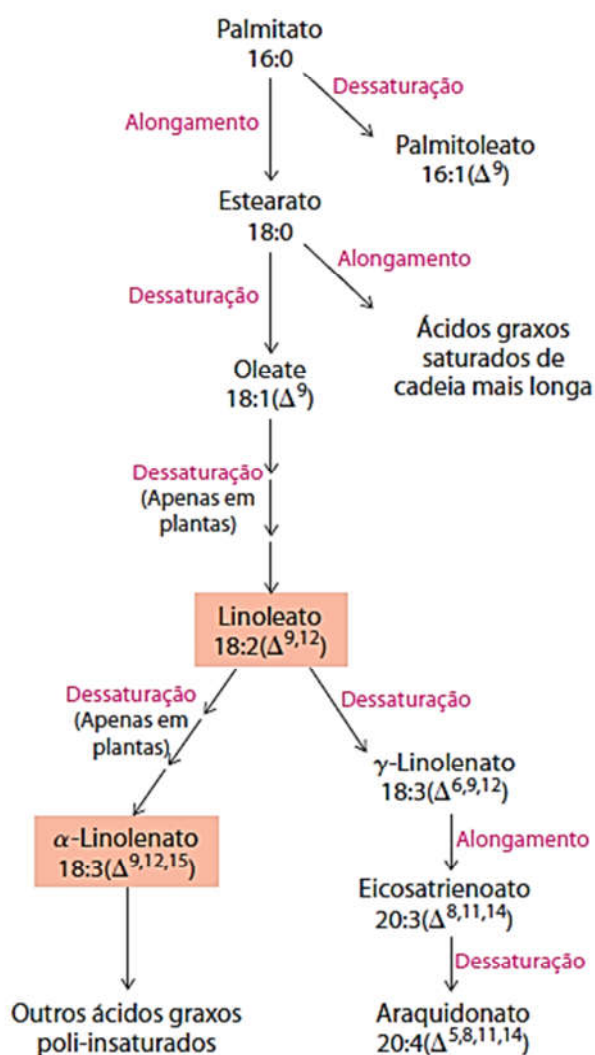


Figura 1. Vias de síntese de ácidos graxos de cadeia longa.

Fonte: (LEHNINGER, 2000).

3.4 Propriedades biológicas dos ácidos graxos

As refeições baseadas em óleo de peixes, oliva, girassol, milho, soja, canola, entre outros, têm sido largamente estudadas, e demonstram forte influência sobre o perfil lipídico reduzindo os níveis de colesterol total, de triglicerídeos e de LDL (*Low Density Lipoproteins*), sem alterar a fração HDL (*High-Density Lipoprotein*), e por consequência apresentando efeitos protetores contra diversos estados patológicos, principalmente nas doenças cardiovasculares. Os mecanismos responsáveis por esta ação protetora se relacionam ao tipo de ácido graxo contido nestes óleos, particularmente os ácidos graxos das séries mono e poli-insaturados (COUTO; WICHMANN, 2011; SOARES; ITO, 2000).

Os ácidos graxos poli – insaturados, destacando as séries ômega 3 e 6, são encontrados em peixes de água fria (salmão, atum, sardinha, bacalhau), óleos vegetais, sementes de linhaça, nozes e alguns tipos de vegetais (GRAÇA; MATEUS; LIMA, 2013).

Os principais ácidos graxos da família ômega 3 são o alfa-linolênico (C18:3), o eicosapentanoico-EPA (C20:5) e o docosahectanoico-DHA (C22:6). Os ácidos graxos da família ômega 6 mais importantes são o linoléico (C18:2) e o araquidônico (C20:4) (PIMENTEL, et al., 2005). Os ácidos graxos ômega 3 desempenham papel de grande importância para os recém-nascidos por representarem um terço da estrutura de lipídeos no cérebro e carências destas substâncias podem ocasionar redução da produção de enzimas relacionadas às funções do aprendizado. O suprimento adequado de DHA na alimentação dos bebês é fundamental para o desenvolvimento da retina (TINOCO et al., 2007).

No estudo realizado por Kurushima, et al. (1995), os efeitos da adição de colesterol e ácidos graxos na dieta de cobaias hamsters foram avaliados, onde os animais foram alimentados por quatro semanas com dietas padrão adicionadas de colesterol e ácido oleico ou palmítico. A adição de 5% de ácido oleico à dieta com 0,1% de colesterol apresentou diminuição dos níveis de colesterol total, LDL e VDL. Foi atribuída que a ação do ácido oleico deve-se ao aumento da atividade do receptor hepático da LDL, enquanto o ácido palmítico apresentou efeito inverso.

As variedades de azeitonas mais comuns destinadas a extração do azeite, possuem até 80% em ácido oleico (C:18:1; ω 9), e quantidades razoáveis de ácidos graxos considerados essenciais (MELLO; PINHEIRO, 2012). Uma fonte alimentar menos divulgada de ácido

oleico é o abacate, fruto que, apesar de comum no Brasil, é de consumo discriminado pelo seu alto valor energético proveniente da sua porção lipídica (SOARES; ITO, 2000).

3.5 Abacate - *Persea americana* Miller (Lauraceae)

A família Lauraceae é composta de 52 gêneros e cerca de 3000 espécies, muitas vindas das regiões tropicais e subtropicais quentes. Dentre as espécies incluídas nessa família, a grande maioria é lenhosa e são encontradas nas florestas centro e sul-americanas (BATISTA et al., 2010). A maioria das espécies desta família possui importância econômica por sua madeira, óleos essenciais e frutos comestíveis, neste último caso destacando-se a espécie *Persea americana*, que possui como fruto o abacate (MARANHÃO; PREUSSLER; ROCHA, 2009).

O abacateiro (*Persea americana* Mill.) é uma espécie arbórea, produtora de uma importante fruta tropical originária da América Central e no sul do México, e cultivada em quase todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo (KATE; LUCKY, 2009). Com base em evidências arqueológicas encontradas em Tehuacán, Puebla (México), acredita-se que tenha surgido há aproximadamente 12 mil anos (YAHIA; WOOLF, 2011).

O México é o maior produtor mundial, com 1.124.565 toneladas, seguido do Chile com 368.568 toneladas O Brasil ocupa a sexta posição, com 166 mil toneladas, com sua produção concentrada principalmente na região sudeste, onde o Estado de São Paulo apresenta aproximadamente 41% da produção nacional, seguido de Minas Gerais, com 16% da produção (SILVA et al., 2014).

As cultivares existentes apresentam frutos com os mais variados tamanhos e pesos, e com diferentes proporções de casca, polpa e semente assim como frutos de diferentes cultivares diferem em teor de umidade e óleo, podendo apresentar de menos de 5% a mais de 30% de óleo. No mercado interno, as cultivares mais comercializadas são ‘Simmonds’, ‘Barbieri’, ‘Collison’, ‘Quintal’, ‘Fortuna’, ‘Breda’, ‘Reis’, ‘Solano’, ‘Imperador’, ‘Ouro Verde’, ‘Campinas’ ‘Geadá’ e ‘Margarida’ (LEONEL; SAMPAIO, 2008; MARQUES, 2001).

Além do seu valor nutricional o abacate tem sido aproveitado para outras aplicações: da polpa obtêm-se óleo o qual em sua composição predomina o ácido oleico; da semente produz-se uma tinta castanho-arroxeadá; e outras partes da planta como folhas, casca dos frutos e casca do tronco, são utilizadas pela medicina popular (OLIVEIRA; SANTOS, 2016).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material vegetal

Os frutos para este estudo foram obtidos na CEASA do Cariri, localizada na cidade de Barbalha – CE. Foram escolhidos 25 frutos do cultivar Fortuna, provenientes do estado de Minas Gerais, e transportados para o Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais – LPPN, onde foram realizadas as análises. Os frutos ainda se apresentavam firmes, sendo armazenados à temperatura ambiente, até atingirem seu completo estágio de maturação (apresentando consistência macia).

4.2 Métodos de extração do óleo de *Persea americana*

4.2.1 Extração com *Soxhlet*

O mesocarpo do fruto foi previamente seco em estufa a 60°C por 12 horas. Em seguida, realizada extração em extrator intermitente em refluxo tipo *Soxhlet* por 3 horas, usando hexano como solvente. Após a eliminação do solvente em evaporador rotativo, o óleo (OAPS) foi armazenado sob refrigeração até o momento das análises.

4.2.2 Extração por prensagem

O mesocarpo do fruto foi previamente liofilizado. Em seguida, realizada extração por prensagem a frio em prensa hidráulica, e após a mistura ser decantada e filtrada, o óleo (OAPF) foi armazenado sob refrigeração até o momento das análises.

4.3 Métodos de análise químicos e físico – químicos

4.3.1 Determinação dos ácidos graxos

Os ácidos graxos foram determinados indiretamente utilizando os seus correspondentes ésteres metílicos. Os óleos (0,2g / cada) foram saponificados por 1 hora sob o refluxo com solução de Hidróxido de Potássio (KOH) em metanol. Após processo de tratamento e ajuste de pH, os ácidos livres foram metilados com metanol por catálise ácida

a fim de obter os respectivos ésteres metílicos, seguindo o método descrito por Hartman e Lago (1973). Os ésteres metílicos foram então analisados por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de massas (CG/EM).

4.3.2 Análise por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de massas (CG/EM)

A análise dos constituintes fixos do OAPF e OAPS foi realizada por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de massas (CG/EM) Hewlett-Packard, modelo 5971, usando coluna capilar não-polar DB-1 de sílica fundida (30 m x 0,25 mm id., película de 0,25 μm); carregado por gás hélio; velocidade de fluxo 0,8 mL/min e modo de divisão. A temperatura do injetor foi de 250°C e a do detector de 200°C. A temperatura da coluna foi programada de 35°C para 180°C em 4°C/min em seguida 180°C para 250°C em 10 °C/min. Os espectros de massa foram gravados a partir de 30-450 m/z. Os componentes individuais foram identificados por correspondência de seus espectros de massa, 70 eV, com os da base de dados usando a biblioteca construída através do espectrômetro e outros dois computadores utilizando índices de retenção como uma pré-seleção (ALENCAR et al., 1984; ALENCAR et al., 1990), bem como por comparação visual de fragmentação padrão com aqueles relatados na literatura (STENHAGEN, 1974; ADAMS, 2001).

4.3.3 Parâmetros físico – químicos

Os óleos (OAPS e OAPF) foram caracterizados por métodos físico-químicos, segundo metodologia oficial do Instituto Adolfo Lutz. (2008), através da determinação dos índices de acidez, saponificação e refração.

O **índice de acidez** foi expresso como o número de miligramas de hidróxido de sódio necessários para neutralizar os ácidos livres por grama de amostra. Os ácidos graxos livres são determinados em uma solução de óleo ou gordura em etanol, por titulação com solução de hidróxido de sódio e utilizando-se fenolftaleína como indicador. Para amostras de difícil dissolução em etanol, recomenda-se o uso de mistura de éter etílico:etanol (1:1). O teor de ácidos graxos livres foi calculado com base no peso molecular do ácido predominante, no caso o ácido oleico.

Em um erlenmeyer de 125 mL foram pesados dois gramas da amostra, adicionados 25 mL de uma mistura neutra de éter etílico-etanol (1+1) e agitado manualmente. Em seguida

foram adicionadas 2 gotas de solução etanólica a 1,0% de fenolftaleína. A titulação foi feita com solução de NaOH 0,1 N ou 0,01N até coloração rósea. O teste foi realizado em triplicata e o cálculo seguiu a fórmula:

$$\% \text{ ácido oleico m/m} = V \times N \times 2,82 \quad (1)$$

Em que:

V = número de mL de solução de KOH gasto na titulação.

N = Normalidade da solução de KOH, devidamente padronizada.

P = número de gramas da amostra.

2,82 = fator para ácido oleico.

O **índice de saponificação** é a quantidade de álcali necessário para saponificar uma quantidade definida de amostra. Este método é aplicável a todos os óleos e gorduras e expressa o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para saponificar um grama de amostra.

