

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS – UEA
ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIA DA SAÚDE
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS - MBT

COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE
Mauritia flexuosa **L.f. (ARECACEAE - buriti) PARA O USO**
SUSTENTÁVEL NA RESERVA DE DESENVOLVIMENTO TUPÉ:
RENDIMENTO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

CECÍLIA OLIVEIRA DE CARVALHO

MANAUS-AM

2011

CECÍLIA OLIVEIRA DE CARVALHO

**COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE
Mauritia flexuosa L.f. (ARECACEAE - buriti) PARA O USO
SUSTENTÁVEL NA RESERVA DE DESENVOLVIMENTO TUPÉ:
RENDIMENTO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação da Universidade do Estado do
Amazonas, para obtenção do grau de Mestre em
Biotecnologia e Recursos Naturais.

Orientadora: **Prof^a Dr^a. Veridiana Vizoni Scudeller**

Co-orientador: **Prof^o Dr. Ézio Sargentini Júnior**

MANAUS

2011

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UEA

C331c

Carvalho, Cecília Oliveira de

Comparação entre métodos de extração do óleo de *Mauritia flexuosa* L.f. (ARACACEAE – buriti) para o uso sustentável na Reserva de desenvolvimento Tupé: rendimento e atividade antimicrobiana / Cecília Oliveira de Carvalho; orientadora Veridiana Vizoni Scudeller; co-orientador Ézio Sargentini Júnior. - - Manaus : [s. n.], 2011.

109 f.; il.; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais)
Universidade do Estado do Amazonas, 2011.

Inclui bibliografia.

1. Biotecnologia e Recursos Naturais - Dissertações 2. Extração – óleo vegetal 3. Atividade antimicrobiana I. Scudeller, Veridiana Vizoni II. Sargentini Júnior, Ézio III. Título.

CDU(1997) 349.6:579.6(811.3) (043)

CECÍLIA OLIVEIRA DE CARVALHO

**COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE
Mauritia flexuosa L.f. (ARECACEAE - buriti) PARA O USO
SUSTENTÁVEL NA RESERVA DE DESENVOLVIMENTO TUPÉ:
RENDIMENTO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação da Universidade do Estado do
Amazonas, para obtenção do grau de Mestre em
Biotecnologia e Recursos Naturais.

Aprovado em 08 de fevereiro de 2011

Banca Examinadora

Prof^ª Dra. Veridiana Vizoni Scudeller
Universidade Federal do Amazonas – UFAM

Prof^ª Dra. Helena Camarão Telles Ribeiro
Universidade do Estado do Amazonas – UEA

Prof. Dr. José Renato Pereira Cavallazzi
Universidade Federal do Amazonas – UFAM

DEDICATÓRIA

A minha mãe Izabel e a minha avó Maria Izaura :

*“De você recebi o dom mais precioso do universo: a **vida**”.*

Ensinaram-me a importância de ser justo e de se fazer justiça, de sempre percorrer o caminho certo e ser honesta.

*Da minha **mãe** aprendi o poder dá **Fé**. O olhar doce que nunca cobrava, criticava, repreendia, mas, que sempre compreendia e amava. Um amor infinito sem medidas e cobranças, **o amor de mãe**, intenso e abrasador. Uma “mulher” que sempre esteve ao meu lado nos bons e maus momentos, que soube perdoar meus erros e falhas quanto filha e pessoa, que em vez de repreensões só me amou e foi minha companheira. A você minha **mãe** dedico mais esta conquista e vitória, pois sem você ao meu lado tenho ser que tudo seria bem mais difícil.*

*A minha **avó** que partiu desta vida, mas me ensinou o **dom do amor** ao próximo, o saber dividir o pouco que se tem. Mesmo com as marcas de uma vida dura e cheia de dificuldades, soube mostrar o quanto ela é **bela** e como Deus é misericordioso. Hoje quando escrevo estas palavras e constato que não está aqui para celebrar, lembro-me de uma das frases que disse quando estavas no hospital “**nunca pensei que fosse tão amada**” e acredite minha avó sempre te amamos e te amaremos pelo resto de nossas vidas. A senhora dedico todas as minhas vitórias.*

AGRADECIMENTOS

A Deus:

Eu pedi Força.

E Deus me deu Dificuldades para me fazer forte...

Eu pedi Sabedoria.

E Deus me deu Problemas para resolver...

Eu pedi Prosperidade.

E Deus me deu Cérebro e Músculos para trabalhar...

Eu pedi Coragem.

E Deus me deu Perigo para eu superar...

Eu pedi Amor.

E Deus me deu pessoas com Problemas para eu ajudar...

Eu pedi favores.

E Deus me deu Oportunidades...

Eu não recebi nada do que pedi.

Mas eu recebi tudo que precisava...

*Obrigada meu **Deus**.*

Rita Pando

A minha mãe Izabel e meu pai Cícero:

“Apesar da Fé que tens, sei que o quanto é difícil e o quanto ficas aflita ao me ver mais uma vez sendo colocada aprova. A mais um passo de realizar um sonho. Sei que neste momento em vez de estais sentadas aqui me ouvindo defender minha dissertação, estais em casa, por se sentir mais segura e mais fortalecida, fazendo o que sempre fazes quando alguma de tuas filhas está precisando, reza. Rezas por mim e pede a Nossa Senhora que me proteja sobre seu manto e que Jesus esteja a minha frente, ao meu lado e atrás de mim. Não estais presentes aqui neste momento mais posso sentir em meu coração que está comigo em pensamento, em alma. Minha mãe amada, te entendo, te compreendo e te respeito. Muito Obrigada”.

“Sei que não estarás ao meu lado neste dia tão importante, pois este é teu jeito, mas, sei que estais feliz por minha vitória e no fundo se orgulha da filha que apesar de não ter sido amada e incentivada, soube transformar a dor em sucesso. O que para muitas pessoas seria um motivo para desistir, para mim foi uma razão para demonstrar o quanto ainda sentirias orgulho de mim. Sei que a vida, sobre o seu ponto de vista, não foi tão generosa com o senhor, entretanto do meu ponto de vista ela foi grandiosa, pois te deu uma família maravilhosa. Meu pai te respeito e do meu jeito também aprendi a amá-lo. Apesar de tantos desencontros entre pai e filha o senhor me passou valores de honra, honestidade e garra, pois o teu descrédito na minha pessoa foi o que me fez querer crescer e me tornar o que sou hoje. Obrigada”.

Aos ausentes:

A minha avó Maria Izaura Braga de Oliveira.

*Hoje, neste momento especial, sinto falta do teu calor e da tua voz suave sempre firme me incentivando. Do cheirinho gostoso de vó, cheiro que nos remete a infância e que nos faz sentir amada. Há minha avó como sinto sua falta neste momento de felicidade, mas, sei que está comigo de alguma forma, sei que estais comigo. Não me permitirei neste momento ficar triste por sentir tua falta, pois sei que desejaria que fizesse exatamente ao contrário. Então celebrarei, comemorarei e serei feliz como fostes. Pois este é o encanto da vida, **SER FELIZ!** Sempre te AMAREI e estarás comigo.*

Aos meus familiares

Em especial:

As minhas irmãs Izaura, Cilene, Célia, Cláudia e Paula. Aos meus padrinhos Antônio e Tereza de Oliveira. As minhas tias-avós Antônia e Judith. Aos meus cunhados João Everton, João Batista, Joaquim, José Luis e Gerson. Aos meus sobrinhos Camila, João Felipe, Carolina, Juliana, Fernando e Arthur Luís.

Seis irmãs, nossa que confusão! Que irmãs não brigam e se amam com a mesma intensidade. Como sou feliz por tê-las perto sempre torcendo por mim e como sou feliz por vê-las felizes. Apesar dos desencontros da vida como diria Carlos Drumond Andrade “O presente é tão grande não nos afastemos. Não nos afastemos muito, estejamos sempre de mãos dadas”. Amo vocês.

Ano de 2000, que etapa difícil e vocês meus padrinhos, no momento que mais precisei me estenderam a mão. Obrigada pelo amor, incentivo, carinho e torcida. Todo agradecimento do mundo ainda seria pouco. Amo vocês.

O segundo amor da minha vida, meus sobrinhos. Como fico feliz em tê-los em minha vida. Em vê-los sorrindo, brincando, crescendo saudáveis e com um futuro brilhante pela frente. Amo, amo vocês.

A minha orientadora Dr^a. Veridiana Vizoni Scudeller e ao meu co-orientador Dr. Ézio Sargentini Júnior.

“A arte de ensinar é sublime”

É um conjunto de palavras, sentimentos e atitudes. Capaz de engrandecer o que parece a princípio frágil e simples, em algo grandioso e belo, que é o ato de ensinar, sobretudo de ser MESTRE. Aquele que houve que aconselha, incentiva e mesmo sem conhecê-lo muito bem acredita em você e aceita o desafio de te orientar. Poucas foram às escolhas erradas em minha vida, e com muito orgulho vejo que mais uma vez acertei ao lhe convidar para ser minha orientadora. Obrigada por ter aceitado e por ter sido tão companheira e paciente comigo. Certa vez lhe disse que admirava a sua paciência. Hoje com a vivência de orientadora e orientada que dividimos ao longo desses dois anos, admiro também a sua capacidade, inteligência e força. Obrigada por tudo MESTRA.

“... em quanto descansa carrega pedras”. Como ouvi esta frase de você e pensava “... ao descansar tenho que carregar pedras”. Quanta responsabilidade. Como fazer para não decepcioná-lo? Trabalhar! Esse seria o segredo e a forma de retribuir a confiança e a oportunidade. O senhor me mostrou a ser perseverante e confiante. Obrigada pela confiança, respeito e amizade. Pelos inúmeros conselhos. Pelo tempo disposto até mesmo em suas horas de folga. Pela porta aberta de sua casa e pelos belos momentos compartilhados. Serei sempre grata por tudo MESTRE. Obrigada!

Aos Mestres:

Sandra Zanotto, Wilson Castro, Luis Antônio, Cláudio Rui, Patrícia, Sérgio, Aldo Procópio, Helena Camarão, Prof. Alberto Marques, Prof. Luiz Lozano.