Foram pesados 2 g da amostra e adicionados 50 mL da solução alcoólica de KOH. Foi preparado um branco procedendo-se ao andamento analítico, simultaneamente com a amostra. Após conectar o condensador deixou-se em fervura suave até a completa saponificação da amostra (aproximadamente uma hora). Após o resfriamento do frasco, foi adicionado 1 mL do indicador fenolftaleína e realizada titulação com a solução de ácido clorídrico 0,5 M até o desaparecimento da cor rósea. O teste foi realizado em triplicata e o cálculo seguiu a fórmula:

$$\text{Índice de saponificação} = 28,05 \times f \times (B - A) / P \quad (2)$$

Onde,

A = volume gasto na titulação da amostra

B = volume gasto na titulação do branco

f = fator da solução de HCl 0,5 M

P = n° de g da amostra

O **índice de refração** é característico para cada tipo de óleo, dentro de certos limites. Este método é aplicável a todos os óleos normais e gorduras líquidas. Para a análise deste parâmetro foi utilizado o equipamento Refratômetro de Abbé equipado com escala-padrão. Foram realizadas três leituras a média calculada.

4.4 Ensaios antioxidantes

4.4.1 Captura do radical livre DPPH

Este ensaio antioxidante baseia-se no princípio de que o radical livre, 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), de coloração violeta, aceita um elétron ou um radical hidrogênio para tornar-se uma molécula estável, sendo reduzido na presença de um antioxidante e adquirindo coloração amarela (MENSOR et al., 2001).

Tendo esse princípio em vista, foram preparadas diferentes concentrações dos óleos, variando de 14 à 1400 µg/mL. A mistura de reação foi então composta a partir de uma alíquota de 0,1 mL de cada concentração adicionada a 3,9 mL do radical DPPH (60 µM). Após o tempo de reação (ao abrigo da luz) de 30 min, as absorvâncias foram lidas com auxílio de espectrofotômetro com comprimento de onda ajustado para 515 nm. Como controle negativo foi preparado uma solução semelhante, utilizando-se apenas 0,1 mL de álcool metílico com 3,9 mL do radical DPPH, e como controles positivos foram utilizados a vitamina C (ácido ascórbico) e o BHT (butil-hidroxitolueno). Utilizou-se álcool metílico como branco para calibrar o espectrofotômetro, o teste foi realizado em triplicata, seguido de três repetições.

A partir da solução inicial de DPPH (60 µM) preparou-se uma curva padrão de DPPH, para encontrar o consumo em µM de DPPH, para em seguida, transformar para g de DPPH, sendo este valor necessário para o cálculo da EC₅₀, resultado que corresponde à amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH. O valor final foi expresso em µg/mL. O método adotado foi descrito por Rufino e colaboradores (2007a).

Outra forma, também muito utilizada, de se demonstrar os resultados deste ensaio é através da atividade antioxidante (AA), que foi expressa em porcentagem, e calculada segundo a equação 3 :

$$AA\% = 100 - [(Ab.a - Ab.b) / Ab.c] \times 100 \quad (3)$$

Onde:

Ab.a = absorvância da amostra, Ab. b = absorvância do branco e Ab. c = absorvância do controle.

4.4.2 Captura do radical livre ABTS^{•+}

Assim como o DPPH o ABTS^{•+} [2,2'- azinobis - (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)] apresenta boa estabilidade em determinadas condições de análise, contudo algumas diferenças são apontadas, como o fato do radical ABTS^{•+} ser gerado através de reações químicas ou enzimáticas. Este radical apresenta coloração esverdeada, que decresce de intensidade à medida que sofre redução pelo agente antioxidante (ARNAO, 2000).

A metodologia para o ensaio com ABTS^{•+} foi realizada conforme descrito por Rufino e colaboradores (2007b). O radical é preparado a partir da reação da solução estoque de ABTS (7 mM) com solução de persulfato de potássio (140 mM), incubados em temperatura ambiente ao abrigo da luz por 16 horas. Em seguida, a solução contendo o radical foi diluída em álcool etílico até se obter uma absorbância de 0,70 nm ± 0,05 nm em espectrofotômetro com comprimento de onda ajustado para 734 nm.

Foram preparadas diferentes concentrações dos óleos, variando de 14 à 1400 µg/mL. A mistura reacional foi então composta a partir de uma alíquota de 30µL de cada concentração dos óleos adicionada a 3,0 mL do radical ABTS^{•+}. Após o tempo de reação (ao abrigo da luz) de 06 min, as absorbâncias foram lidas a 734 nm. O álcool etílico foi utilizado como branco e o teste realizado em triplicata, seguido de três repetições.

A atividade antioxidante (AA) foi expressa em µM trolox/g amostra. Como referência, foi utilizado o Trolox, um antioxidante sintético análogo à vitamina E.

4.4.3 Método de redução do ferro (FRAP)

O método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) aparece como uma alternativa aplicada não somente para estudos da atividade antioxidante em alimentos e bebidas, mas, também, para o estudo da eficiência antioxidante de substâncias puras, com resultados comparáveis àqueles obtidos com outras metodologias mais complexas (PULIDO; BRAVO; SAURA-CALIXTO, 2000).

A reação ocorre pela formação de um complexo TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) com o Fe (III), de cor azul - clara. Na presença de um antioxidante, o ferro presente é

reduzido, dando origem ao $[\text{Fe}(\text{II})(\text{TPTZ})_2]^{3+}$, de colocação azul escura (RUFINO et al., 2006).

Para a determinação da atividade antioxidante por meio da redução do ferro (FRAP) foi utilizada a metodologia descrita Rufino e colaboradores (2006). Foram preparadas diferentes concentrações dos óleos, variando de 14 a 1400 $\mu\text{g/mL}$. A mistura reacional foi então composta a partir de uma alíquota de 90 μL de cada diluição acrescido de 270 μL de água destilada, com 2,7 mL do reagente FRAP, preparado no momento da análise, obtido a partir da combinação de 25 mL de tampão acetato 0,3 M, 2,5 mL de uma solução de TPTZ 10 mM e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM.

Após o tempo de reação de 30 min (ao abrigo da luz e em banho – maria a 37 °C), as absorbâncias foram lidas a 595 nm. O reagente FRAP foi utilizado como branco e o teste realizado em triplicata, seguido de três repetições. A curva de calibração foi feita com sulfato ferroso, e os resultados foram expressos em μM sulfato ferroso/mg de amostra.

4.4.4 Atividade quelante de íons Fe^{2+}

A atividade quelante de íons Fe^{2+} foi estimada pelo método de Dinis e colaboradores (1994) com algumas modificações. Foram preparadas diferentes concentrações dos óleos, variando de 14 a 1400 $\mu\text{g/mL}$. A mistura reacional foi então composta a partir de uma alíquota de 0,4 mL das concentrações testadas, com uma solução de cloreto de ferro (II) (FeCl_2) 2 mM (0,05 mL). A reação foi iniciada pela adição de ferrozina 5 mM (0,2 mL) e o volume total foi ajustado para 4 mL com álcool etílico.

Então, a mistura foi agitada vigorosamente e deixada à temperatura ambiente durante 10 min. A absorbância foi medida por espectrofotometria a 562 nm. A porcentagem de inibição de formação do complexo ferrozina – Fe^{2+} foi calculada usando a fórmula apresentada na equação 4. O controle contém apenas FeCl_2 e ferrozina, havendo formação do complexo metálico.

$$\text{AQ} (\%) = 100 \times [(\text{Ab.c} - \text{Ab. a}) / \text{A.c}] \quad (4)$$

Onde:

Ab.a = absorbância da amostra e Ab. c = absorbância do controle.

4.5 Testes microbiológicos

4.5.1 Preparo das soluções de teste

No preparo da solução inicial, OAPS e OAPF foram solubilizados em água destilada estéril e dimetilsulfóxido (DMSO) de forma que foram obtidas as solução estoque com concentração de 1024 µg/mL. A partir destas, efetuaram-se diluições seriadas 1:2, durante o teste de microdiluição, obtendo-se as concentrações das amostras variando de 512 a 8µg/mL.

4.5.2 Bactérias

As linhagens bacterianas utilizadas foram as Gram- positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692), *Streptococcus mutans* (ATCC 00446), *Bacillus cereus* (ATCC 33019), e as Gram-negativas: *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) e *Salmonella choleraesuis* (ATCC 13314).

As bactérias fazem parte do banco de microrganismos da Universidade Regional do Cariri, e foram inoculadas, previamente aos ensaios, em meio BHI (*Brain Heart Infusion Broth*) e mantidas em estufa bacteriológica a 35 ± 2 °C, durante 24 horas. O meio de cultura foi preparado segundo as especificações do fabricante e esterilizado em autoclave.

4.5.3 Preparo e padronização dos inóculos bacterianos

Previamente, as cepas bacterianas foram ativadas em meio BHI na concentração recomendada pelo fabricante, durante 24 horas a 35 ± 2 °C. Após este pré-cultivo ocorreu à padronização do inóculo, que consistiu na preparação de uma suspensão bacteriana em BHI a 3,8%, com turvação correspondente a 0,5 da Escala McFarland (1×10^8 UFC/mL). Em seguida essa suspensão foi diluída até 1×10^6 UFC/ mL em caldo BHI a 10%, e volumes de 100 µL foram então homogeneizados em placa de microdiluição, acrescido de diferentes concentrações dos óleos, resultando num inóculo final de 5×10^5 UFC/mL (CLSI, 2012).

4.5.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os ensaios para a determinação da CIM de OAPS e OAPF foram efetuados através do método de microdiluição em caldo, em placa de microdiluição estéril contendo 96 poços, onde 100 μL do inoculo bacteriano foi adicionado a cada poço (placa na horizontal), e em seguida foram acrescidos os óleos, efetuando-se diluições seriadas 1:2 obtendo-se uma variação de 512 a 8 $\mu\text{g/mL}$ nas concentrações das amostras. Os testes foram realizados em triplicata, reservando-se a última cavidade de cada coluna para controle, o qual consistiu apenas do inoculo bacteriano (JAVADPOUR et al., 1996).

As placas preenchidas foram incubadas a 35 ± 2 °C 24 horas. Para evidenciar a CIM das amostras foi preparada uma solução indicadora de resazurina sódica (Sigma) em água destilada estéril na concentração de 0,01 % (p/v). Após o período de incubação, 25 μL da solução indicadora foram adicionados em cada cavidade e as placas passaram por um período de 1 hora em temperatura ambiente. A mudança de coloração azul para rosa devido a redução do pH da resazurina indicou o crescimento bacteriano. A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração capaz de inibir completamente o crescimento microbiano, nos poços de microdiluição conforme detectado a olho nu (MARKHAN, 1998; PALOMINO et al., 2002).

4.5.5 Avaliação da interferência sobre a resistência aos antibióticos (modulação)

Para avaliar OAPS e OAPF como moduladores da ação antibiótica, a CIM dos antibióticos da classe dos aminoglicosídeos (amicacina e gentamicina) e os beta – lactâmicos (benzilpenicilina e cefotaxina) foram avaliados na presença e na ausência dos óleos em microplacas estéreis.

Os óleos foram misturados ao inoculo bacteriano em concentrações subinibitórias (MIC/8). As soluções de antibióticos foram preparadas com a adição de água destilada estéril na mesma concentração da solução estoque dos óleos (1024 $\mu\text{g/mL}$) e volumes de 100 μL foram diluídos seriadamente 1:2, nas cavidades contendo a suspensão bacteriana juntamente com os óleos, reservando-se a última cavidade de cada coluna para controle, o qual consistiu apenas do inoculo bacteriano e da MIC/8. A placa foi trabalhada na vertical, possibilitando um maior número de diluições dos antibióticos, sendo assim testadas concentrações variando

de 512 – 0,5 µg/mL. As placas preenchidas foram incubadas a 35 ± 2 °C 24 horas e a leitura evidenciada pelo uso de resazurina sódica como citado anteriormente. O teste foi realizado em triplicata e acompanhado de um controle positivo que consistiu apenas da solução de microrganismos juntamente com as soluções dos antibióticos avaliados (SATO et al., 2004, modificado).

4.6 Análises dos dados

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os dados expressos como média ($n=3$) \pm desvio padrão (DP) usando a Análise de Variância (ANOVA) sucedida pelo teste de Tukey de comparações múltiplas para dados com distribuição normal e desvios padrões significativamente semelhantes. As análises estatísticas e apresentação gráfica dos resultados foram realizadas utilizando o programa *GraphPad Prism* (versão 6.0).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Extração do óleo de *Persea americana*

Os frutos da variedade Fortuna apresentaram peso médio de 835 g, mostrando expressivo rendimento em polpa (79,11 %). O caroço representou 11,49 % do fruto e a casca 9,40 %. Os valores obtidos são similares aos estudos de Tango; Carvalho e Soares (2004) que observaram valores de 75,7 %, 12,5 % e 11,8% respectivamente, para polpa, caroço e casca de abacate da mesma variedade. A proporção de cada componente dos frutos pode apresentar variações em função do grau de maturação dos mesmos, Medina (1978) aponta que os frutos colhidos 30 dias antes da época considerada normal para a colheita possuem maiores proporções de casca e caroço e menor porcentagem de polpa.

Os rendimentos da fração lipídica foram significativamente diferentes quando comparados os métodos de extração. Quando empregada a extração em Soxhlet, obteve-se rendimento de 5,6 % e 19,04% para a extração em prensa hidráulica. Segundo Oliveira et al. (2013), o teor de lipídeos da polpa de diferentes variedades de abacate varia entre 5,3 e 31,1 %, estando os valores obtidos nesse estudo dentro dessa faixa percentual.

O valor observado para extração em Soxhlet é similar ao descrito por Tango; Carvalho e Soares (2004) que utilizaram de processo similar de extração para abacates da mesma variedade encontrando 5,9 % em lipídeos. Chaves et al. (2013), relatam teor de lipídeos em 7,9 % para abacates da variedade margarida, enquanto os expressivos valores de 25,47% e 15,07% foram obtidos para as variedades Hass e Fuerte respectivamente (FERRARI, 2015). Essas diferenças podem ser explicadas por fatores como o clima da região de origem, pois Luchesi (1975) verificou que teores mais elevados de óleo foram encontrados em abacates provenientes de regiões mais frias.

Diversos autores relatam o elevado conteúdo de umidade na polpa fresca como principal obstáculo para obtenção de óleo de abacate, afetando o rendimento de extração e o custo de produção (OLIVEIRA et al., 2003). As polpas frescas dos frutos, que apresentam teores baixos de lipídeos, têm porcentagens de umidade mais elevadas, ocorrendo o inverso para as polpas com teores de lipídeos mais elevados. A alta correlação entre umidade e lipídeos deve-se ao fato de que a soma dos teores dessas substâncias corresponde à grande parte da massa das polpas, em média, 92% da polpa (AHMED; BARMORE, 1990). Diante

da intrínseca relação entre umidade e o teor de lipídeos, compreende-se o maior rendimento no processo de extração por prensagem utilizando a polpa liofilizada.

5.2 Composição em ácidos graxos de *Persea americana*

A análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) permitiu identificar 83,48% dos constituintes de OAPS e 81,28% dos constituintes de OAPF, onde os componentes majoritários foram o ácido oleico (44,92%) e o ácido palmítico (34,33%) para OAPS e ácido oleico (42,02%) o ácido palmítico (25,63%) para OAPF (Tabela 1). Nas Figuras 2 e 3 (p.33) são apresentados os perfis cromatográficos representativos das amostras analisadas.

Tabela 1 – Perfil de ácidos graxos identificados nos óleos fixos de *Persea americana*

Ácido graxo	Tr (min)		%	
	OAPS	OAPF	OAPS	OAPF
Ácido Láurico (C12:0)	—	9.90	—	2.35
Ácido Palmitoleico (C16:1)	—	14.42	—	1.67
Ácido palmítico (C16:0)	27,82	14.62	34,33	25.63
Ácido oleico (Z -18:1)	31,25	16.46	44,92	42.02
Ácido eláidico (E -18: 1)	31,31	—	4,23	—
Ácido Esteárico (C18:0)	—	16.69	—	9.61

Tr (tempo de retenção).

De maneira geral a literatura aponta os ácidos palmítico e oleico como principais componentes do óleo extraído do mesocarpo, Entretanto, a proporção desses componentes varia muito de acordo com o cultivar. Massafera, Braga Costa e Dutra de Oliveira (2010) relatam teores de ácido palmítico de 20,73% e 50,30 % para o ácido oleico em estudo com o mesmo cultivar deste trabalho, assim como também apontam valores de 28,06% em teor de ácido palmítico e 31,77% de ácido oleico para o cultivar Ouro Verde.

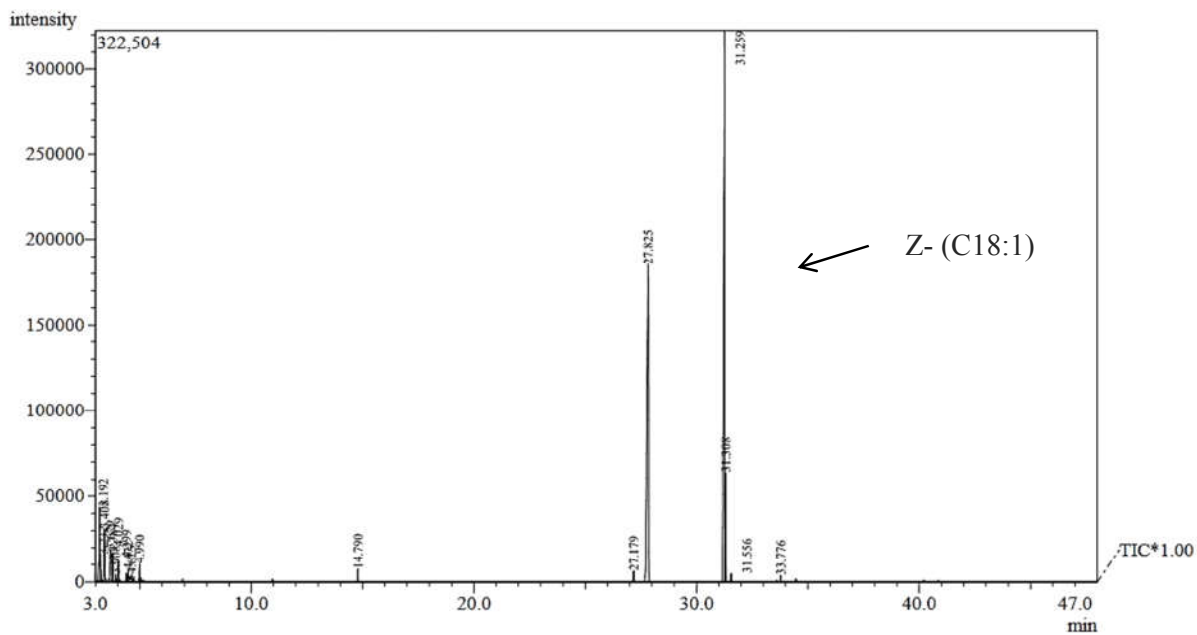


Figura 2. Cromatograma dos ácidos graxos de OAPS.

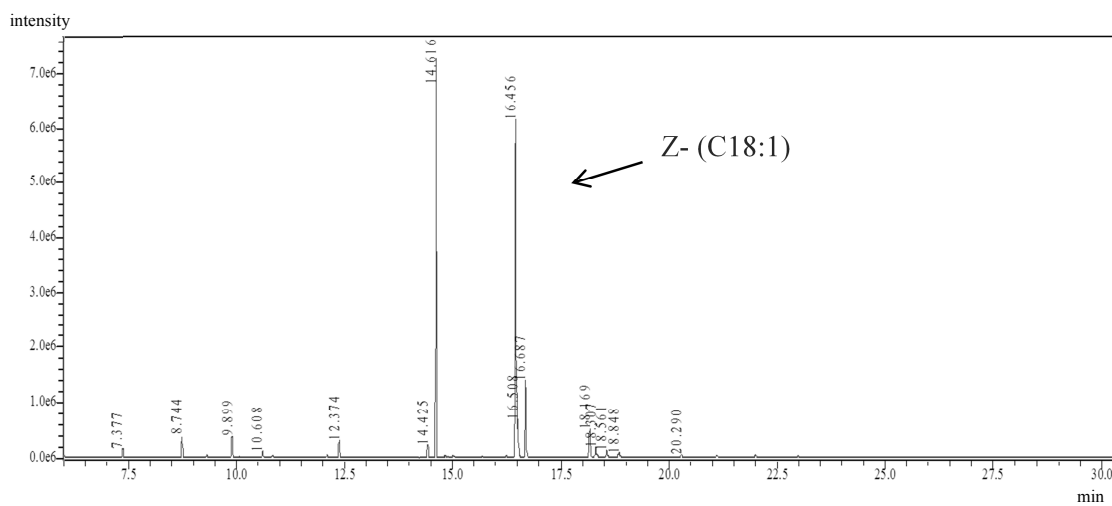


Figura 3. Cromatograma dos ácidos graxos de OAPF.

Salas (2000) em uma revisão descreve o óleo da polpa do abacate com teores de 9 a 13% de ácido palmítico, 69 a 74% de ácido oleico e 10 a 14% de ácido linoleico. Os valores encontrados para OAPS são superiores ao intervalo citado para o ácido palmítico e inferiores para o ácido oleico. A composição em ácidos graxos do óleo de abacate é próxima ao óleo de oliva, principalmente quanto aos altos níveis de ácido oleico, que no óleo de oliva é descrito com valores variando de 61 – 71% (CANTO et al., 1980; SOARES et al., 1992)

O óleo de abacate apresenta teores significativos de ácido graxo ômega (principalmente ômega – 9) que parece apresentar efeitos benéficos na prevenção de doenças cardiovasculares. Estudos mostram que o consumo de dietas ricas em gorduras monoinsaturadas (ácido oleico), em substituição de gorduras saturadas, exerce seletivos efeitos fisiológicos sobre humanos, reduzindo os níveis de colesterol total, de triglicérides e de LDL-colesterol, sem alterar a fração HDL-colesterol do plasma (SOUZA et al., 2013).

Embora a maioria dos ácidos graxos insaturados ocorra naturalmente na configuração *Z*, as ligações duplas na configuração *E* são formadas no sistema digestivo de ruminantes, sendo portando, uma pequena quantidade de ácidos graxos insaturados *E* (principalmente ácido vacênico) está presente em produtos derivados da carne e leite desses animais. Pequenas quantidades de isômeros *E* podem ser formadas durante reações químicas, como a oxidação que ocorre na extração, refinação e armazenamento dos óleos vegetais (NAKAMURA et al., 2017). Costa Machado; Paes Chaves e Antoniassi (2006) encontraram teor de ácido elaídico de 3,83 % e 6,49% em estudo com óleos de coco babaçu. Valores estes, semelhantes ao citado neste trabalho.

5.3 Parâmetros físico – químicos

A Tabela 2 (p.35) mostra a determinação de alguns dos principais índices físico-químicos das amostras de óleo testadas. Os valores foram satisfatórios se comparados com estudos similares e enquadrando-se em certas exigências da legislação brasileira RDC 270/2005 da ANVISA (BRASIL, 2005). Os resultados das duas amostras analisadas não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si ($p > 0,05$).

Tabela 2 – Índices físico-químicos de OAPS e OAPF.

*Acidez em ácido oleico (g/100g)		*Índice de Saponificação (mg KOH/Kg)		*Índice de Refração (n_D^{20})	
OAPS / OAPF		OAPS / OAPF		OAPS / OAPF	
0,47 ± 0,09 ^a	0,49 ± 0,06 ^a	265,12 ± 2,81 ^b	217,68 ± 1,84 ^b	1,471 ± 0,01 ^c	1,467 ± 0,05 ^c

* Valores médios ± desvio padrão seguidos por letras iguais nas colunas não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O parâmetro de acidez está diretamente relacionado com a natureza e qualidade da matéria-prima (fruto), com a qualidade e o grau de pureza dos lipídeos e com o processamento. A acidez pode ser influenciada pela maturação e estocagem, ação enzimática, e tipo de extração do óleo. O teor de acidez é um parâmetro físico – químico importante, porém a análise isolada deste parâmetro não é suficiente (RAMIREZ-TORTOSA; GRANADOS; QUILES, 2006).

Os índices de acidez baixos apresentados para ambas as amostras, indicam que os óleos são provenientes de uma matéria-prima de boa qualidade. Chaves et al. (2013) encontraram valores de 0,93% de acidez para abacates da variedade Margarida. Mello e Pinheiro (2012), em estudo com azeite de oliva, relatam teor de acidez de 0,38 em ácido oleico (g/100g), sendo o valor de 0,8 em ácido oleico (g/100g) estabelecido pela Legislação Brasileira para o azeite de oliva extra virgem (BRASIL, 2005).