Em especial:

À Prof. Dra. Ormezinda

Que na sua simplicidade mostrou o seu profissionalismo. Mesmo não tendo o tempo ao nosso favor aceitou este desafio e o desempenhou com muita competência. Hoje sei o porquê as pessoas se dirigem a você de uma forma carinhosa, onde tudo que ouvi ao seu respeito é a mais pura verdade. Você realmente é uma pessoa maravilhosa. Obrigada “meme” pela grande colaboração nesta pesquisa e por tudo que fizeste por mim. Foi um enorme prazer trabalhar com você.

Aos colaboradores:

Sr. Adonísio e Sr. Francisco.

Ao programa de bolsas do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPQ.

Aos moradores do Tupé, especialmente ao Sr. Adonísio e o Sr. Francisco, que muito nos ajudaram na coleta do material botânico. Obrigada!

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPQ, por proporcionar os meios para a realização desta pesquisa. Obrigada!

***"Compartilhe seu conhecimento. É uma das maneiras de atingir a imortalidade."
(Dalai-Lama)***

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	24
2 OBJETIVOS	26
2.1 GERAL	26
2.2 ESPECÍFICOS	26
3 REVISÃO DA LITERATURA	27
3.1 BURITI	27
3.1.1 Classificação Botânica	27
3.1.2 Morfologia	27
3.1.3 Distribuição geográfica	28
3.1.4 Composição centesimal da polpa do Buriti	29
3.1.5 Características Gerais de <i>Mauritia flexuosa</i> L.	29
3.1.6 Óleo de Buriti	30
3.2 EXTRAÇÃO DE ÓLEOS	31
3.2.1 Extração artesanal	32
3.2.2 Extração Mecânica	32
3.2.2.1 Prensas Hidráulicas	33
3.2.2.2 Prensas Contínuas	34
3.2.3 Extração por Solvente	35
3.3 ÓLEOS VEGETAIS	37
3.3.1 Componentes majoritários dos óleos vegetais	39
3.3.1.1 Ácidos graxos	38
3.3.1.2 Acilgliceróis	41

3.3.2 Componentes minoritários dos óleos vegetais	41
3.3.2.1 Tocoferóis	41
3.3.2.2 Carotenóides	42
3.4 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS	44
3.4.1 Índice de Acidez	45
3.4.2 Índice Saponificação	45
3.4.3 Índice Peróxido	45
3.4.4 Índice de Refração	46
3.5 MICRORGANISMOS E ANTIMICROBIANOS	46
3.5.1 Microrganismos	47
3.5.1.1 Bactérias	47
3.5.1.2 Fungos	51
3.5.2 Antimicrobiano	53
3.5.2.1 Mecanismo de Ação	53
3.5.2.1.1 Antibióticos	53
3.5.2.1.2 Antifúngicos	57
3.6 MÉTODOS DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	57
3.6.1 Método de Difusão em Ágar	58
3.6.2 Método de Diluição em Caldo	59
3.7 FATORES QUE INTERFEREM NOS MÉTODOS	60
4 METODOLOGIA	61
4.1 ÁREA DE ESTUDO	61

4.2 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO	61
4.3 PROCESSO DE HIGIENIZAÇÃO	62
4.4 PROCESSAMENTO DA POLPA DE BURITI	64
4.5 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE <i>Mauritia flexuosa</i> L.f.	65
4.5.1 Extração Artesanal	66
4.5.2 Extração por Prensagem Hidráulica	67
4.5.3 Extração por Solvente	68
4.6 AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES DA POLPA	71
4.7 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS ÓLEOS DE BURITI	71
4.7.1 Índice de acidez	72
4.7.2 Índice de refração	72
4.7.3 Índice de peróxido	73
4.7.4 Índice de saponificação	73
4.8 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS DE BURITI	74
4.8.1 Difusão em placas	75
4.8.2 Diluição em Caldo (Microdiluição)	77
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	80
5.1 COLETA E SEPARAÇÃO DOS FRUTOS DE BURITI	80
5.2 AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES DA POLPA	81
5.3 EXTRAÇÃO E RENDIMENTO DOS ÓLEOS DE BURITI	82
5.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS ÓLEOS DE BURITI	84
5.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	88
6. CONCLUSÃO	93

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 01- Figura do buriti	28
Figura 02- Estrutura química dos principais Triacilgliceróis	37
Figura 03- Estrutura do β -caroteno.	43
Figura 04- Estrutura do retinol.	42
Figura 05- Mecanismo de ação dos antibióticos	54
Figura 06- Mecanismo de ação dos antifúngicos de 1 ^a geração	57
Figura 07- Limites e localização das comunidades existentes na RDS Tupé e no seu entorno	61
Figura 08- Etapas da coleta do buriti na Comunidade do Julião, localizada na Reserva do Tupé	62
Figura 09- Exsicata de <i>Mauritia flexuosa</i> L.f.	63
Figura 10- Processo de extração do óleo da polpa úmida do fruto de buriti pelo método artesanal (A)	67
Figura 11- Etapas do processo de extração do óleo da polpa seca do fruto de buriti por prensagem hidráulica	68
Figura 12- Processo de extração do óleo de buriti por solvente hexano utilizando o aparelho extrator Soxhlet	69
Figura 13- Fluxograma da higienização, despulpamento e extração do óleo da polpa dos frutos do buriti	70
Figura 14- Desenho esquemático da placa de Petry	76

Figura 15- Esquema da técnica de difusão em placa das amostras A, B e C, do óleo de buriti	77
Figura 16- Etapas da atividade antimicrobiana da metodologia de microdiluição	79
Figura 17- Determinação do percentual, em massa, dos constituintes da polpa dos frutos de buriti.	92
Figura 18- Teste de difusão em caldo por microdiluição	91

LISTA DE TABELAS

	Pág
Tabela 01- Concentração de carotenóides encontrados no óleo do fruto de buriti.	30
Tabela 02 - Óleos vegetais por classificação em termos dos principais ácidos graxos	38
Tabela 03- Composição em ácidos graxos de alguns óleos vegetais	40
Tabela 04- Teor de carotenóides do fruto de Buriti.	44
Tabela 05- Valores das médias e desvio padrão, em massa, dos frutos de buriti e suas partes constituintes	80
Tabela 06- Médias, desvio padrão e percentual, em massa, das polpas secas, tortas e óleos obtidos durante as duas coletas.	83
Tabela 09- Atividade antimicrobiana (halos de inibição= mm) dos óleos puros e diluídos da polpa do fruto de buriti	89

LISTA DE QUADROS

	Pág
Quadro 01- Composição centesimal obtida da polpa do fruto do buriti	29
Quadro 02- Perfil de ácidos graxos de alguns frutos oleaginosos	31
Quadro 03- Análises físico-químicas do óleo da polpa de buriti	85
Quadro 04- Comparação das propriedades físico-químicas dos óleos da polpa dos frutos de buriti com os óleos de canola, amendoim e oliva	87

RESUMO

A valorização econômica de alguns óleos vegetais extraídos de frutos passa pelo melhoramento tecnológico de uma cadeia produtiva que envolve: o cultivo, a extração dos óleos e a caracterização de suas propriedades que favoreçam aos interesses das indústrias que trabalham com estes produtos. O buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) é uma palmeira cujo fruto é uma fonte de alimento rico em vitamina A, B e C, ainda fornece cálcio, ferro e proteínas. O óleo extraído da fruta é rico em caroteno e tem valor medicinal. Em razão de suas propriedades e dos seus constituintes químicos propôs-se nesse estudo extrair por três métodos, artesanal, prensagem e solvente, o óleo de buriti, caracterizando-os através das propriedades físico-químicas e realizando testes antimicrobianos. A atividade antimicrobiana dos óleos foi avaliada através dos testes de difusão em placa e em caldo, frente às cepas de referência da coleção da Fiocruz *Staphylococcus aureus* CBAM 324, *Pseudomonas aeruginosa* CBAM 232, *Escherichia coli* CBAM 02, *Klebsiella pneumoniae* CBAM 382 e *Cândida albicans* CFAM 1285. Quanto à eficiência da extração do óleo, a prensagem hidráulica, por não utilizar energia e solventes, ter um tempo de extração menor, e por ser mais econômica, foi bastante satisfatória apresentando um rendimento muito próximo ao apresentado pelo método por solvente e bem superior ao processo artesanal. Independente da metodologia adotada observou-se que não houve alterações nos parâmetros físico-químicos dos óleos, legitimando a boa qualidade dos mesmos. A atividade antimicrobiana mostrou um resultado positivo pelo método de microdiluição para *Staphylococcus aureus* e por difusão em placa com óleos diluídos para *Pseudomonas aeruginosa*. Desta forma o uso por prensagem hidráulica torna-se uma fonte de renda a mais, para os moradores das comunidades rurais que fazem a extração de óleos, considerando-se a possibilidade da utilização deste óleo pela indústria farmacêutica e cosmética em formulações anti-sépticas.

Palavras-chaves: buriti, extração, óleo, atividade antimicrobiana, Tupé.

ABSTRACTS

The economical valorization of some extracted vegetable oils of fruits raisin for the technological improvement of a productive chain that it involves: the cultivation, the extraction of the oils and the characterization of their properties that favor to the interests of the industries that work with these products. The buriti (Mauritia flexuosa L.f.) it is a palm tree whose fruit is a source of rich food in vitamin THE, B and C, it still supplies calcium, iron and proteins. The extracted oil of the fruit is rich in carotene and he/she has medicinal value. In reason of their properties and of their chemical representatives he/she intended in that study to extract for three methods, craft, prensagem and solvent, the buriti oil, characterizing them through the physiochemical properties and accomplishing tests antimicrobianos. The activity antimicrobiana of the oils was evaluated through the diffusion tests in plate and in broth, front to the stumps of reference of the collection of Fiocruz Staphylococcus aureus CBAM 324, Pseudomonas aeruginosa CBAM 232, Escherichia coli CBAM 02, Klebsiella pneumoniae CBAM 382 and Cândida albicans CFAM 1285. As for the efficiency of the extraction of the oil, the hydraulic prensagem, for not using energy and solvents, to have a time of smaller extraction, and for being more economical, it was quite satisfactory presenting a very close income to the presented by the method by solvent and very superior to the craft process. Independent of the adopted methodology it was observed that there were not alterations in the physiochemical parameters of the oils, legitimating the good quality of the same ones. The activity antimicrobiana showed a positive result for the microdiluição method for Staphylococcus aureus and for diffusion in plate with oils diluted for Pseudomonas aeruginosa. This way the use for hydraulic prensagem becomes a source of income the plus, for the rural communities' residents that you/they make the extraction of oils, being considered the possibility of the use of this oil for the pharmaceutical and cosmetic industry in antiseptic formulations.

Word-key: buriti, extraction, oil, activity antimicrobial, Tupé.

1 INTRODUÇÃO

A valorização econômica de alguns óleos vegetais extraídos de frutos passa pelo melhoramento tecnológico de uma cadeia produtiva que envolve: o cultivo, a extração dos óleos e a caracterização de suas propriedades que favoreçam aos interesses das indústrias que trabalham com estes produtos (REMÉDIOS *et al.*, 2006).

Os países com maior produção do óleo de palma são: a Malásia e a Indonésia, sendo o primeiro responsável por quase 54% da produção mundial. Na América Latina o maior produtor é a Colômbia, seguida por Equador e pelo Brasil. A produção brasileira representa apenas 5% da produção de óleo, apesar de haver no Brasil uma grande área geográfica com condições climáticas favoráveis ao cultivo (SUFRAMA, 2006; NUNES, 2005).

Uma alternativa promissora para o aumento na produção brasileira de óleo vegetal encontra-se no buritizeiro, que é uma palmeira oleaginosa nativa, oriunda de Trinidad e Tobago, Venezuela e Brasil, especialmente distribuído em maior proporção na região Amazônica (DURÃES *et al.*, 2006).

O fruto do buriti é rico em vitamina A, B, C, E, proteínas e minerais como cálcio e ferro. Consumido tradicionalmente ao natural, o fruto também pode ser transformado em doces, sucos, picolés, licores, sobremesas de paladares peculiares e na alimentação de animais (ALMEIDA *et al.*, 1998; BARBOSA *et al.*, 2010).

Além disto, o óleo extraído do fruto tem propriedades medicinais como vermífugo, cicatrizante e energético natural. Também é utilizado para amaciar e envernizar couro, dar cor, aroma e qualidade a diversos produtos de beleza, como cremes, xampus, filtro solar e sabonetes (SILVA, 2002).

No entanto, a obtenção do óleo vegetal bruto é ainda feita por meio de métodos físicos e químicos usando-se um solvente como extrator ou prensagem hidráulica (GONÇALVES *et al.*, 2002).

A secagem da polpa é uma prática usual que facilita o processo no que diz respeito ao contato entre o solvente e o soluto (óleo) a ser extraído, resultando em maiores rendimentos (TANGO *et al.*, 2004). Neste processo, a temperatura é um dos fatores mais importantes, podendo afetar as propriedades físico-químicas do óleo, levar à rancificação de gorduras e alterar pigmentos, tais como os carotenóides, quando submetidos a altas temperaturas (BIAGI *et al.*, 1992; NOGUEIRA, 1992).

A avaliação destes óleos vegetais nativos das diversas regiões brasileiras, que normalmente não são utilizados na alimentação humana, mostra-se tão relevante quanto aos estudos que vem sendo realizados para obtenção de biodiesel (LUZ Jr. *et al.*, 2010).

Desta forma o presente estudo se propôs a avaliar através de três métodos de extração, artesanal, prensagem hidráulica e solvente, o rendimento destas metodologias, características físico-químicas e atividade antibacteriana do óleo da polpa dos frutos de buriti a ser aplicado na Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS) do Tupé. Possibilitando o uso sustentável da utilização de produtos florestais não-madeireiros e o aproveitamento alternativo desse recurso natural mantendo a floresta viva, além de promover a agregação de valor, a conservação e reprodução de espécies florestais até então não utilizadas ou aproveitadas de forma predatória.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Comparar três métodos de extração do óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.f. - Arecaceae) quanto ao rendimento e avaliar as propriedades físico-químicas e ação antimicrobiana, para o uso sustentável na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Tupé.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Armazenar a polpa em duas temperaturas diferentes a 2-8°C e -20°C;
- ✓ Extrair o óleo da polpa do fruto de buriti utilizando três métodos de extração: artesanal, prensagem hidráulica e solvente;
- ✓ Avaliar o rendimento da extração do óleo de buriti a partir dos três métodos;
- ✓ Verificar as propriedades físico-químicas dos óleos;
- ✓ Avaliar a atividade antimicrobiana do óleo de *Mauritia flexuosa* L.f.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 BURITI

3.1.1 Classificação Botânica

Classe: Equisetopsida C. Agardh

Subclasse: Magnoliidae Novák ex Takht

Ordem: Arecales Bromhead

Família: Arecaceae Bercht

Gênero: *Mauritia* L. f.

Mauritia flexuosa L. f. in Supplementum Plantarum 454. 1781[1782]. Reino: Plantae

Nomes comuns: buriti, buritti-do-brejo, buritizeiro, muriti, palmeira-dos-brejos, carandá-guaçu.

Sinônimos: *M. vinifera* Mart., *M. minor* Bur., *M. sphaerocarpa* Bur., *M. setigera* Griseb.

3.1.2 Morfologia

Palmeira monocaule, pantas masculinas e femininas separadas (dióica), com até 30 m de altura, estipe (caule) liso medindo no máximo 50 cm de diâmetro, coroa foliar com presença de folhas verdes e senescentes, tipo costapalmadas, bainha aberta, tamanho da folha até 6,0 m de comprimento e 250 segmentos (folíolos). Inflorescência dióica interfoliar com ráquulas pendentes, frutos elipsóide-oblongos, epicarpo (casca) coberto por escamas córneas,

mesocarpo (polpa) carnosos, endocarpo (tegumento) fino, medindo 6,24 x 3,89 cm de diâmetro, de coloração marrom-avermelhada na maturidade. Cada fruto possui uma semente com endosperma homogêneo e duro. Plântulas com folhas palmadas (Figura 01). (MIRANDA & RABELO, 2008)

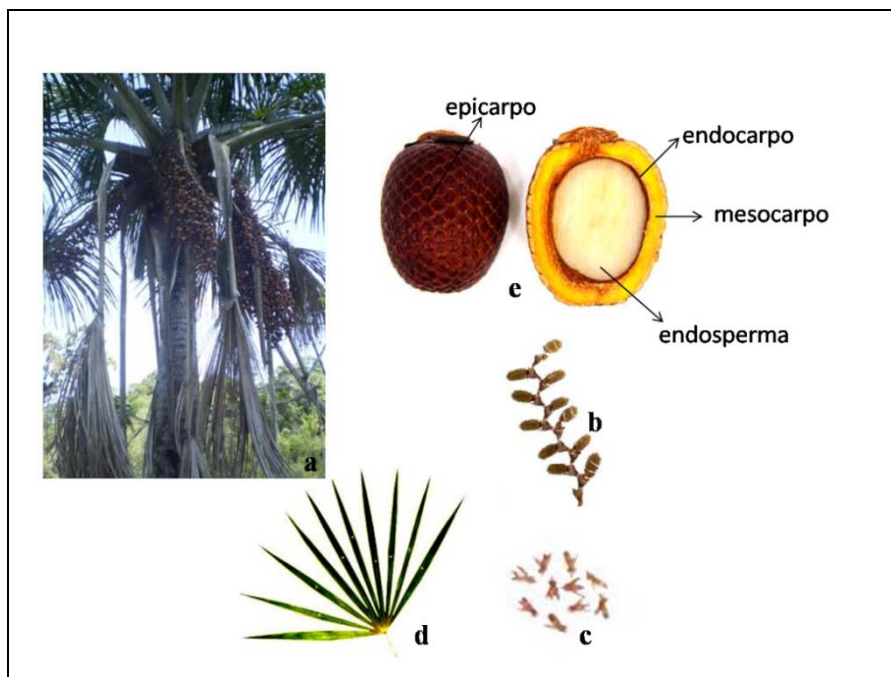


Figura 01- **a)** Aspecto geral de uma palmeira do buriti; **b)** inflorescência em plantas masculinas; **c)** flores masculinas; **d)** folha jovem tipo costapalmada; **e)** fruto maduro inteiro e seccionado com suas partes (Epicarpo, Mesocarpo, Endocarpo e Endosperma).

FONTE: Cecília Carvalho

3.1.3 Distribuição geográfica

No Brasil ocorre no Pará, Amazonas, Tocantins, Maranhão, Piauí, Ceará, Bahia, Goiás e São Paulo. Palmeira predominante em solos arenosos encharcados de florestas abertas (savanas), florestas inundadas periodicamente de igapós, nos diversos igarapés no interior da floresta de terra firme e alguns remanescentes da floresta natural nos centros urbanos (MIRANDA & RABELO, 2008).

É muito comum também encontrarmos essa palmeira ao longo das margens de rodovias espalhadas por toda a região Amazônica. O buriti possui grande mecanismo de dispersão por meio principalmente da água, ocasionando, nesses ecossistemas, extensas populações de buritizais (MIRANDA & RABELO, 2008).

3.1.4 Composição centesimal da polpa do buriti

Segundo Ribeiro (2008), a composição centesimal da polpa do fruto de buriti é descrita no Quadro 01, em termos percentuais, comparando várias referências (g/100 g de polpa). É também verificado um teor significativo de vitamina C (ácido ascórbico), entre 19,8 e 26 mg, e de cálcio, entre 113 e 156 mg por 100 g de polpa de buriti, além do altíssimo teor de vitamina A derivado das concentrações presentes de β -caroteno.

Quadro 01- Composição centesimal obtida da polpa do fruto do buriti, segundo Ribeiro, 2008.

Componentes	Mariath <i>et al</i> (1989)	Tavares <i>et al</i> (2009)	Santos (2005)	Manhães (2007)
Água	64,2	67,2	49,77	62,93
Proteína	1,8	1,5	2,82	2,1
Lipídios	8,1	3,8	19,8	13,85
Carboidratos	25,2	26,1	26,76	20,18
Cinzas	0,7	1,4	0,85	0,94

FONTE: Ribeiro, 2008

3.1.5 Características Gerais de *Mauritia flexuosa* L. f.

O buriti (*Mauritia flexuosa* L.) é uma das palmeiras presentes em maior proporção na região Amazônica do Brasil, que fornece materiais para uma variedade de aplicações, como frutos para produzir licores, vinhos e até raízes para uso medicinal (DURÃES *et al.*, 2006).