O índice de saponificação é uma indicação da quantidade relativa de ácidos graxos de alto e baixo peso molecular. Os ésteres de baixo peso molecular requerem mais álcali para a saponificação, portanto o índice de saponificação é inversamente proporcional ao peso molecular dos ácidos graxos presentes (CARDOSO, 2010).

De acordo com a Tabela 2, as amostras testadas apresentaram valores muito próximos entre si, porém acima da faixa estabelecida pela ANVISA, RDC nº 270/2005.20 (184 – 196 mg KOH/kg), indicando que os óleos contêm uma composição predominante em ácidos graxos de baixo peso molecular. Importante salientar que a resolução da ANVISA (BRASIL, 2005) não faz nenhuma alegação para o óleo de abacate. Mas esses valores se aplicam a todos os óleos comestíveis do país. Salgado et al.(2008) observaram que a variação nos índices de saponificação do óleo bruto e do óleo neutralizado de abacate da variedade Margarida situaram-se entre 176 e 190 mg de KOH.g⁻¹ de amostra.

A determinação do índice de refração é característica para cada tipo de óleo e está relacionada com o grau de saturação das ligações, compostos de oxidação e tratamento térmico. Este índice aumenta com o aumento do número de duplas ligações conjugadas e com o tamanho da cadeia de hidrocarboneto. Também valores altos do índice de refração podem indicar a presença de possíveis impurezas. Conforme o índice de refração diminui aumenta o grau de saturação (MORETTO; FETT, 1998). As amostras analisadas mostraram valores dentro dos limites exigidos pela legislação vigente (BRASIL, 2005), onde o mínimo aceitável é igual a 1,4677 à temperatura de 40°C.

5.4 Ensaio antioxidantes

5.4.1 Captura do radical livre DPPH

Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante de OAPS e OAPF, determinada via radical DPPH, estão representados nas Figuras 4 e 5 (p.37). Foi realizado controle positivo com o BHT, padrão sintético utilizado para a atividade antioxidante, assim como também se utilizou o ácido ascórbico como um padrão natural. Nenhuma das amostras avaliadas apresentou significativa capacidade antioxidante ($AA < 10\%$). O valor da EC_{50} , quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%, foi de $146,57 \pm 1,59 \mu\text{g/mL}$ para OAPS e de $151,92 \pm 1,35 \mu\text{g/mL}$ para OAPF, valores significativamente mais elevados que os controles (Tabela 3, p.38).

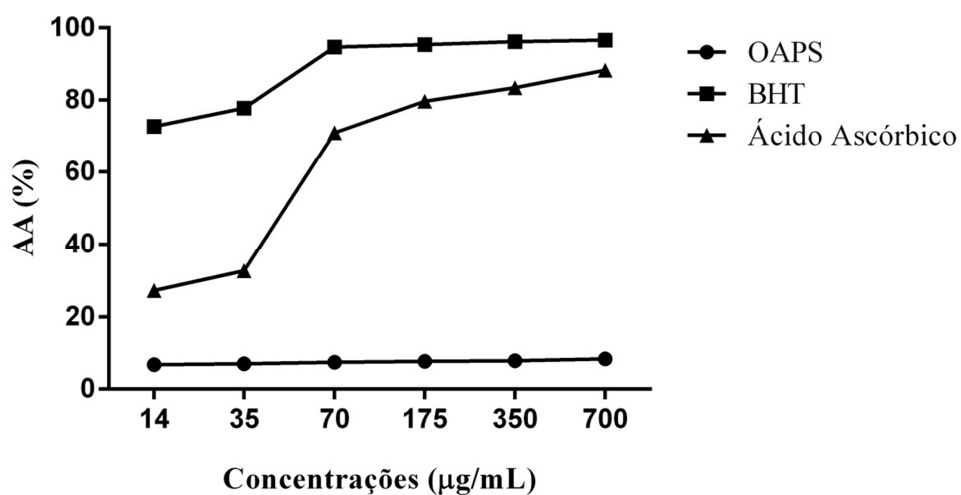


Figura 4 – Atividade antioxidante (AA%) pelo sequestro do radical livre DPPH para o OAPS.

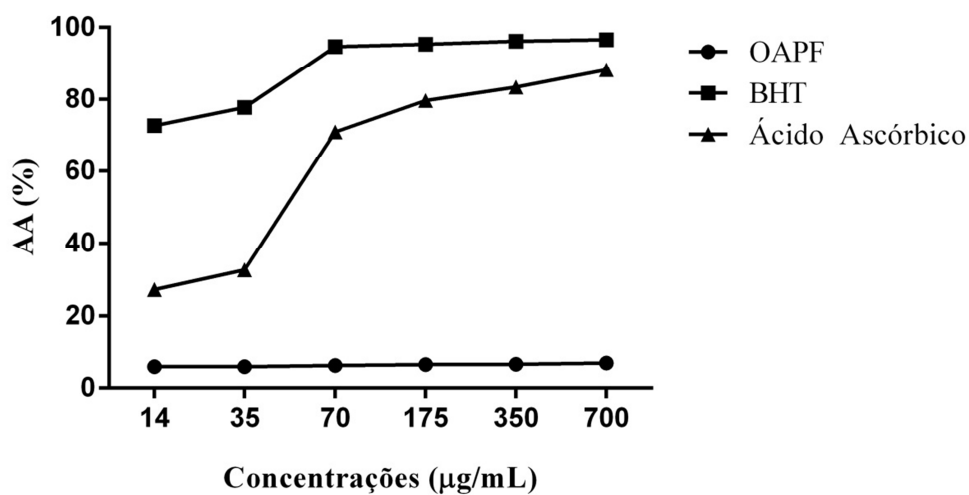


Figura 5 – Atividade antioxidante (AA%) pelo sequestro do radical livre DPPH para o OAPF.

Tabela 3– Valores de EC₅₀ para OAPS e OAPF pelo método de sequestro do radical livre DPPH.

Amostras	*EC ₅₀ (µg/mL)
OAPS	146,57 ± 1,59 ^a
OAPF	151, 92 ± 1,35 ^a
BHT	2.15± 0,05 ^b
Ácido ascórbico	17.46 ± 2,10 ^c

* Valores médios ± desvio padrão seguidos por letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey (p < 0,05).

A literatura mostra que a maioria dos estudos antioxidantes realizados com o abacate objetiva principalmente a avaliação dos compostos hidrofílicos, a exemplo de Vieites; Daiuto e Fumes (2012) que mostraram a AA em abacates da variedade Fuerte pelo método do DPPH, com valores que variaram de 17,6 a 68,7%. Para o cultivar Hass, valores médios de AA de 20,0 a 32,5 % foram relatados por Daiuto et al. (2012).

Wu et al., (2004), avaliando a ação antioxidante de frutas disponíveis no mercado dos Estados Unidos, evidenciaram que a fração hidrofílica, na qual os compostos fenólicos predominavam, apresentou a maior capacidade de sequestrar radicais livre do que a fração lipofílica. Estes autores ressaltam ainda que os compostos fenólicos da fração hidrofílica são responsáveis por mais de 90% da capacidade antioxidante total das frutas estudadas.

Abaide et al. (2017) em estudo realizado com o óleo de abacate extraído por fluidos pressurizados obtiveram atividade antioxidante com variações de 8,9 a 31,6% para o óleo extraído por GLP comprimido, enquanto que para o óleo extraído por CO₂ supercrítico variou de 17,4 a 82,5%, para abacates do mesmo cultivar (Fortuna), ressaltando a influência do método e solventes utilizados no processo de obtenção do óleo.

Como descrevem Pérez-Jiménez e Saura-Calixto (2006), as diferenças observadas na atividade antioxidante, quando são utilizados diferentes solventes extratores, podem ser maiores se a amostra analisada for um alimento, visto que representa uma matriz complexa de diferentes componentes, que podem estabelecer, entre si e com os solventes, inúmeras e diferentes interações.

Corral-Aguayo et al. (2008) reportam baixa atividade mensurada pelo método do DPPH em extratos lipofílicos quando em comparação aos hidrofílicos, em diversas frutas tropicais como manga, abacate e mamão. Ainda em relação as amostras de caráter lipofílico, foi observado que ácidos graxos podem atuar como antioxidantes, sendo o potencial para tanto, dependente do seu grau de instauração (RICHARD et al., 2008), corroborando com os baixos índices de atividade do óleo de abacate, uma vez que seu componente majoritário é monoinsaturado.

5.4.2 Captura do radical livre $ABTS^{\cdot+}$

Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante de OAPS e OAPF, determinada via radical $ABTS^{\cdot+}$, estão representados na Tabela 4. Como referência, foi utilizado o Trolox, e a AA expressa em μM trolox/g amostra.

Tabela 4 – Valores de atividade antioxidante para OAPS e OAPF pelo método de sequestro do radical livre $ABTS$

Amostras	*AA (μM trolox/g)
OAPS	8710,08 \pm 16,14 ^a
OAPF	4440,25 \pm 20,35 ^b

* Valores médios \pm desvio padrão seguidos por letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Observou-se diferença significativa ($p < 0,05$), sendo que OAPS apresentou melhor desempenho quando comparado com OAPF. Em consonância com os nossos resultados, Miraliakbari e Shahidi (2008), utilizando-se do mesmo ensaio, descobriram que o óleo de peçã extraído com hexano ou clorofórmio: metanol apresentou maior capacidade antioxidante em relação aos óleos de nozes prensados a frio.

Resultado semelhante foi descrito por Villa - Rodríguez et al. (2011), que em estudo utilizando extrato lipofílico de abacate da variedade Hass, encontraram 8996.34 μM trolox/g. Floegel et al. (2011) relatam 7000 μM trolox/g para extrato metanólico de abacate.

Rufino et al. (2010), em estudo com 18 extratos metanólicos de variedades de frutas tropicais, demonstram pelo método do ABTS resultados variando de 6.3 – 153 μM trolox/g para amostras frescas e 16.4 - 1237 μM trolox/g para amostras liofilizadas, em ambos os casos destacando-se o camu – camu. Os valores obtidos em nosso estudo estão acima dos intervalos mencionados anteriormente. Reforçando esta observação, Castelo-Branco e Torres (2012) avaliaram a atividade antioxidante de óleos refinados pelo método ABTS e verificaram que a fração lipofílica proporciona uma maior contribuição para a capacidade antioxidante das amostras testadas por esse método.

Em estudo mais recente sobre a capacidade antioxidante de óleos vegetais, Castelo - Branco et al. (2016) indicaram o papel essencial do conteúdo de tocoferóis (vitamina E) para um desempenho satisfatório nas avaliações pelo método ABTS, e no aumento da estabilidade oxidativa dos óleos. O abacate tem apreciáveis qualidades nutricionais sendo rico em lipídios, vitaminas e fibras, sendo que o conteúdo de vitamina E encontrado em seu óleo chega a 6,04 mg.100 g⁻¹ de óleo, sob a forma de α -tocoferol, constituindo-se numa boa fonte desta vitamina uma vez que a Ingestão Diária Recomendada (IDR) para a vitamina E é de 10 mg de α - tocoferol. (ARRIOLA; MENCHÚ; ROLZ, 1979; DAIUTO et al., 2012; SALGADO et al., 2008). Sendo cabível, a associação entre os bons níveis de vitamina E no óleo do abacate com seu apreciável resultado para o método ABTS.

Vale ressaltar que a atividade antioxidante pode depender de vários fatores, incluindo a formação e estabilidade dos radicais, assim como a biodisponibilidade dos antioxidantes e as mais diversas interferências ambientais presentes em distintas fases do processamento de alimentos (ROCKENBACH et al.,2008).

5.4.3 Método de redução do ferro (FRAP)

Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante de OAPS e OAPF, determinada pela capacidade de redução do ferro, estão representados na Tabela 5 (p.41). A curva de calibração foi feita com sulfato ferroso, e os resultados foram expressos em μM sulfato ferroso/mg de amostra.