Da polpa do fruto, obtêm-se matéria-prima para preparação de sorvetes, sucos concentrados e doces; extrai-se também um óleo com características organolépticas de sabor e aroma agradáveis com grande quantidade de β -caroteno (SILVA, 2002).

Esse óleo tem ainda um variado número de aplicações nas indústrias de cosméticos e de produtos alimentícios. Na medicina caseira, o óleo da polpa do buriti é utilizado contra queimaduras, provocando alívio imediato e cicatrização rápida (MIRANDA & RABELO, 2008).

3.1.6 Óleo de Buriti

O óleo extraído da polpa do fruto de buriti é de grande interesse, devido suas propriedades físicas e químicas, revela uma alta concentração de tocoferóis e carotenóides (FRANÇA, *et al.*, 1999). Dentre os carotenóides β -caroteno é o que se encontra em maior quantidade (Tabela 01), sendo responsável pela cor alaranjada do óleo (DURÃES *et al.*, 2006).

Tabela 01- Concentração de carotenóides encontrados no óleo do fruto de buriti.

Carotenóide	Concentração (ppm)
Fitoflueno	150 \pm 8
α -caroteno	61 \pm 7
13 cis- β -caroteno	359 \pm 27
trans- β -caroteno	672 \pm 10
9-cis- β -caroteno	150 \pm 18
ξ - caroteno	39 \pm 3
B-zeacaroteno	38 \pm 1
δ - caroteno	11 \pm 1

Mutacromo	45 ± 1
β-10-apo-caroteno	70 ± 3
Zeaxantina	13 ± 1
Carotenóides totais	98 ± 4

FONTE: Durães, 2006

O óleo do buriti possui ainda na sua composição química alta concentração de ácido olêico estando este na maioria das vezes sob a forma de triglicerídeos (DURÃES *et al.*, 2006; ALBUQUERQUE *et al.*, 2005). Apresenta um alto teor de ácidos graxos insaturados, muito semelhantes ao azeite de oliva (*Olea europaea*) e óleo de abacate (*Persea americana*) (Quadro 02) (SILVA, 2002).

Quadro 02- Perfil de ácidos graxos de alguns frutos oleaginosos.

%	Ácidos graxos	Buriti	Tucumã	Oliva	Abacate	Dendê
12:0	Láurico	-----	-----	-----	-----	0,1-1,0
14:0	Mirístico	0,1	-----	0,67	0,02-0,13	0,9-1,5
16:0	Palmítico	17,3-19,3	13,86	10-11,7	19,8-22,7	41,8-46,8
18:0	Esteárico	1,86-2,0	9,80	2,15	0,5-1,0	4,2-5,1
20:0	Araquídico	-----	0,82	0,48	-----	0,2-0,7
16:1	Palmitoleico	-----	0,17	1,45	3,9-5,6	0,1-0,3
18:1	Oleico	73,3-78,7	46,81	73,8-78	60-71	37,3-40,8
18:2	Linoleico	2,4-3,9	26,13	7-9,8	7,1-15,3	9,1-11
18:3	Linolênico	2,17-2,2	0,93	-----	0,37-1,03	0-0,6

FONTE: Silva, 2002

3.2 EXTRAÇÕES DE ÓLEOS

Muitas frutas e sementes contêm componentes de alto valor compondo a estrutura de suas células, por exemplo, coco, soja, semente de girassol, oliva, que produzem óleos e gorduras. A extração de óleos vegetais pode ser através de diferentes processos de extração como: artesanal (fervura), prensagem hidráulica mecânica (hidráulica e contínua), por solvente e outros. Antes da extração é necessário o preparo da amostra, que inclui descascamento, limpeza, secagem, desintegração, floculação e condicionamento ou aquecimento. Estas operações dependem do tipo e da qualidade da matéria-prima (BRENNAN *et al.*, 1990; TANDY, 1991).

3.2.1 Extração Artesanal

De uma forma geral na extração artesanal a polpa do fruto é submetida a um cozimento intensivo com água, separando o óleo sobrenadante. Em seguida, o óleo é seco em fogo baixo, utilizando um recipiente metálico (panela de alumínio) ou é separado por centrifugação até perda da opacidade devido à umidade. O óleo obtido é filtrado em papel de filtro de uso caseiro (DEUS, 2008).

3.2.2 Extração Mecânica

A extração mecânica é a operação de separação de líquidos de sólidos pela aplicação de forças de compressão, e geralmente usada nas indústrias de alimentos e bebidas. Normalmente são necessários pré-tratamentos de despulpamento, redução de tamanho e

aquecimento antes da separação do líquido para aumentar o rendimento (BRENNAN *et al.*, 1990).

A principal finalidade desta operação é a máxima separação de óleo, o que significa mínima matéria graxa no resíduo e perdas mínimas posteriores na purificação (RITTNER, 1996).

O líquido extraído é o produto de maior valor, no entanto, em alguns casos, o resíduo sólido da operação é relevante para o uso em alimentação animal ou para a obtenção de proteína, que pode ser utilizada como suplemento nutritivo na alimentação humana (ex.: proteína da soja). É de extrema importância que se evite a desnaturação das proteínas e a presença de solventes no resíduo sólido, sendo a prensagem hidráulica uma alternativa adequada neste caso (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005).

Para isto são utilizados equipamentos desde os rudimentares até instalações industriais. Nestas são conhecidos (RITTNER, 1996):

- a) **prensas hidráulicas**, mais utilizadas em instalações menores que não justificam a prensagem hidráulica contínua;
- b) **prensas contínuas tipo “expeller”**, que possuem maior capacidade, requerem menor investimento e menor mão-de-obra.

3.2.2.1 Prensas Hidráulicas

São equipamentos constituído por um pistão, acionado hidráulicamente, que comprime o material contido em um cesto provido de um orifício de saída para o líquido prensado, em ciclos de tempo e pressões definidas Variam quanto à operação (manual ou motorizada); quanto ao movimento dos pistões (ascendente ou descendente); quanto ao diâmetro e

comprimento dos cestos; quanto à proporção entre diâmetro do cesto e curso do pistão; quanto à automatização de ciclos de operação (RITTNER, 1996).

A eficiência das prensas manuais é influenciada diretamente pelo pré-tratamento a que a matéria-prima é submetida, já que nesse tipo de instalação a operação de esterilização (aquecimento) é realizada a pressão atmosférica e a desintegração mecânica, sem aquecimento. As prensas automáticas são muito mais eficientes e de maior capacidade (RITTNER, 1995).

A prensagem hidráulica é um método que, por não utilizar solvente ou algum tipo de gás, obtém-se um produto com suas propriedades naturais preservadas. No entanto, normalmente é realizada em combinação com a extração por solvente, pela sua menor eficiência na retirada de óleo, a menos que seja aplicada alta pressão, o que reduziria o conteúdo de óleo residual na torta a até 5%, dispensando o subsequente uso do solvente (MORETTO & FETT, 1998).

3.2.2.2 Prensas contínuas

A prensa de parafusos, ou expeller é um tipo de prensa contínua em que polpa do fruto ou sementes alimenta um cilindro de paredes espessas contendo um parafuso rotativo polido de tamanho decrescente (BRENNAN *et al.*, 1990).

O material colocado entre o parafuso e o interior do cilindro passa através dele com uma taxa de fluxo que reduz gradualmente, realizando uma força compressora. As paredes do cilindro contêm finas perfurações ou fendas cobertas por telas ajustáveis, através das quais o líquido é drenado da torta. Esta sai da unidade por uma porta de descarga. O consumo de

energia é alto e dissipado na fricção e pode aumentar consideravelmente a temperatura do produto (BRENNAN *et al.*, 1990).

O risco de degradação térmica em materiais termossensíveis pode ser reduzido por parafusos resfriados por água. A intensidade da compressão pode ser regulada ajustando-se a porta de descarga e variando a velocidade de rotação do parafuso. Consegue boa separação com produção de até 8500 kg/h (200 t/dia), com a torta contendo de 4 a 5% de líquido residual (BRENNAN *et al.*, 1990).

Com certos frutos pode haver problemas com a passagem de partículas finas com o líquido, sendo necessária a clarificação por centrifugação ou filtração (BRENNAN *et al.*, 1990).

A prensagem é um método que, por não utilizar solvente ou algum tipo de gás, obtém-se um produto com suas propriedades naturais preservadas. No entanto, normalmente é realizada em combinação com a extração por solvente, pela sua menor eficiência na retirada de óleo, a menos que seja aplicada alta pressão, o que reduziria o conteúdo de óleo residual na torta a até 5%, dispensando o subsequente uso do solvente (MORETTO ; FETT, 1998).

3.2.3 Extração por Solvente

Uma das primeiras aplicações da extração por solvente foi a separação de misturas orgânicas em grupos de compostos de características químicas similares, como na remoção ou produção de substâncias aromáticas. Posteriormente este método foi aplicado também para a produção de fármacos e em processos ambientais, constituindo uma etapa durante a qual uma fase orgânica está em contato com uma fase aquosa ou outra fase orgânica imiscível (WENNERSTEN, 1992).

A separação de compostos de produtos naturais pode ser conseguida pela transferência destes de uma fase para outra (sólido-líquido, líquido-líquido) dentro de um processo industrial. A extração por solvente utiliza as diferenças em interações intermoleculares na fase líquida (WENNERSTEN, 1992).

No processamento industrial, muitos produtos são separados de sua estrutura natural original por extração sólido-líquido, como por exemplo, na produção de óleos vegetais, utilizando solventes orgânicos, tais como hexano, acetona e éter. Na extração por solvente, duas fases estão em contato íntimo e o(s) soluto(s) pode(m) se difundir do sólido para a fase líquida, resultando na separação dos componentes contidos originalmente no sólido (GEANKOPLIS, 2003).

O material a ser submetido à extração é previamente triturado e laminado a fim de facilitar a penetração do solvente, uma vez que, deste modo, além de estar contido no interior das células (sendo removido por difusão), também estará em forma de uma camada em volta das partículas do material, sendo removido por simples dissolução (MORETTO & FETT, 1998).

Isto significa que o processo constitui-se em duas etapas: uma primeira, rápida e fácil, de dissolução, e outra mais demorada, de difusão, e por isso, considerada a etapa limitante. Como resultado, tem-se uma extração com velocidade elevada no início e em seguida, decrescente, não se atingindo uma remoção completa, na prática (MORETTO & FETT, 1998).

A extração por solvente é uma operação de transferência de massa amplamente utilizada na indústria de alimentos para retirar o óleo de sementes/e ou polpas oleaginosas. Após terem seu tamanho reduzido, estas sementes são colocadas em contato com o solvente,

de maneira que ocorra a transferência do óleo da fase sólida para a fase líquida (PERRY & CHILTON, 1986).

O sistema de extração pode ser em leito fixo ou móvel, o último sendo o mais empregado para produção de óleos vegetais de sementes oleaginosas, tais como algodão, amendoim e soja. As sementes são submetidas à pré-tratamentos, como descascamento, às vezes cozimento, parcial desidratação e moagem. Por isto o extrato resultante, composto de soluto e solvente, pode conter algumas partículas sólidas finamente divididas, que podem ser retiradas por filtração ou centrifugação. Para a remoção do solvente é necessária a operação adicional de evaporação (GEANKOPLIS, 2003).

Na operação de prensagem hidráulica, mesmo que realizada em dois estágios, a torta apresenta ainda cerca de 5-6% de óleo residual. Pela extração de óleo desta torta por solvente consegue-se reduzir esta quantidade para menos de 1%. Na extração por solvente com pré-prensagem hidráulica, portanto, a prensa é operada para gerar uma torta com 15-18% de óleo, e o restante, extraído por solvente. As partículas têm seu tamanho novamente reduzido antes de serem levadas ao extrator por solvente. O resíduo é moído e comercializado para alimentação animal (TANDY, 1991).

3.3 ÓLEOS VEGETAIS

Consistem principalmente de acilgliceróis, isto é, ésteres de glicerol e ácidos graxos. Óleos vegetais comestíveis são compostos principalmente por triacilgliceróis, formados por uma molécula de glicerol com três ácidos graxos esterificados (Figura 02) (HUI, 1996).

Na maioria das vezes são líquidos à temperatura ambiente, devido à presença de ácidos graxos insaturados (WATKINS *et al.*, 1996). Em geral, acilgliceróis e fosfolipídios são

os principais compostos lipídicos na natureza. Entretanto, os lipídeos normalmente contêm pequenas quantidades de vários componentes minoritários, muitos dos quais têm impacto significativo sobre suas propriedades físicas e químicas (HUI, 1996).

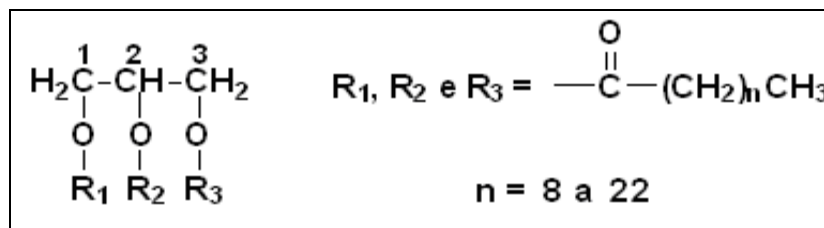


Figura 02- Estrutura química dos principais Triacilgliceróis.

FONTE: Hui, 1996

Por isso, os óleos vegetais são classificados segundo a composição em termo dos principais ácidos graxos, como mostra a Tabela 02. Os três principais ácidos graxos presentes no reino vegetal são o palmítico, o olêico e o linolêico, acompanhados algumas vezes do ácido esteárico e linolênico (GUNSTONE, 2005)

Atualmente, a procura por óleos mais ricos em ácidos graxos insaturados tem aumentado, em detrimento às gorduras saturadas. Embora seja conveniente classificar os óleos por sua composição em ácidos graxos, é importante lembrar que este não é o único indicador de seu valor nutricional e estabilidade oxidativa, sendo importantes também os componentes minoritários do óleo bruto e os compostos remanescentes após o refino (GUNSTONE, 2005).

Tabela 02- Óleos vegetais por classificação em termos dos principais ácidos graxos

Ácidos	Óleos Vegetais
Láurico	coco e palma
Palmítico	palma e algodão

Olêico/Linolêico	girassol, gergelim, algodão, canola, soja
Alto teor de Olêico	oliva, girassol, canola, soja
Linolênico	linhaça, canola, soja

FONTE: Gunstone, 2005

Dentre os compostos nutricionais, destacam-se os ácidos graxos essenciais e as vitaminas lipossolúveis, como A, D, E e K (KITTS, 1996). Inevitavelmente, a etapa de extração promove a formação e/ou remove da polpa/semente oleaginosas, compostos indesejáveis como ácidos graxos livres, hidrocarbonetos, metais pesados, glicolipídios, fragmentos de proteínas, resinas e mucilagens. As etapas de refino têm o objetivo de remover estes compostos, com o menor dano possível aos triacilgliceróis e menor perda dos compostos nutricionais (DE GREYT & KELLENS, 2005).

Óleos e gorduras são misturas complexas de ácidos graxos, ésteres de ácidos graxos, mono-, di- e triglicerídeos e componentes minoritários, tais como vitaminas, esteróis, fosfolipídeos, pigmentos e hidrocarbonetos. Os componentes lipídicos minoritários constituem a fração insaponificável, que é determinada por métodos baseados na extração do resíduo de saponificação de óleos e gorduras (GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAG & TEMELLI, 2004).

3.3.1 Componentes majoritários dos óleos vegetais

3.3.1.1 Ácidos graxos

Os ácidos graxos são os blocos construtores de várias classes de lipídeos, incluindo acilgliceróis, fosfogliceróis, glicolipídios, esteróis e algumas ceras. Todos os ácidos graxos

consistem em uma cadeia hidrocarbônica e um grupo terminal carboxílico. Eles variam no comprimento da cadeia e no número, posição e configuração de suas duplas ligações (HUI, 1996).

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos, geralmente monocarboxílicos, que podem ser representados pela forma RCOOH. Na maioria das vezes, o grupamento R é uma cadeia carbônica longa, não ramificada, com número par de átomos de carbono, podendo ser saturada ou conter uma ou mais insaturações. O grupo carboxila constitui a região polar e a cadeia R, a região apolar da molécula (GRAZIOLA *et al.*, 2002).

Os ácidos graxos mais frequentes possuem de 4 a 22 carbonos, sendo os mais comuns aqueles com 16 e 18 carbonos, dentre eles os saturados palmítico (C16: 0) e esteárico (C18:0), e os insaturados olêico (C18:1), linolêico (C18:2) e linolênico (C18:3) (SCRIMGEOUR, 2005).

Para efeito de comparação, a Tabela 03 apresenta os teores de ácidos graxos monoinsaturados, poliinsaturados e saturados de alguns óleos vegetais. Pode-se observar que o óleo de buriti apresenta teor de ácidos graxos monoinsaturados ligeiramente superiores ao azeite de oliva e ao óleo de castanha do Pará, reconhecidos pelo valor na prevenção do colesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*) e de doenças cardiovasculares (CHRISTIE, 2003).

Tabela 03- Composição em ácidos graxos de alguns óleos vegetais

FONTE: Christie, 2003

	Monoinsaturados (%)	Poliinsaturados (%)	Saturados (%)
Azeite de Oliva	72,3	11,5	16,2
Buriti	76,0	4,6	19,4
Canola	65,3	27,9	6,8
Castanha do Pará	73,6	5,1	21,3
Girassol	18,7	68,7	12,6
Milho	27,6	57,9	14,5
Óleo de Palma	38,0	9,7	51,4
Soja	23,5	61,0	15,5

Por outro lado, o teor de ácidos graxos saturados é comparável ao azeite de oliva, óleo de soja e castanha do Pará. Seu reduzido teor de ácidos graxos poliinsaturados confere a este óleo uma maior estabilidade oxidativa. Nos óleos vegetais, a maior parcela dos ácidos graxos se encontra esterificada (triacilgliceróis). A presença de grandes quantidades de ácidos graxos não-esterificados (ácidos graxos livres) é um indicativo de que algum dano permanente ocorreu ao lipídeo (CHRISTIE, 2003).

3.3.1.2 Acilgliceróis

Acil-ésteres de glicerol constituem os principais lipídeos de armazenamento em plantas e na maioria dos animais. Aproximadamente 98% dessas gorduras são constituídas de misturas de triacilgliceróis, isto é, moléculas de glicerol, cada uma esterificada com três ácidos graxos (HUI, 1996).

Os óleos vegetais caracterizam-se por terem ponto de fusão menor que 20°C, o que se deve à elevada proporção de ácidos graxos insaturados formando seus triglicerídeos constituintes, com pequenas exceções, como o óleo de palmiste e o de coco (óleos tropicais), que têm cadeias variando de curta a média, altamente saturadas, fazendo com que estas fontes sejam sólidas à temperatura ambiente (WARTHESEN & MUEHLENKAMP, 1997).

Além dos triglicerídeos, os óleos vegetais também podem conter em menores proporções, mono-, di-glicerídeos e fosfatídeos (ex.: lecitina), ceras, pigmentos (ex.: carotenóides, clorofila), esteróis, também chamados de matéria insaponificável (ex.: tocoferóis – que podem agir como antioxidantes naturais protegendo esses óleos ricos em ácidos graxos insaturados contra a oxidação) (MORETTO & FETT, 1998).

3.3.2 Componentes minoritários dos óleos vegetais

Os óleos vegetais contêm os seguintes componentes minoritários hidrocarbonetos, fosfolipídios, esteróis, clorofilas, tocoferóis e carotenóides.

3.3.2.1 Tocoferóis

São importantes constituintes minoritários da maioria dos óleos vegetais; em gorduras animais estão em pequenas quantidades ou ausentes. Os tocoferóis são antioxidantes, auxiliando na prevenção de rancidez oxidativa, e são também fontes de vitamina E. São

parcialmente removidos pelo calor durante o processamento e podem ser adicionados depois, para melhorar a estabilidade oxidativa dos óleos (VACLAVIK & CHRISTIAN, 2003).