Tabela 5 – Valores de atividade antioxidante para OAPS e OAPF pelo método redução do ferro (FRAP)

Amostras	*AA ($\mu\text{M Fe}_2\text{SO}_4/\text{mg}$)
OAPS	50,58 \pm 0,45 ^a
OAPF	60,84 \pm 0,26 ^b

* Valores médios \pm desvio padrão seguidos por letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Neste ensaio, a atividade antioxidante é determinada com base na capacidade de uma determinada substância em reduzir o ferro férrico (Fe^{3+}) ao ferro ferroso (Fe^{2+}) e inicialmente foi proposto para medir a capacidade antioxidante total de plasma, mas tem sido frequentemente usado para uma avaliação rápida da capacidade antioxidante total de vários alimentos e bebidas (FIRUZI et al., 2005; WONG et al., 2006).

Diferença significativa ($p < 0,05$) foi observada, sendo que para este ensaio OAPF apresentou melhor desempenho quando comparado com OAPS. Divergindo dos resultados apresentados, Wang et al. (2012), obtiveram valores muito baixos de atividade redutora do ferro para extratos etanólicos de abacates da variedade Hass (2,46 – 2,96 $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$).

Teste realizado com vitaminas hidrossolúveis aponta que, mesmo sua atividade tenha sido muito baixa, apenas o ácido fólico mostrou capacidade de redução de Fe^{3+} (GLISZCZYNSKA-SWIGLO, 2006). Este resultado aponta uma das probabilidades para o menor efeito do extrato etanólico, uma vez que grande parte da atividade antioxidante de frutas esta associada ao conteúdo de vitaminas hidrossolúveis e estas se provaram ineficazes no ensaio de FRAP.

Em estudo recente, Leão et al. (2017), mostraram a capacidade antioxidante por FRAP, para farinhas produzidas a partir do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), com valor variando entre 30,27 – 32, 16 $\mu\text{M Fe}_2\text{SO}_4/\text{mg}$. Extratos das 30 plantas medicinais chinesas foram avaliados usando o teste de FRAP, e uma ampla variedade de valores foi encontrada. Para os extratos aquosos, a atividade antioxidante variou de 1,9 a 532 $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ (WONG et al., 2006).

Moreno; Ortiz e Restrepo (2014), averiguaram para o extrato hidrofílico de abacate, o melhor resultado entre todas as seis amostras de frutas, para o teste realizado com DPPH e o pior resultado quando empregada a metodologia de FRAP. Relação inversa foi observada em nossas análises dos óleos, onde o ensaio com o DPPH apresentou os piores resultados.

A literatura ainda é escassa no que se refere a atividade antioxidante de óleo fixo, sendo o seu desempenho associado a compostos como os carotenoides e tocoferóis, mais facilmente encontrados em extratos lipofílicos, assim como os ácidos graxos insaturados (WANG; BOSTIC; GU, 2010).

5.4.4 Atividade quelante de íons Fe^{2+}

Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante de OAPS e OAPF, determinada pela capacidade quelante de íons ferro (AQ%), estão representados na Figura 6.

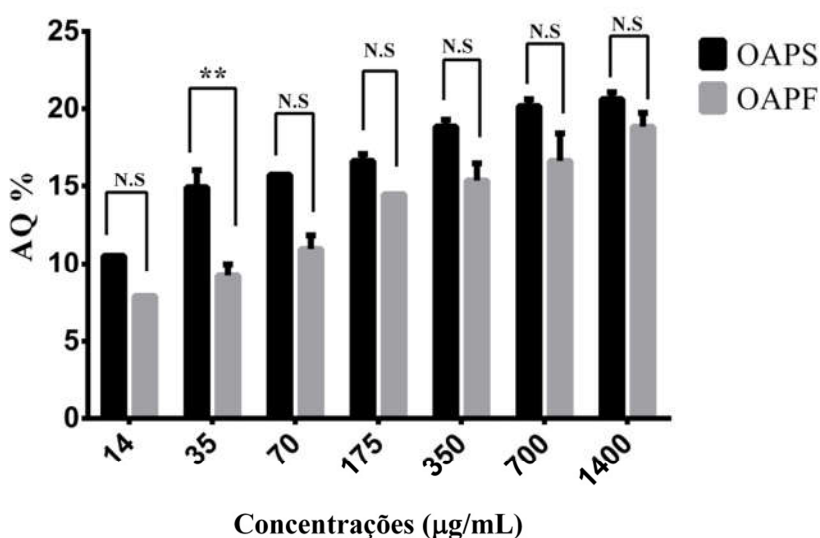
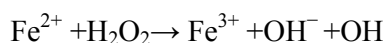


Figura 6 – Atividade antioxidante pela capacidade quelante de íons ferro. Os valores são expressos como média \pm S.E.M. (N = 3).** Diferença estatisticamente significativa para a mesma concentração de amostras diferentes (ANOVA e Tukey test - $p < 0,05$). N.S - Valor estatístico não significativo, $p > 0,05$.

Embora o ferro seja um elemento essencial para os organismos vivos, o excesso deste pode levar a níveis mais altos de espécies reativas de oxigênio. Entre os metais de transição, o

ferro é conhecido como o prooxidante de oxidação lipídica mais importante devido à sua alta reatividade. O estado ferroso do ferro acelera a oxidação lipídica pela degradação de hidrogênio e peróxidos lipídicos em radicais livres reativos através da reação de Fenton:



(MILLER, 1996). A ferrozina pode formar complexos com Fe^{2+} e na presença de agentes quelantes, a formação do complexo é interrompida, resultando em uma diminuição da cor vermelha do complexo. Portanto, a medição espectrofotométrica de cor permite estimar a atividade quelante de metal da amostra analisada. A menor absorbância indica maior atividade de quelação de metais (HUANG, 2003).

A resposta foi dependente da concentração (com o aumento da concentração houve aumento da resposta). Diferença significativa ($p < 0,05$) foi observada, na concentração de 35 $\mu\text{g}/\text{mL}$, sendo que para esta concentração OAPS apresentou melhor desempenho, mas de maneira geral as amostras testadas obtiveram resultados semelhantes, com AQ máximas de $20,61\% \pm 0,76$ e $18,85\% \pm 1,52$ para OAPS e OAPF respectivamente, sendo este o primeiro relato de atividade quelante do óleo fixo de *Persea americana*.

Apetrei et al.(2011), em estudo a espécie *Pinus cembra* L. (pinheiro) no extrato de 500 $\mu\text{g} / \text{mL}$ não houve efeitos quelantes, enquanto que a 4.000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ a atividade quelante foi de $99,03 \pm 0,59\%$. Sousa et al. (2015) estudando extratos de *Lantana camara* e *Lantana montevidensis* apontam atividade quelante na concentração de 250 $\mu\text{g} / \text{mL}$ com valores de 50,84/56,54% para os extratos das folhas e 33.75/ 36.92% para os extratos das raízes.

Gülçin (2006) mostrou em seu estudo que o ácido cafeico exibiu 53,2% de quelação de íon ferroso a uma concentração de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e as porcentagens de capacidade quelante nessa mesma concentração para o BHT, α -tocoferol e trolox foram de 64,3, 21,6 e 48,5%, respectivamente. Embora em uma concentração inferior, o resultado encontrado para o α -tocoferol foi similar a nossa atividade máxima verificada, podendo-se relacionar a atividade quelante à presença deste composto nos óleos, embora o mesmo não seja seu constituinte majoritário, uma vez que o óleo se trata de uma matriz complexa.

Atribuímos também parte da atividade quelante de OAPS e OAPF ao grupo carboxila presente nos ácidos graxos, tendo sido relatado que compostos com estruturas contendo dois ou mais dos seguintes grupos funcionais: $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{PO}_3\text{H}_2$, $-\text{C}=\text{O}$, $-\text{S}$ e $-\text{O}-$ em

uma configuração estrutural favorável podem mostrar atividade quelante de metal (LINDSAY, 1996; YUAN et al., 2005).

São muitas as metodologias para a determinação da capacidade antioxidante e todas estão sujeitas a diversas interferências. Dessa forma, levando-se em conta as particularidades e aplicabilidade de cada tipo de ensaio, preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas, já que nenhum ensaio usado isoladamente irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma amostra (ROCHA et al., 2012).

5.5 Testes microbiológicos

5.5.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

No teste *in vitro* verificou-se que os óleos apresentaram atividade inibitória frente a *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692), com CIM de 64µg/mL e 256µg/mL para OAPS e OAPF, respectivamente. Para *Streptococcus mutans* (ATCC 00446) apenas OAPS demonstrou atividade inibitória com CIM de 512µg/mL.

Todavia, os óleos não apresentaram atividade antimicrobiana em concentrações clinicamente relevantes frente às linhagens de *Bacillus cereus* (ATCC 33019), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Escherichia coli* (ATCC 10536) e *Salmonella choleraesuis* (ATCC 13314) com CIM ≥ 1024 µg/mL para estes microrganismos (Tabela 6). Este é o primeiro relato de atividade antibacteriana do óleo fixo de *Persea americana*.

Tabela 6 – Valores da CIM (µg/mL) de OAPS e OAPF frente a bactérias padrões

Bactérias	CIM (µg/mL)	
	OAPS	OAPF
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 12692)	64	256
<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 00446)	512	≥ 1024
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 33019)	≥ 1024	≥ 1024
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536)	≥ 1024	≥ 1024
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 15442)	≥ 1024	≥ 1024
<i>Salmonella choleraesuis</i> (ATCC 13314)	≥ 1024	≥ 1024

Ácidos graxos apresentam propriedades antibacterianas e antifúngicas, principalmente os insaturados, por afetarem a síntese endógena dos ácidos graxos bacterianos (AGARAMOOTRHY et al., 2007; ZHENG et al., 2005). Bergsson et al. (2001) demonstraram que ácidos graxos apresentaram atividade fungicida para linhagens de *Candida albicans* através da ruptura ou desintegração das suas membranas plasmáticas.

A bactéria Gram-positiva *S. aureus* foi a mais sensível em comparação com as demais linhagens. Todas as bactérias Gram-negativas mostraram-se resistentes. Estes resultados concordam com os encontrados na literatura que demonstram que as bactérias Gram-negativas são mais resistentes à ação de produtos naturais, como extratos e óleos essenciais (VERAS et al., 2013). Shukla et al. (2016) em estudo do extrato lipofílico das folhas e caule de *Cassia tora* também observaram melhor atividade frente à bactéria *S. aureus* Miranda et al. (2015) reforçam em sua pesquisa com extratos etanólicos e metanólicos de *Montrichardia linifera* (arruda) a maior sensibilidade referida às bactérias Gram – positivas.

Rosas-Piñón et al. (2012), analisando os extratos etanólicos e aquosos de 50 plantas da medicina popular mexicana, obtiveram maior perfil de resistência para Gram – positivas destacando – se *Streptococcus mutans*. Entre as plantas analisadas estava *P. americana* que apresentou valores de CIM de 32,5 e 65 µg/mL para o extrato aquoso e etanólico respectivamente.

A resistência das bactérias Gram-negativas em relação aos óleos está relacionada à superfície hidrofílica de sua membrana externa rica em moléculas de lipopolissacarídeos, apresentando uma barreira à penetração de substâncias antibacterianas de caráter lipofílico e também está associada a enzimas no espaço periplásmico, que são capazes de quebrar as moléculas introduzidas a partir do exterior (HASENACK et al., 2008; HOLLEY; PATEL, 2005)

5.5.2 Interferência sobre a resistência aos antibióticos (modulação)

Foi utilizada para este ensaio a linhagem Gram – positiva com melhor resultado de CIM, no caso *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692) e uma Gram – negativa de interesse clínico, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442).

Na atividade modificadora de antibióticos evidenciamos redução significativa ($p < 0,05$) dos valores de CIM quando comparada ao controle, sugerindo efeito sinérgico na associação de OAPS e OAPF com a amicacina para ambas as linhagens bacterianas avaliadas.

Para *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692) houve ainda sinergismo na associação de OAPS e OAPF com a benzilpenicila. Não foi observado efeito antagônico (Figuras 7 e 8).