Importante fonte de tocoferóis, o óleo de buriti, em estudos realizados por Albuquerque *et al.* (2005) apresentou 800 mg/kg de tocoferóis em sua composição. França *et al.* (1999), através da extração supercrítica por CO₂, encontraram 19300 mg/kg de tocoferóis no óleo extraído.

3.3.2.2 Carotenóides

Os carotenóides estão entre os pigmentos naturais mais abundantes, uma vez que a maioria das plantas pode sintetizá-los como proteção contra processos foto-oxidativos. Também podem ser encontrados em animais e microrganismos, embora as principais fontes sejam as frutas e hortaliças (OLIVER & PALOU, 2000).

A estrutura dos carotenóides confere inúmeras propriedades, que caracterizam suas diversas funções e ações nos organismos vivos. São essenciais para a fotossíntese e para a vida em uma atmosfera que necessita de oxigênio. Os carotenóides são hidrocarbonetos poliênicos, formados por até oito unidades de isoprenóides (tetraterpenos), lipofílicos e que possuem um esqueleto com 40 átomos de carbono, conferindo cor amarela, laranja ou vermelha (BELITZ & GROSH, 1992).

Eles são, talvez, mais familiares para nós no dia-a-dia, como pigmentos predominantes em muitas raízes, frutas e flores. Cenoura, tomate e pimentas vermelhas e pétalas de cravo são os exemplos mais comuns (BARTON *et al.*, 1999).

Devido ao seu sistema conjugado de duplas ligações, os carotenóides são altamente instáveis, sensíveis ao calor, luz, ácidos, oxigênio e enzimas como lipoxigenase, podendo levar a alterações ou parcial destruição dos pigmentos e perda da atividade pró-vitamina A.

Isto é resultado da isomerização da forma trans, mais estável, à cis, que pode ocorrer durante o processamento e armazenamento do produto que contém estes carotenóides (BELITZ & GROSH, 1992).

Na natureza são conhecidos 600 carotenóides, sendo apenas cerca de 40 regularmente consumidos pelo homem, e poucos apresentam atividade pró-vitamina A na dieta. O β -caroteno (Figura 03) é o que possui este maior potencial pró-vitamínico (1/6 da atividade do retinol, enquanto os outros fornecem apenas 1/12 de atividade da vitamina A).

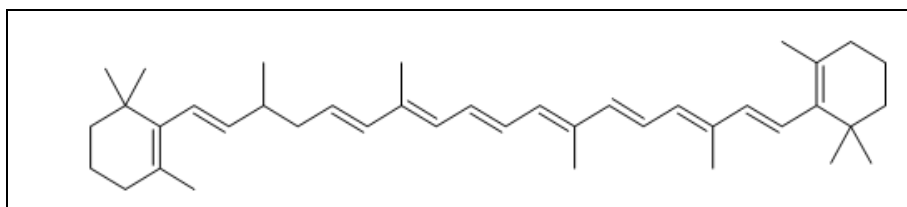


Figura 03- Estrutura do β -caroteno.
FONTE: Thane & Reddy, 1997

A deficiência de vitamina A se espalha em países em desenvolvimento e leva a danos no funcionamento celular, xeroftalmia, retardo no crescimento, elevação na suscetibilidade à infecção e, às vezes, cegueira (THANE; REDDY, 1997).

Além da característica citada acima, os carotenóides podem apresentar importante função antioxidante, auxiliando na prevenção de doenças degenerativas (KAUR & KAPOOR, 2001).

Em material seco, os β -carotenos são melhores extraídos de sua matriz vegetal com solventes imiscíveis em água, como éter dietílico ou éter de petróleo. A solubilidade do β -caroteno, varia com o solvente orgânico utilizado, sendo vinte vezes mais solúvel em hexano (600 mg/L) do que em etanol, e três vezes mais que em acetona. Entretanto, solventes aquosos, tais como etanol e acetona, quando utilizados em material úmido, agem ao mesmo

tempo como desidratantes e como solventes de extração (GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAG & TEMELLI, 2004).

O buriti é uma fonte rica de pró-vitamina A, com valores mais altos que alimentos muito consumidos pelos brasileiros, como goiaba, pitanga, mamão, maracujá e cenoura (RODRIGUEZ-AMAYA, 1996). O β -caroteno, carotenóide com maior atividade de vitamina A, representa mais de 90 % dos carotenóides do buriti. A Tabela 04 apresenta alguns valores de teor de carotenóides encontrados na literatura. Observe que, por ser uma matéria-prima de origem vegetal, a sua composição pode variar com a safra, local e condições de crescimento da palmeira (MARIATH *et al.*, 1989).

Tabela 04- Teor de carotenóides do fruto de Buriti.

Autor	Porção Analisada	Teor (mg/Kg)	Unidade
ALBUQUERQUE <i>et al.</i> ; 2005	Óleo	1707	Carotenóides Totais
FRANÇA <i>et al.</i> ; 1989	Óleo	1043	Carotenóides Totais
MARIATH <i>et al.</i> ; 1989	Óleo	3380	Carotenóides Totais
RODRIGUEZ-AMAYA, 1996	Polpa	64,9	Retinol equivalente

FONTE: Mariath *et al.*, 1989

3.4 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

A qualidade de um óleo vegetal é ditada por uma série de parâmetros físicos e químicos e depende tanto da espécie que lhe deu origem, como das condições climáticas e de cultivo (SHAHIDI, 2005). Somente a partir de um óleo vegetal bruto de boa qualidade é possível a obtenção de um bom óleo refinado.

3.4.1 Índice de Acidez (I.Ac.)

A determinação da acidez pode fornecer um dado importante na avaliação do estado de conservação do óleo. Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons hidrogênio. A decomposição dos glicerídeos é acelerada por aquecimento e pela luz, sendo a rancidez quase sempre acompanhada pela formação de ácidos graxos livres. Estes são frequentemente expressos em termos de índice de acidez, podendo ser também em mL de solução normal por cento ou em g do componente ácido principal, geralmente o ácido oléico (LUTZ, 1985).

3.4.2 Índice Saponificação (I.S.)

O índice de saponificação é uma medida dos ácidos graxos livres e combinados que existem no óleo e é diretamente proporcional à massa molar média (MMM). Quanto menor esta MMM, maior será o I.S. Vale ressaltar, que o índice de saponificação é pouco prático, ou seja, praticamente todos os óleos líquidos possuem o mesmo índice. (SCRIMGEOUR, 2005).

3.4.3 Índice Peróxido (I.P.)

O índice de peróxido é uma medida do oxigênio ligado aos óleos em forma de peróxido. Este método determina todas as substâncias, em termos de miliequivalentes de peróxido por 1000 g de amostra, que oxidam o iodeto de potássio nas condições do teste. Estas substâncias são geralmente consideradas como peróxidos ou outros produtos similares

resultantes da oxidação da gordura. E aplicável a todos os óleos e gorduras normais, incluindo margarina e creme vegetal, porém é suscetível e, portanto qualquer variação no procedimento do teste pode alterar o resultado da análise (LUTZ, 1985).

3.4.4 Índice de Refração (I.R.)

O índice de refração é característico para cada tipo de óleo, dentro de certos limites. Está relacionado com o grau de saturação das ligações, mas é afetado por outros fatores tais como: teor de ácidos graxos livres, oxidação e tratamento térmico. Este método é aplicável a todos os óleos normais e gorduras líquidas (LUTZ, 1985).

Tem grande utilidade no controle dos processos de hidrogenação, visto que os óleos possuem poderes de refringência diferentes; assim, o índice de refração de um óleo aumenta com o comprimento da cadeia hidrocarbonada e com o grau de insaturação dos ácidos graxos constituintes dos triglicerídeos. Esse índice é muito usado como critério de qualidade e identidade desses óleos (CECCHI, 2003).

3.5 MICRORGANISMOS E ANTIMICROBIANOS

Dentre os diferentes grupos de patógenos causadores de infecções hospitalares estão fungos, vírus e bactérias. No entanto, o grupo que mais se destaca é o das bactérias que constituem a flora humana e que normalmente não trazem riscos a indivíduos saudáveis, embora possam causar infecções em indivíduos com estado clínico comprometidos.

3.5.1 Microrganismos

3.5.1.1 Bactérias

As bactérias são seres procarióticos relativamente simples, e a grande diversidade de espécies desses microrganismos pode ser diferenciada por diversos fatores como morfologia, composição química, as necessidades nutricionais, atividades bioquímicas e a fonte de energia. A membrana citoplasmática situada no interior da parede celular tem como função servir como uma barreira seletiva, produção de energia por transporte de elétrons, duplicação do DNA e secreção de enzimas. (TRABULSI, *et al.*, 2004).

Envolvendo a parede celular pode ocorrer uma terceira camada, a cápsula. No interior da célula, além do citoplasma, encontra-se uma região correspondente ao núcleo, chamada nucleóide, e grânulos diversos. Frequentemente ocorrem prolongamentos filamentosos que partem da superfície bacteriana, são os flagelos e as fímbrias (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2005).

A parede celular é uma estrutura complexa, semi-rígida responsável pela morfologia da célula (bacilo ou bastonetes, cocos e espiraladas). Tem como função prevenir a ruptura da célula bacteriana devido à entrada de água, além de ser essencial para a divisão e o crescimento celular (BLACK, 1996).

As bactérias podem ser divididas em Gram-positivas e Gram-negativas, de acordo com a constituição da parede celular, e o que as diferencia são as propriedades de permeabilidade e os componentes de superfície (SCHAECHTER *et al.*, 2002). Nas bactérias Gram-positivas, a parede consiste de muitas camadas de peptidoglicana, formando uma estrutura espessa e rígida, e contém ácidos teicóicos (formados a partir de glicerol e ribitol) (TORTORA *et al.*, 2005).

Em contrapartida, a parede de bactérias Gram-negativas é mais complexa que a das Gram-positivas, sendo formada de poucas camadas de peptidoglicanas e uma membrana

externa, sendo esta formada por uma dupla camada lipídica: uma camada interna composta de fosfolípidos e uma externa contendo lipopolisacarídeos e proteínas (TORTORA *et al.*, 2005).

A membrana externa das bactérias Gram-negativas é hidrofílica, mas componentes lipídicos das moléculas constituintes conferem propriedades hidrofóbicas também. A membrana externa forma uma barreira adicional à entrada de algumas substâncias, como antibióticos (SILVA *et al.*, 2007; TRABULSI *et al.*, 2004). Para manter o metabolismo celular a membrana externa é permeável a algumas substâncias hidrofílicas como: açúcares, aminoácidos, e certos íons. Para isso, proteínas de membrana denominadas porina formam canais de entrada destas substâncias (TORTORA *et al.*, 2005; PELCZAR *et al.*, 1996).

O que separa a membrana externa da plasmática é o espaço periplasmático composto de camada de peptidoglicana e diversas proteínas que participam do transporte de soluto para dentro das células, além de enzimas (proteases, lipases, nucleases) a qual a membrana é impermeável. Também apresentam enzimas como a β -lactamases, responsável pela inativação de algumas drogas, que fazem com que microrganismos se tornem resistentes a muitos antimicrobianos (SCHAECHTER *et al.*, 2002).

***Staphylococcus aureus* (S. a.)**

O gênero *Staphylococcus* apresenta-se na forma de cocos Gram-positivos, isolados ou agrupados em cachos. São anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, imóveis e catalase positivos, são bactérias mesófilas, com temperatura de crescimento variando entre 7 a 47,8 °C, com produção de enterotoxina entre 10 a 46 °C (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Dentre as espécies desse gênero, *S. aureus* é considerada a mais importante em função da sua maior patogenicidade ao homem (VON EIFF *et al.*, 2001). Praticamente qualquer sistema de órgãos está propenso a infecção pelo *S. aureus*. As infecções mais importantes são

a bacteremia, endocardites e infecções do trato respiratório (KANAFANI & FOWLER, 2006). As bacteremias e endocardites são frequentemente associadas a sérias complicações e alta taxa de morte (PETTI & FOWLER, 2003).

Na década de 30, o uso de sulfanilamidas parecia ter solucionado o problema de contaminação e de doenças infecciosas por *Staphylococcus aureus*. Mas nas décadas de 50 e 70, surtos epidêmicos frequentes provocados por contágio por este microrganismo trouxeram novamente a preocupação quanto a sua resistência agora a penicilina e o surgimento de linhagens multirresistentes (MRSA) (SILVA, 2007).

Escherichia coli (E. c.)

Pertence à família *Enterobacteriaceae*, encontrado no trato intestinal de seres humanos e animais, e faz parte da microbiota normal, embora esteja relacionada a diversas infecções. *Escherichia coli* apresenta uma diversidade patogênica por produzirem enterotoxinas e são classificadas em cinco categorias: enteroxigênica -ETEC, enteroinvasora - EIEC, enteropatogênica – EPEC, êntero-hemorrágica – EHEC e enteroagregativa - EaggEC, de acordo com o grau de invasibilidade celular distintas por causarem enterites e gastroenterites por mecanismos diferentes (KONEMAN *et al.*, 2008; MIMS *et al.*,1999).

Além ser considerada a causa mais comum de infecção no trato urinário, meningite, e outras infecções extra-intestinais e a infecções hospitalares (JAWETZ *et al.*, 2007).

Klebsiella pneumoniae (K. p.)

Klebsiella pneumoniae geralmente presente no intestino, está também relacionado a infecções do aparelho urinário, endocardites e vários tipos de infecções pós-cirúrgicas, além de causar pneumonia (TRABULSI *et al.*, 2004).

Um dos maiores problemas relacionados à contaminação por *Klebsiella pneumoniae* ocorre em unidades pediátricas com crianças imunodeprimidas. A incidência de cepas de *Klebsiella pneumoniae* produzindo enzimas betalactamases de espectro expandido (ESBLs), nos Estados Unidos situa-se em torno de 5%. Na Europa, esta prevalência pode situar em torno de 14% a 16% (MENEZES *et al.*, 2006).

As ESBLs são geralmente transmitidas através de plasmídios. Como os plasmídios são facilmente transmitidos entre diferentes membros das enterobactérias, a acumulação de genes de resistência resulta em cepas que possuem plasmídios que codificam para multirresistência. As ESBLs produzidas por *Klebsiella pneumoniae* são a principal causa de aumento da resistência às cefalosporinas normalmente utilizadas para o tratamento de indivíduos (MENEZES *et al.*, 2006).

Pseudomonas aeruginosa (Ps. a.)

Segundo Trabulsi (2004), *Pseudomonas aeruginosa* é encontrado normalmente em solo, plantas e em ambiente hospitalares (água, equipamentos, utensílios, desinfetantes). Sua ampla distribuição ambiental é resultado de poucas exigências para seu crescimento. É um microrganismo natural da microbiota do intestino e da pele, embora se comporte como oportunista em pacientes imunocomprometidos (SOUZA *et al.*, 2007).

Por apresentar diversos fatores estruturais e toxinas que estimulam sua virulência é um microrganismo de grande importância clínica, estando envolvido em várias implicações clínicas em ambiente hospitalar. Indivíduos imunocomprometidos com neutropenia, diabetes

mellitus, queimaduras extensas, em indivíduos com processo respiratório comprometido, que tenham passado por processos invasivos e que façam uso de ventilação mecânica, são muito suscetíveis a infecções por *P. aeruginosa* (TORTORA *et al.*, 2005).

Uma das características das *Pseudomonas* é a capacidade de substituir o oxigênio por nitrato como o aceptor final dos elétrons. Este processo de respiração anaeróbica fornece tanta energia quanto a respiração aeróbica, e causa perda significativa do nitrogênio presente nos fertilizantes e no solo. Sua habilidade de utilizar proteínas e lipídeos contribui para degradação de alimentos (TORTORA *et al.*, 2005).

3.5.1.2 Fungos

Os fungos são microrganismos que constituem um grupo diversificado e abundante na natureza. São caracterizados por estruturas unicelulares ou multicelulares e classificados de acordo com sua morfologia em filamentosos, leveduras e dimórficos (PRADO, 2007). São seres eucarióticos, isto é, apresentam uma membrana nuclear que envolve os cromossomos e o nucléolo. São classificados como seres heterotróficos por não possuírem pigmentos fotossintéticos. (SIDRIM & ROCHA, 2004).

Os fungos causam doenças em animais e vegetais, destroem a madeira e materiais sintéticos e compartilham com as bactérias um importante papel na decomposição de restos orgânicos do solo (MENDES-GIANINNI & MELHEM, 1996).

As infecções causadas por fungos, denominadas micoses, parecem ser acidentais, ou seja, sua grande maioria não é contagiosa, mas adquirida por exposição do indivíduo a uma fonte natural de ocorrência do fungo. Existem na natureza mais de 250 mil espécies fúngicas conhecidas atualmente. Dentre elas, apenas trezentas aproximadamente foram identificadas, em processos patológicos em seres humanos ou animais (SIDRIM & ROCHA, 2004).

Candida albicans

O gênero *Candida* é composto por fungos leveduriformes hialinos, que apresentam duas formas de reprodução: assexuada ou anamorfa, através da formação de blastoconídios, pseudo-hifas e, ocasionalmente, hifas verdadeiras e sexuadas ou teleomorfa. Taxonomicamente são enquadradas dentro do grupo dos ascomicetos, visto que, a reprodução sexuada é caracterizada pela produção de ascos (SIDRIM & ROCHA, 2004).

Para a identificação das espécies do gênero *Candida* muitos aspectos são levados em consideração, como morfologia, capacidade de formar tubo germinativo, assimilação de carboidratos, assimilação de nitrogênio e fermentação de carboidratos (SIDRIM & ROCHA, 2004).

As leveduras do gênero *Candida* são microrganismos integrantes da microbiota bucal do homem desde o nascimento (BIRMAN, 1998). Esta condição microbiológica propicia comumente uma relação de equilíbrio entre parasita-hospedeiro, diante da manutenção da integridade das barreiras teciduais, relação harmônica da microbiota e funcionamento adequado do sistema imunológico humano, havendo em contrapartida por parte do fungo leveduriforme, permanência equilibrada da capacidade de aderência e da produção de enzimas e toxinas (CALDERONE & FONZI, 2001).

3.5.2 Antimicrobiano

3.5.2.1 Mecanismo de Ação

Mesmo com a ação diversificada dos antimicrobianos, a exposição excessiva aos fármacos por longos períodos contribuíram para o desenvolvimento de diversos mecanismos de resistências bacterianas (WRIGHT, 2005). Os agentes antimicrobianos são classificados de acordo com a estrutura química, mecanismo de ação, espectro de ação, entre outros (RANG *et al.*, 2007). De acordo com o mecanismo de ação, os antimicrobianos podem ser classificados em: antibacterianos e antifúngicos.

3.5.2.1.1 Antibióticos

Os antibióticos são produtos de enorme importância não apenas na área de saúde, como também na economia. O crescente problema em relação ao surgimento de espécies bacterianas resistentes aos diferentes antibióticos, talvez seja o principal desafio dos pesquisadores, visto que a multirresistência vem se tornando diariamente mais disseminada nas populações microbianas, sejam patogênicas ou não. Vários são os possíveis alvos para os agentes antimicrobianos. O conhecimento dos mecanismos de ação destes agentes (Figura 05) permite entender sua natureza e o grau de toxicidade seletiva de cada droga (TORTORA *et al.*, 2005).