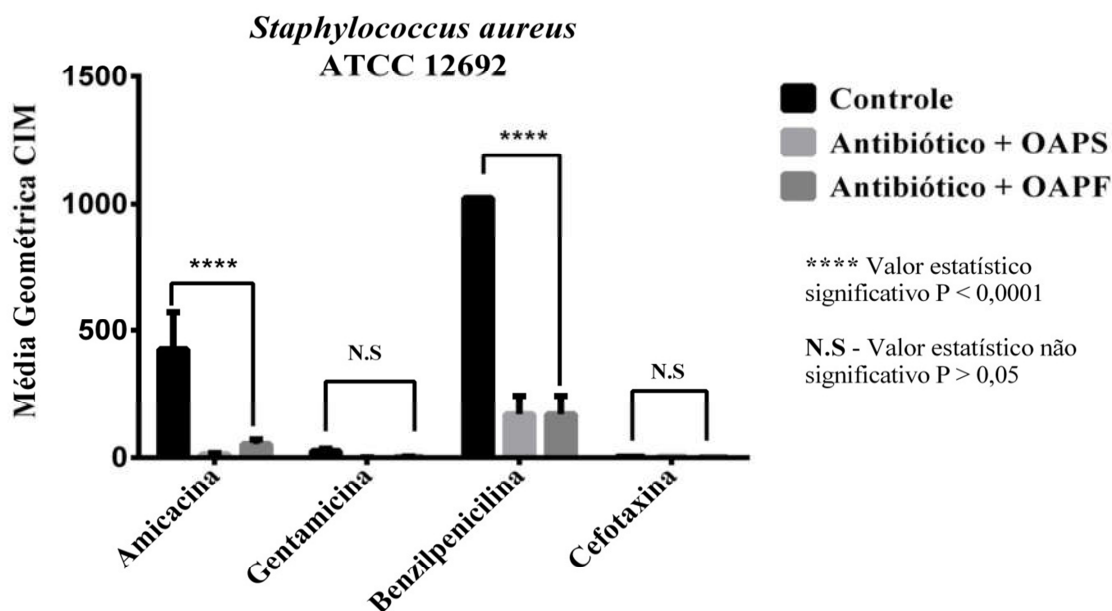


Figura 7 – Efeito modulador do OAPS e OAPF contra *Staphylococcus aureus* com os antibióticos amicacina, gentamicina, benzilpenicilina e cefotaxina.

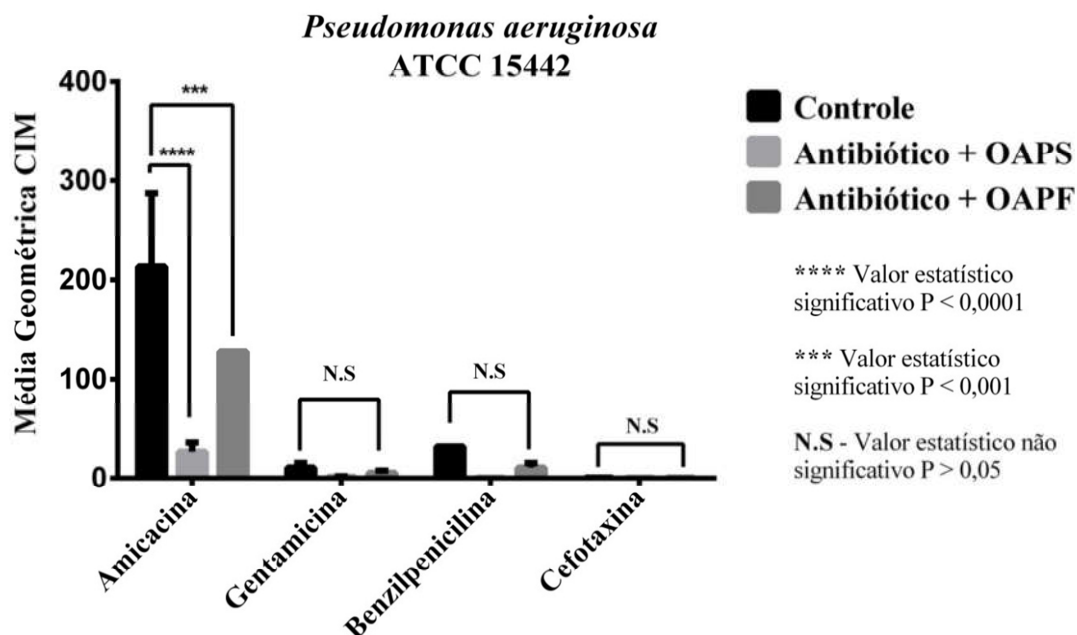


Figura 8 – Efeito modulador do OAPS e OAPF contra *Pseudomonas aeruginosa* com os antibióticos amicacina, gentamicina, benzilpenicilina e cefotaxina.

Os antibióticos da classe dos aminoglicosídeos são parte importante do arsenal terapêutico antibacteriano desde seu descobrimento, na década de 40 (KALOYANIDES; RAMSAMMY, 1993). Todos os aminoglicosídeos apresentam o mesmo mecanismo de ação, exercendo seu efeito bactericida ao se ligarem à subunidade 30S do ribossomo bacteriano, levando à falhas no processo de síntese proteica (OLIVEIRA; CIPULLO; BURDMANN, 2006).

As bactérias podem apresentar resistência à atividade dos aminoglicosídeos em virtude da diminuição da permeação do antibiótico, da baixa afinidade do fármaco ao sítio de ligação (devido a alterações no ribossomo bacteriano) ou a inativação do fármaco por enzimas microbianas. Sendo este último mecanismo nitidamente a explicação mais importante para a resistência encontrada na prática clínica (MINGEOT-LECLERCQ; GLUPCZYNSKI; TULKENS, 1999).

Devido a sua natureza polar, os aminoglicosídeos apresentam dificuldades em atravessar membranas biológicas que não tenham um mecanismo de transporte (VAKULENKO; MOBASHERY, 2003). O efeito sinérgico dos óleos com esta classe de antibióticos pode ser justificado em parte à natureza hidrofóbica dos componentes de OAPS e OAPF, que quimicamente apresentam maior afinidade e capacidade de interação com a bicamada lipídica da membrana celular bacteriana, permeabilizando-a e aumentando a penetração de antibióticos (BURT, 2004). Corroborando com estas observações, Matias et al. (2011), ao comparar os extratos metanólico e hexânico de *Ocimum gratissimum* obteve uma combinação mais eficiente entre o extrato hexânico e os aminoglicosídeos avaliados.

Apesar de seu mecanismo de ação seletivo, os aminoglicosídeos são extremamente tóxicos. A nefrotoxicidade e ototoxicidade são mais frequentemente observadas. O mecanismo exato da toxicidade destes antibióticos é desconhecido, embora se saiba que eles se acumulam nas células corticais renais sendo capazes de provocar danos aos túbulos proximais e a nefrotoxicidade é dose dependente (WATANABE et al., 2004). Constituindo assim de grande relevância o achado de substâncias que potencializem o efeito destes antimicrobianos, não somente pela questão da resistência bacteriana como também os problemas decorrentes de sua toxicidade (OLIVEIRA et al., 2010).

Os beta-lactâmicos são um grupo de antibióticos que atuam bloqueando a síntese da parede celular bacteriana, sendo uma classe de elevada importância devido à sua excelente eficácia terapêutica e baixa toxicidade (SUAREZ; GUDIOL, 2009). Infelizmente o uso desses antibióticos enfrenta grave obstáculo devido à existência das beta-lactamases, consideradas

como as armas bacterianas mais eficazes, com capacidade de hidrolisar os beta –lactâmicos, sendo que a primeira beta-lactamase foi identificada em *S.aureus* em 1944, e muitas outras foram descobertas desde então (ZEBA, 2004).

O significativo efeito sinérgico dos óleos com esta classe de antibióticos frente à linhagem de *S.aureus* avaliada pode ser justificado devido à capacidade dos componentes de OAPS e OAPF em provocar distorções na estrutura física da célula, causando expansão e consequente desestabilização da membrana, além de interferência com sistemas de enzimas bacterianas que também pode ser considerado um potencial mecanismo de ação (HELANDER et al., 1998; JUVEN et al., 2004).

Constitui-se assim de grande relevância o achado de substâncias que potencializem o efeito destes antimicrobianos, principalmente pela questão da frequente resistência bacteriana que impossibilita seu uso para um espectro maior de infecções, sendo que estes apresentam grande vantagem por possuírem baixa toxicidade (TAYLOR, 2013).

6. CONCLUSÕES

1. O óleo de *P. americana* extraído tanto com solvente em aparelho Soxhlet como por prensagem a frio em prensa hidráulica, apresentou uma maior proporção de ácidos graxos insaturados que a de ácidos graxos saturados, sendo o ácido oleico o principal constituinte em ambos os óleos.
2. Os índices físico-químicos das amostras de óleo testadas foram satisfatórios e indicam que os óleos são provenientes de uma matéria- prima de boa qualidade. Os resultados das duas amostras analisadas não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si ($p > 0,05$). O índice de acidez para OAPS e OAPF foi de $0,47 \pm 0,09$ e $0,49 \pm 0,06$ (g/100g) respectivamente. O índice de saponificação foi de $265,12 \pm 2,81$ (mg KOH/kg) para OAPS e $217,68 \pm 1,84$ (mg KOH/kg) para OAPF. O índice de refração obteve valores de $1,471 \pm 0,01$ e $1,467 \pm 0,05$ (n_D^{20}) para OAPS e OAPF respectivamente.
3. Os testes antioxidantes indicam que pelo método de captura do radical DPPH, nenhuma das amostras avaliadas apresentou significativa capacidade antioxidante ($AA < 10\%$). O valor da EC_{50} foi de $146,57 \pm 1,59$ μ g/mL para OAPS e de $151,92 \pm 1,35$ μ g/mL para OAPF.
4. Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante determinada via radical $ABTS^{\cdot+}$, mostram boa atividade para ambas as amostras, sendo que OAPS apresentou melhor desempenho ($8710,08 \mu$ M trolox/g) quando comparado ao OAPF ($4440,25 \mu$ M trolox/g).
5. Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante determinada pela capacidade de redução do ferro mostram boa atividade para ambas as amostras, sendo que OAPF apresentou melhor desempenho ($60,84 \mu$ M Fe_2SO_4 /mg) quando comparado ao OAPS ($50,58 \mu$ M Fe_2SO_4 /mg).
6. Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante determinada pela capacidade quelante do ferro mostram que a resposta foi dependente da concentração

(com o aumento da concentração houve aumento da resposta), e de maneira geral as amostras testadas obtiveram resultados semelhantes, com AQ máximas de $20,61\% \pm 0,76$ e $18,85\% \pm 1,52$ para OAPS e OAPF respectivamente.

7. Os resultados dos testes microbiológicos indicam que os óleos apresentaram atividade inibitória frente à *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692), com CIM de $64\mu\text{g/mL}$ e $256\mu\text{g/mL}$ para OAPS e OAPF respectivamente. Para *Streptococcus mutans* (ATCC 00446) apenas OAPS demonstrou atividade inibitória com CIM de $512\mu\text{g/mL}$. Todavia os óleos não apresentaram atividade antimicrobiana em concentrações clinicamente relevantes frente às linhagens de bactérias Gram – negativas avaliadas.
8. Quando combinados com antibacterianos OAPS e OAPF demonstraram atividade sinérgica com a amicacina frente às linhagens de *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442). Para *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692) houve ainda sinergismo na associação de OAPS e OAPF com a benzilpenicila. Não foi observado efeito antagônico.

7. REFERÊNCIAS

ABAIDE, E. R.; ZABOT, G. L.; TRES, M.V.; MARTINS, R.F.; FAGUNDEZ, J.L.; NUNES, L. F.; DRUZIAN, S.S.; JULIANA, F.; DAL PRÁ, V.; SILVA, J.R.F.; KUHN, R. C.; MAZUTTI, M.A. Yield, composition, and antioxidant activity of avocado pulp oil extracted by pressurized fluids. **Food and Bioproducts Processing**, v. 102, p. 289–298, 2017.

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy**. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, 2001.

AGORAMOOTRHY, G.; CHANDRASEKARAN, M.; VENKATESALU, V.; HSU, M.J. Antibacterial and antifungal activities of fatty acid methyl esters of the bilnd-your-eye mangrove from India. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 739-742, 2007.

AHMED, E. M.; BARMORE, C. R. Avocado. In: NAGY, S.; SHAW, P.E.; WARDOWSKI, W.F. (Ed.) **Fruits of tropical and subtropical origin: composition, properties and uses**. Lake Alfred: AVI Publishing, p. 121-156, 1990.

ALBERTS, B, JOHNSON, A., LEWIS, J., RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Biologia Molecular da Célula**. 5a Edição, Editora Artmed, Porto Alegre, 2010.

ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A.A.; MATOS, F.J.A.; MACHADO, M. I. L. Kovats índices simulation in essential oils analysis. **Química Nova**, v. 13, p. 282-284, 1990.

ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A.A.; MATOS, F.J.A. Kovats indices as a preselection routine in mass sepectra library search of volatiles. **Journal of Natural Products**, v. 47, p. 890-892, 1984.

ANDLAUER, W.; FÜRST, P. Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook. **Food Research International**. v. 35, p. 171-176, 2002.

APETREI, C. L.; TUCHILUS, C.; APROTOSOAIE, A.C.; OPREA, A.; MALTERUD, K. E.; MIRON, A. Chemical, Antioxidant and Antimicrobial Investigations of *Pinus cembra* L. Bark and Needles. **Molecules**, v. 16, p. 7773–7788, 2011.

ARNAO, M.B. Some methodological problems in determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a pratical case. **Trends in Food & Technology**, London, v. 11, n. 11, p.419 - 421, 2000.

ARRIOLA, M. C.; MENCHÚ, J. F.; ROLZ, C. the Avocado. **Tropical Food: Chemistry and Nutrition**, v. 2, p. 609–624, 1979.

MELO, B. F. Perfil químico e avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana...

AZEVEDO-MELEIRO, C.H.; GONÇALVES, L.A.G. Teores de ácidos graxos trans em gorduras hidrogenadas comerciais brasileiras. **Revista Universidade Rural: Série Ciências Exatas e da Terra**, Seropedica, RJ: EDUR, v. 24, n. 1-2, p. 75-81, 2005.

BARCAROL, L. N.; SANTOS, M. R.; RUBIN, R. H.; LIMA, C. P.; BONATTO, J. G. B.; RECH, L. S.; MARISCO, P. C. Alimentos funcionais e nutraceuticos. In: SEMINÁRIO INSTITUCIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UNIVERSIDADE DE CRUZ ALTA, 17. Rio Grande do Sul, 2012.

BATISTA, A. N. L. de; JUNIOR, J. M. B.; LÓPEZ, S. N.; FURLAN, M.; CAVALHEIRO, A. J.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S. da. Aromatic compounds from three brazilian lauraceae species. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 321-323, 2010.

BERGSSON, G.; ARNFINNSSON, J.; STEINGRÍMSSON, L.; THOMAR, H. *In vitro* killing of *Candida albicans* by fatty acids and monoglycerides. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, v. 45, p. 3209-3212, 2001.

BRAGA, A. D. A. A.; BARLETA, V. C. N. Alimento Funcional : Uma Nova Abordagem Terapêutica das Dislipidemias como Prevenção da Doença Aterosclerótica. **Cadernos UniFOA, Volta Redonda**, n. 3, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução. RDC n. 270, 22 de setembro de 2005. Dispõe sobre regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 23 set, seção 1, n. 184. 2005.

BRUNETON, J. In: **Pharmacognosy, Phytochemistry and Medicinal Plants**. Intercept Ltd., London, England, p. 111-144, 1995.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **Int. J. Food Microbiol.** v.94, p.223–253, 2004.

CANTO, W. L.; SANTOS, L. C.; TRAVAGLINI, M. M. E. **Óleo de abacate: extração, usos e seus mercados atuais no Brasil e na Europa**. Estudos Econômicos. Campinas: ITAL, 144p. (Alimentos Processados, 11), 1980.

CARDOSO, L. G. V. et al. Características físico-químicas e perfil de ácidos graxos de azeites obtidos de diferentes variedades de oliveiras introduzidas no Sul de Minas Gerais, Brasil. **Semina: Ciênc. Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 127-136, 2010

CASTELO-BRANCO, V. N.; SANTANA, I.; DI-SARLI, V.O.; FREITAS, S.P.; TORRES, A. G. Antioxidant capacity is a surrogate measure of the quality and stability of vegetable oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, n. 2, p. 224–235, 2016.

CASTELO-BRANCO, V.N.; TORRES, A.G. Generalized linear model describes Determinants of Total antioxidant capacity of refined vegetable oils. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** v.114, p. 332–342, 2012.

MELO, B. F. Perfil químico e avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana...

CHAVES, M. A.; MENDONÇA, C. R. B.; BORGES, C. D.; PORCU, O. M. Elaboração de biscoito integral utilizando óleo e farinha da polpa de abacate. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, Curitiba**, v. 31, p. 215–226, 2013.

CLSI. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard**—Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

CORRAL-AGUAYO, R.; YAHIA, E. M.; CARRILLO-LOPEZ, A.; GONZALEZ-AGUILAR, G. A. Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n.22, p. 10,498–10,504, 2008.

COSTA MACHADO, G.; PAES CHAVES, J. B.; ANTONIASSI, R. Composição em ácidos graxos e caracterização física e química de óleos hidrogenados de coco babaçu. **Revista Ceres**, v. 53, p. 463–470, 2006.

COUTO, A. N.; WICHMANN, F. M. A. Efeitos da farinha da linhaça no perfil lipídico e antropométrico de mulheres. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 4, p. 601–608, 2011.

COZZOLINO, S. Nutracêuticos: o que significa? **Revista da ABESO**, n. 55, p. 5 – 7, 2012.

DAIUTO, E. R.; CABIA, N. C.; FUMES, J. G. F.; VIEITES, R. L.; CARVALHO, L. R.; GARCIA, M. R. Capacidade anti radical livre e qualidade pós colheita de Abacate 'Hass". **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 14, p. 51–62, 2012.

DAIUTO, E. R.; SIMON, J. W.; VIEITES, R. L.; CARVALHO, L. R.; RUSSO, V. C. Aceitabilidade e viabilidade tecnológica da elaboração de dois produtos de abacate "hass". **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, v. 13, n. 1, p. 66–75, 2012.

DINIS, T.C.P.; MADEIRA, V.M.C.; ALMEIDA, L.M. Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. **Archives of Biochemistry and Biophysics**; v.315, n. 1, 1994.

FERRARI, R. A. Caracterização físico-química do óleo de abacate extraído por centrifugação e dos subprodutos do processamento. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 1, p. 1–6, 2015.

FERREIRA, H.; LALA, E. R. P. *Pseudomonas aeruginosa*: Um alerta aos profissionais de saúde. **Revista Panamericana de Infectología**, v. 12, n. 2, p. 44–50, 2010.

FIRUZI, O.; LACANNA, A.; PETRUCCI, R.; MARROSU, G.; SASO, L. Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by "ferric reducing antioxidant power" assay and cyclic voltammetry. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 1721, n. 1–3, p. 174–184, 2005.

MELO, B. F. Perfil químico e avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana...

FLOEGEL, A.; KIM, D. O.; CHUNG, S. J.; KOO, S. I.; CHUN, O. K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 7, p. 1043–1048, 2011.

FRANÇA, I. S. X.; SOUZA, J. A.; BAPTISTA, R. S.; BRITTO, V. R. S. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, p. 201–208, 2008.

GLISZCZYNSKA-SWIGLO, A. Antioxidant activity of water soluble vitamins in the TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) and the FRAP (ferric reducing antioxidant power) assays. **Food Chemistry**, v. 96, n. 1, p. 131–136, 2006.

GRAÇA, P.; MATEUS, M. P.; LIMA, R. M. O Conceito de Dieta Mediterrânea e a Promoção da Alimentação Saudável nas Escolas Portuguesas. **Revista Nutrícias**, v. 19, n. 1, p. 4–7, 2013.

GÜLÇİN, I. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). **Toxicology**, v. 217, n. 2–3, p. 213–220, 2006.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, London, v. 22, p. 475–477, 1973.

HASENACK, B. S.; SICHINELLI, J. M.; GARCIA, A. F.; GOMES, K. S.; SPITI, S.; COSTA, C. L.; OLIVEIRA, S. P. L. F. Atividade antibacteriana do extrato barbatimão sobre cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de secreções de feridas crônicas de pacientes ambulatoriais **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 10, n. Abril, p. 13–18, 2008.

HELANDER, I.M., ALAKOMI, H.-L., LATVA-KALA, K., MATTILA-SANDHOLM, T., POL, I., SMID, E.J., GORRIS, L.G.M., VON WRIGHT, A. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.3590–3595, 1998.

HOLLEY, R. A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**, v. 22, n. 4, p. 273–292, 2005.

HUANG, X. Iron overload and its association with cancer risk in humans: Evidence for iron as a carcinogenic metal. **Mutation Research**. v.533, p.153-171, 2003.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*, 4. ed. Sao Paulo: IMESP, 2008.

JAVADPOUR, M.M.; JUBAN, M.M.; LO, W.C.; BISHOP, S.M.; ALBERTY, J.B.; COWELL, S.M.; BECKER, C.L.; MCLAUGHLIN, M.L. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, p. 3107-3113, 1996.

KALOYANIDES, G.J.; RAMSAMMY, L.S. Possible role of altered polyamine metabolism in gentamicin toxicity in OK cells. **Contributions to Nephrology**; v.101,p.199-205. 1993.

MELO, B. F. Perfil químico e avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana...

KATE, I. E.; LUCKY, O. O. Biochemical evaluation of the tradomedicinal uses of the seeds of *Persea Americana* Mill., (Family: Lauraceae). **World Journal of Medical Sciences**, Dubai, v. 4, p. 143–146, 2009.

KURUSHIMA, H.; HAYASHI, K.; SHINGU, T.; KUGA, Y.; OHTANI, H.; OKURA Y.; TANAKA, K.; YASUNOBU, Y.; NOMURA, K.; KAJIYAMA, G. Opposite effects on cholesterol metabolism and their mechanisms induced by dietary oleic acid and palmitic acid in hamsters. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1258, p. 251-256, 1995.

LEÃO, D. P.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; BASTOS, R.; COIMBRA, M. A. Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit by-products. **Food Chemistry**, v. 225, p. 146–153, 2017.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 2000. 839p.

LEONEL, S.; SAMPAIO, A. C. **Abacate**: aspectos técnicos da produção. São Paulo: UNESP, Cultura Acadêmica, 239 p. 2008.

LINDSAY, R.C. **Food additives**. In: Fennema, O.R. (Ed.), Food Chemistry. Marcel Dekker Inc., New York, p. 778–780 (Chapter 12). 1996.

LOBO, P. L. D.; MARQUES, L. A. R. V.; GURGEL, M. F.; SOARES, J. L.; FONSECA, S. G. C.; MORAES, M. E. A. Atividade farmacológica do óleo essencial de *Lippia sidoides* em odontologia : uma revisão de literatura. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 8, p. 373–378, 2015.

LUCCHESI, A.A. **Evolução do teor de óleo em frutos de cultivares de abacateiro (*Persea americana*, Miller), em diferentes regiões do Estado de São Paulo**. Tese de Doutorado. E.S.A. "Luiz de Queiroz". Piracicaba, 1975.

MARANHO, L. T.; PREUSSLER, K. H.; ROCHA, L. D. Organização estrutural da casca de *Persea major* (Meisn.) L. E. Kopp (Lauraceae). **Acta Botânica Brasilica**., Curitiba, v.23, n. 2, p. 509-515, 2009.

MARKHAN, J.L. A new method for determine the minimum inhibitory concentration of essential oils. **Journal of applied Microbiology**, v. 84, p. 538-544, 1998.

MARQUES, C. Importância econômica da família Lauraceae Lindl. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 195–206, 2001.

MASSAFERA, G.; BRAGA COSTA, T. M.; DUTRA DE OLIVEIRA, J. E. Composição de ácidos graxos do óleo do mesocarpo e da semente de cultivares de abacate (*Persea Americana*, Mill) da região de ribeirão preto. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 2, p. 325–331, 2010.

MELO, B. F. Perfil químico e avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana...

MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A.; ALMEIDA, T. S.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Phytochemical screening and modulation of antibiotic activity by *Ocimum gratissimum* L. **Biomedicine and Preventive Nutrition**, v. 1, n. 1, p. 57–60, 2011.

MATURANA, V. Reflexões acerca da relação entre a alimentação e o homem. **Revista IGT**, v. 7, p. 176–219, 2010.

MEDINA, J. C. **Abacate: da cultura ao processamento e comercialização**. Campinas: Ital, 1978.

MELLO, L. D.; PINHEIRO, M. F. Aspectos físico-químicos de azeites de oliva e de folhas de oliveira provenientes de cultivares do RS, Brasil. **Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 537–548, 2012.

MENSOR, L. L. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytoterapy Research**, v. 15, 2001.

MILLER, D.D., **Mineral**. In: Fennema, O.R. (Ed.), Food Chemistry. Marcel Dekker, New York, p. 618–649, 1996.

MINGEOT-LECLERCQ M-P.; GLUPCZYNSKI Y.; TULKENS P. M. Aminoglycosides: Activity and Resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 43, n. 4, p. 727-737, 1999.

MIRALIAKBARI, H., SHAHIDI, F., Antioxidant activity of minor components of tree nut oils. **Food Chemistry**. v.111, 421–427, 2008.

MIRANDA, J. A. L.; ROCHA, J.A.; ARAÚJO, K.M.; QUELEMES, P.V.; MAYO, S.J.; ANDRADE, I.M. Atividade antibacteriana de extratos de folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Campinas**, v. 17, n. 4, p. 1142–1149, 2015.

MORAES, F. P.; COLLA L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 3, p. 99-112, 2006.

MORENO, E.; ORTIZ, B. L.; RESTREPO, L. P. Total phenolic content and antioxidant activity of pulp extracts of six tropical fruits. **Revista colombiana de química**, p. 41–48, 2014.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologias de óleos e gorduras vegetal na indústria de alimentos**. São Paulo: editora Varela, 1998.

NAKAMURA, T.; NGUYET, V. T. A.; KATO, S.; ARII, Y.; AKINO, T.; IZAWA, S. Trans 18-carbon monoenoic fatty acid has distinct effects from its isomeric cis fatty acid on lipotoxicity and gene expression in *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 123, n. 1, p. 33–38, 2017.

MELO, B. F. Perfil químico e avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana...

NICOLAU, A.; MARIATH, R.M.; SAMIOS, D. Study of the properties of polymers obtained from vegetable oil derivatives by light scattering techniques. **Materials Science and Engineering C** v. 29 n.452, 2009.

NIKI, E. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 4, p. 503–515, 2010.

OLIVEIRA, I. C. C.; SANTOS, M. C. T. Os benefícios do consumo do abacate. **Revista conexão eletrônica**, v. 13, n. 1, 2016.

OLIVEIRA, M. C., PIO, R., RAMOS, J. D., LIMA, L. C. O., PASQUAL, M. P.; SANTOS, V. A. Fenologia e características físico-químicas de frutos de abacateiros visando à extração de óleo. **Ciência Rural**, v. 43, n.3, p. 411-418, 2013.

OLIVEIRA, A. C.; SILVA, R. S.; DÍAZ, M. E. P.; IQUIAPAZA, R. A. Resistência bacteriana e mortalidade em um centro de terapia intensiva. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 18, n. 6, p. 1–10, 2010.

OLIVEIRA, F. P.; CIPULLO, P.; BURDMANN, E. A. Nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos. **Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery**, v. 21, n. 4, p. 444–452, 2006.

OLIVEIRA, A. L., BRUNINI, M. A., VISICATO, M. L., SIQUEIRA, A. M. F.; VARANDA, D. B. Atributos físicos em abacates (*Persa americana* L) provenientes da região de Ribeirão Preto – SP. **Revista Nucleus**, v.1, n.1, p. 259-266, 2003.

PALOMINO, J.C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin microtiter assay plate: simple and unexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, p. 2720-2722, 2002.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, 2006.

PIMENTEL, B. M. V.; FRANCKI, M.; GOLLÜCKE, B. P. **Alimentos funcionais: introdução as principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Editora Varela, 2005.

PORTO, F. R. C.; SILVA, J. C. Etnobotânica e uso medicinal da pimenta malagueta (*capsicum frutescens* L.) pelos horticultores e consumidores da horta comunitária da Vila Poty, Teresina, Piauí, Brasil. **Revista FSA – Teresina**, n. 9, p. 139 – 152, 2012.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

RAMIREZ-TORTOSA, C.; GRANADOS, S.; QUILES, J.L. Chemical composition, types and characterization of olive oil. In: QUILES, J.L.; RAMIREZ-TORTON, C.; YAQOUB, P. (Ed.) Olive oil and health. London: CABI, cap. 2. 2006.

MELO, B. F. Perfil químico e avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana...

RICHARD, D.; KEFI, K.; BARBE, U.; BAUSERO, P.; VISIOLI, F. Polyunsaturated fatty acids as antioxidants. **Pharmacological Research**, v. 57, n. 6, p. 451–455, 2008.

ROCHA, N.; BRAGA, A.; PEREIRA, G.; NASCIMENTO, J. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263–270, 2012.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, 2008.

ROSAS-PIÑÓN, Y.; MEJÍA, A.; DÍAZ-RUIZ, G.; AGUILAR, M. I.; SÁNCHEZ-NIETO, S.; RIVERO-CRUZ, J. F. Ethnobotanical survey and antibacterial activity of plants used in the Altiplane region of Mexico for the treatment of oral cavity infections. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, n. 3, p. 860–865, 2012.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: **Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH**. EMBRAPA. 2007 a.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: **Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS⁺**. EMBRAPA. 2007 b.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: **Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)**. EMBRAPA. 2006.

SALAS, J. J. Biochemistry of lipid metabolism in olive and other oil fruits. **Progress in Lipid Research**, v. 39, p. 151-180, 2000.

SALES, L. M.; SILVA, T. M. *Staphylococcus aureus* meticilina resistente: um desafio para a saúde pública. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 3, n. 1, p. 8–14, 2012.

SALGADO, J. M.; DANIELI, F.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; FRIAS, A.; MANSI, D. N. O óleo de abacate (*Persea americana* Mill) como matéria-prima para a indústria alimentícia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 20–26, 2008.

SAMIOS, D.; PEDROTTI, F.; NICOLAU, A.; REIZNATT, Q.B.; MARTINI, D.D.; DALCIN, F.M. A transesterification double step process-TDSP for biodiesel preparation from fatty acids triglycerides, **Fuel Processing Technology**, v.90, n.599, 2009.

MELO, B. F. Perfil químico e avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana...

SATO, Y.; SHIBATA, H.; ARAI, T.; YAMAMOTO, A.; OKIMURA, Y.; ARAKAKI, N.; HIGUTI, T. Variation in synergistic activity by flavone and its related compounds on the increased susceptibility of various strains of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* to β -lactam antibiotics. **International Journal of antimicrobial**, v. 24, p. 28-35, 2004.

SHUKLA, S. ET AL.; HEGDE, S.; KUMAR, A.; CHAUDHARY, G.; TEWARI, S. K.; UPRETI, D. K. P. Mahesh Fatty acid composition and antibacterial potential of *Cassia tora* (leaves and stem) collected from different geographic areas of India. **Journal of Food and Drug Analysis**, p. 7–11, 2016.

SILVA, F. O. R.; RAMOS, J. D.; OLIVEIRA, M. C.; RUFINI, J. C. M.; RAMOS, P. S. Fenologia reprodutiva e caracterização físico-química de abacateiros em Carmo da Cachoeira, Minas Gerais. **Revista Ceres**, v. 61, n. 1, p. 105–111, 2014.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. **Farmacognosia: da Planta ao medicamento**, Porto Alegre/Florianópolis Ed.Universiadde/UFRGS/Ed. Da UFSC, 1999.

SOARES, H. F.; ITO, M. K. O Ácido Graxo Monoinsaturado Do Abacate No Controle Das Dislipidemias. **Revista de ciências médicas**, v. 9, n. 2, p. 47–51, 2000.

SOARES, S.E.; MANCINI FILHO, J.; DELLA MODESTA, R.C. Sensory detection limits of avocado oil in mixtures with olive oil. **Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, v. 32, n. 5, p. 509- 516, 1992.

SOUSA, E. O.; MIRANDA, C. M. B. A.; NOBRE, C. B.; BOLIGON, A. A. ATHAYDE, M. L.; COSTA, J. G M. Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Lantana camara* and *Lantana montevidensis* extracts. **Industrial Crops & Products**, v. 70, p. 7–15, 2015.

SOUZA, J. DA S.; BRUTTI, C. E. Q.; BRANDÃO, J. A. C.; VARGAS, N. C.; PUPO, H. D. D. Efeitos da adição do abacate na alimentação de ratos *wistar*. **Caderno de Ciências Biológicas e da Saúde**, n. 1, 2013.

STENHAGEN, E.; ABRAHAMSON, S.; MCLAFFERTY, F. W. **Registry of Mass Spectra Data Base**. Washington DC: Government Printing Office, 1974.

SUAREZ, C. E GUDIOL, F. Beta -lactam antibiotics. **Enfermedades Infecciosas Y Microbiologia Clinica**, v. 27, p. 116-129, 2009.

TANGO, J. S.; CARVALHO, C. R. L.; SOARES, L. B. Caracterização Física E Química De Frutos De Abacate Visando a Seu Potencial Para Extração De Óleo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 17–23, 2004.

TAYLOR, P. W. Alternative natural sources for a new generation of antibacterial agents. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 42, n. 3, p. 195–201, 2013.

TINOCO, S. M. B.; SICHIERI, R.; MOURA, A. S.; SANTOS, F. S.; CARMO, M. G. T. The importance of essential fatty acids and the effect of trans fatty acids in human milk on fetal and neonatal development. **Cadernos de saude publica** , Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, p. 525–534, 2007.

MELO, B. F. Perfil químico e avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana...

VAKULENKO, S. B.; MOBASHERY, S. Versatility of aminoglycosides and prospects for the future. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 16, n. 3, p. 430-450, 2003.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323–1338, 2007.

VERAS, H. N. H.; RODRIGUES, F. F. G.; BOTELHO, M. A.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M. Enhancement of aminoglycosides and β -lactams antibiotic activity by essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and the Thymol. **Arabian Journal of Chemistry**, 2013.

VIEITES, R. L.; DAIUTO, E. R.; FUMES, J. G. F. Capacidade Antioxidante E Qualidade Pós-Colheita De Abacate “Fuerte”. **Revista Brasileira De Fruticultura Jaboticabal Sp**, p. 336–348, 2012.

VILLA-RODRÍGUEZ, J. A.; MOLINA-CORRAL, F. J.; AYALA-ZAVALA, J. F.; OLIVAS, G. I.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of “Hass” avocado. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1231–1237, 2011.

WANG, M.; ZHENG, Y.; KHUONG, T.; LOVATT, C. J. Effect of harvest date on the nutritional quality and antioxidant capacity in “Hass” avocado during storage. **Food Chemistry**, v. 135, n. 2, p. 694–698, 2012.

WANG, W.; BOSTIC, T.; GU, L. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. **Food Chemistry**. v. 122, n.4, p.1193–1198.,2010.

WATANABE, A.; NAGAI, J.; ADACHI, Y.; KATSUBE, T.; KITAHARA, Y.; MURAKAMI, T.; TAKANZ, M. Targeted prevention of renal accumulation and toxicity of gentamicin by aminoglycoside binding receptor antagonists. **Journal of Controlled Release**. v. 95, p. 423-433, 2004.

WONG, C. C.; LI, H. B.; CHENG, K. W.; CHEN, F. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. **Food Chemistry**, v. 97, n. 4, p. 705–711, 2006.

WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWTTZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.52, n.12, p.4026-4037, 2004.

YAHIA, E. M.; WOOLF, A. B. Avocado (*Persea americana* Mill.). In: **Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits**. [s.l.] Woodhead Publishing Limited, p. 125–185, 2011.

YUAN, Y.V.; BONE, D.E.; CARRINGTON, M.F. Antioxidant activity of dulce *Palmaria palmata*) extract evaluated in vitro. **Food Chemistry** v.91, p.485–494, 2005.

MELO, B. F. Perfil químico e avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana...

ZEBA, B. Overview of β -lactamase incidence on bacterial drug resistance. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**. n. 4, 2004.

ZERAIK, M. L.; PEREIRA, C. A. M.; ZUIN, V. G.; YARIWAKE, J. H. Maracujá: um alimento funcional? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 459-471, 2010.

ZHENG, C.J.; YOO, J-S.; LEE, T-G.; CHO, H-Y.; KIM, W-G.; Fatty acid synthesis is a target for antibacterial activity of unsaturated fatty acids. **FEBS Letters**, v. 579, p. 5157-5162, 2005.