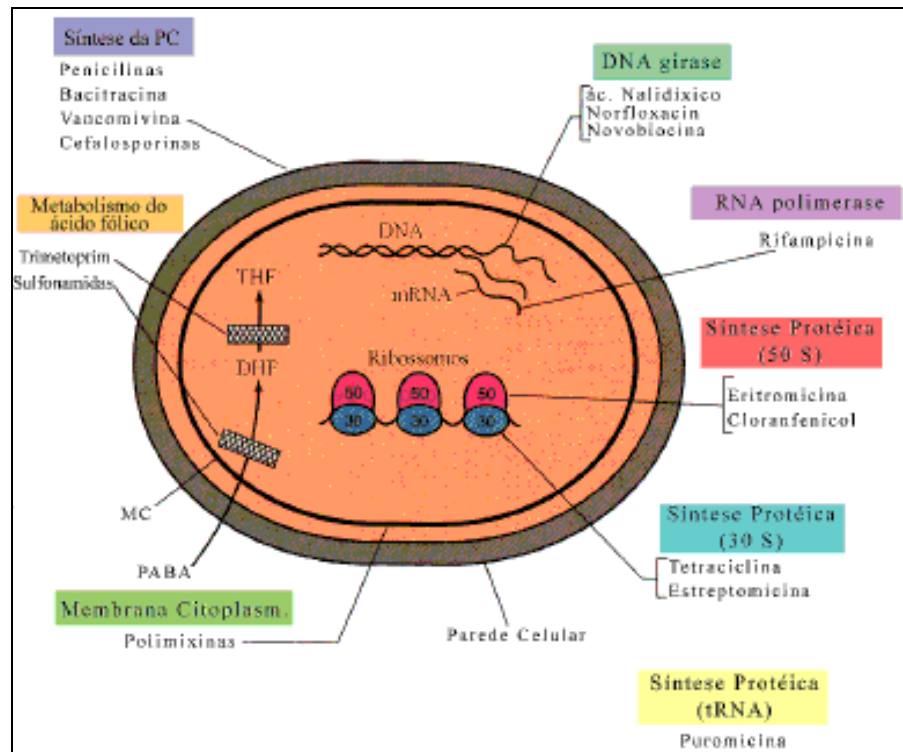


Figura 05- Mecanismo de ação dos antibióticos.

FONTE: Adaptado de Madigan *et al.*, Brock Biology of Microorganisms, 2004

Inibidores de Síntese de Parede celular:

Antibióticos de parede celular atuam produzindo uma parede celular bacteriana com defeitos estruturais e atuam sobre o processo de replicação celular. Para a inibição de síntese de parede celular são utilizados penicilinas, cefalosporinas, bacitracinas e vancomicina (TORTORA *et al.*, 2005).

Inibidores de Síntese de Proteínas:

A síntese proteica sofre interferências durante os seguintes processos: na formação do RNA-mensageiro, na fixação do RNA-mensageiro ao ribossoma, por alterações no ribossoma e na fixação do RNA-transportador ao ribossoma, ou seja, inibição da tradução e transcrição

do material genético. Entre os antibióticos que interferem a síntese protéica estão o cloranfenicol, a eritromicina, estreptomicina e as tetraciclina (TORTORA *et al.*, 2005).

Inibidores da Síntese de Ácidos Nucleicos:

Alguns antibióticos interferem nos processos de replicação e transcrição do DNA dos microrganismos. Algumas drogas com esse modo de ação apresentam uso limitado devido à interação com o DNA e o RNA dos mamíferos. Outras são mais utilizadas na quimioterapia porque têm maior grau de toxicidade seletiva. Para a inibição da síntese de ácidos nucleicos são utilizadas na quimioterapia rifampicinas e quinolonas por apresentarem maior grau de toxicidade seletiva (TORTORA *et al.*, 2005).

Inibidores da Membrana Citoplasmática:

Quando as moléculas dos antibióticos se intercalam na membrana provocam sua desorganização alterando sua permeabilidade seletiva com a saída de elementos vitais da célula como fosfatos, íons, purinas, e ácido nucleicos ou a entrada de substâncias nocivas ao metabolismo bacteriano, resultando em morte celular (RANG *et al.*, 2007; TRABULSI *et al.*, 2004). Os fármacos utilizados podem ser classificados em:

- Fármacos que desorganizam a membrana celular citoplasmática: tirociclina, polimixinas.
- Fármacos que produzem poros na membrana citoplasmática: gramicidina.

Inibidores do Metabolismo dos Folatos:

Alguns agentes que interferem no metabolismo de folato na célula bacteriana por competitividade, bloqueando a biossíntese de tetrahidrofolato, o qual atua como carregador de

fragmentos do carbono-um e é necessário para o término da síntese do DNA, RNA, e proteínas da parede celular (TORTORA *et al.*, 2005).

- Inibidor da síntese do ácido pteróico: sulfonamidas
- Inibidores da dihidrofolato redutase: trimetoprim

3.5.2.1.2 Antifúngicos

Agentes antifúngicos são fármacos empregados contra infecções causadas por fungos, podendo ser classificados como fungistáticos ou fungicidas. Agentes fungitóxicos têm ampla aplicação na clínica humana e veterinária, podendo ser utilizados no tratamento de plantas, sementes, solos, pinturas, conservadores de produtos industriais e etc (NOGUEIRA *et al.*, 2009).

Com os triazólicos de segunda geração surgem uma nova perspectiva para pacientes portadores de infecções fúngicas graves. As drogas mais antigas, muito tóxicas, verdadeiras “facas de dois gumes”, como a anfotericina B, tendem a ser substituídas gradativamente por novas substâncias que apresentam menos reações adversas e espectro antimicótico expandido (Figura 06). A grande vantagem dos triazólicos de 2ª geração é a atuação no ergosterol, alvo seletivo da membrana citoplasmática da célula fúngica, com menor interferência em componentes celulares humanos, como acontecia com as drogas mais antigas (NOGUEIRA *et al.*, 2009).



Figura 06- Mecanismo de ação dos antifúngicos de 1ª geração.
 FONTE: Adaptado de Madigan *et al.*, Brock Biology of Microorganisms, 2003

Com o aumento de resistência microbiana aos medicamentos normalmente indicados para tratamento e controle de diversas infecções, medidas defensivas a serem tomadas incluem o controle do uso de antimicrobianos, pesquisas que ajudem a compreender os mecanismos de resistência microbiana (NASCIMENTO *et al.*, 2000), e a busca por novas drogas com ação antimicrobiana.

Produtos naturais de origem vegetal têm sido investigados por diversos pesquisadores em todo mundo, como uma estratégia para obtenção de novos compostos com propriedades terapêuticas, drogas sintéticas ou naturais que possam auxiliar ou controlar a disseminação desses microrganismos (SCHAECHTER *et al.*, 2002).

3.6 MÉTODOS DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas e direcionadas no descobrimento de novos agentes antimicrobianos provenientes de extratos de plantas e outros produtos naturais, para

serem aplicados em produtos farmacêuticos e cosméticos. Existem vários métodos para avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos e óleos vegetais. Os mais conhecidos incluem método de difusão em ágar e método de diluição em caldo: macrodiluição e microdiluição (OSTROSKY *et al.*, 2008).

3.6.1 Método de Difusão em Ágar

O teste de difusão em ágar, também chamado de difusão em placas, é um método físico, no qual um microrganismo é desafiado contra uma substância biologicamente ativa em meio de cultura sólido e relaciona o tamanho da zona de inibição de crescimento do microrganismo desafiado com a concentração da substância ensaiada (PINTO *et al.*, 2003).

A avaliação é comparativa frente a um padrão biológico de referência (controle positivo) e a zona ou o halo de inibição de crescimento é medida partindo-se da circunferência do disco ou poço, até a margem onde há crescimento de microrganismos. De acordo com a dimensão do halo os microrganismos podem ser classificados como: (BARRY & THORNSBERRY, 1991).

Sensíveis: o diâmetro da zona de inibição é maior ou não mais do que três mm menos que o controle positivo;

Moderadamente sensíveis: halo maior que dois mm, porém, menor que o controle positivo de mais de três mm;

Resistentes: diâmetro igual ou menor que dois mm.

No controle positivo é empregado um quimioterápico padrão, e como controle negativo o solvente utilizado para a dissolução dos extratos e óleos (KARAMAN *et al.*, 2003).

As placas deverão ser incubadas em temperaturas que variam de 35-37 °C para bactérias durante 24 a 48 horas e para fungos de 25 a 27 °C por 48 a 72 horas (AYRES *et al.*, 2008).

As técnicas de aplicação da substância antimicrobiana no método de difusão são por meio de disco, cilindros de aço inoxidável ou vidro e perfuração em ágar (PINTO *et al.*, 2003).

3.6.2 Método de Diluição em Caldo

O método de diluição em caldo considera a relação entre a proporção de crescimento do microrganismo desafiado no meio líquido e a concentração da substância ensaiada. A avaliação é comparada frente a um padrão biológico de referência. Entende-se por proporção a densidade da turbidez provocada pelo crescimento microbiano (PINTO *et al.*, 2003).

O método fornece resultados quantitativos e não é influenciado pela velocidade de crescimento dos microrganismos. Sua desvantagem é a dificuldade na detecção de contaminação no caso de teste de materiais clínicos. Como controle positivo, utiliza-se o caldo com o quimioterápico padrão com a suspensão padronizada de microrganismo em teste, e como controle negativo o meio de cultura com o solvente usado para dissolução da amostra e a suspensão microbiana. Duas metodologias podem ser empregadas: macro e microdiluição. (SAHM & WASHINGTON II, 1991).

Macrodiluição

A macrodiluição envolve testes em tubos de ensaio, com volume de meio de cultura variando de 1 e 10 mL. Por ser laborioso, consumir muito tempo, requerer muito espaço no

laboratório e gerar grande quantidade de resíduos é usado pequeno número de réplicas (SAHM & WASHINGTON II, 1991; ZGODA & PORTER, 2001).

Microdiluição

A microdiluição utiliza micro placas com 96 poços, com volume de meio de cultura entre 0,1 e 0,2 mL. O método de micro placas é barato, tem reprodutibilidade, é 30 vezes mais sensível que outros métodos usados na literatura, requerem pequena quantidade de amostra, pode ser usado para um grande número das mesmas, deixa um registro permanente (OSTROSKY *et al.*, 2008).

3.7 FATORES QUE INTERFEREM NOS MÉTODOS

De acordo Ostrosky *et al.* (2008), diversos são os fatores que afetam a suscetibilidade do método de difusão e de diluição, sendo necessário ter um conhecimento das condições experimentais e padronização rigorosa na execução do teste. Os fatores importantes a serem considerados são: Meio de cultura, pH, disponibilidade de oxigênio, inoculo e condições de incubação.

4 METODOLOGIA

4.1 ÁREA DE ESTUDO

A Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Tupé (RDS Tupé) foi criada em 2005, através do decreto n° 8044, está localizada a margem esquerda do rio Negro aproximadamente 25 km de Manaus, possuindo uma área de 11.973 ha (SCUDELLER, *et al.*, 2005). Na RDS Tupé estão inseridas seis comunidades, das quais o Projeto Biotupé atua em duas: São João do Tupé e Julião. Este projeto teve como objetivo o estudo do meio físico, da diversidade biológica e sociocultural da RDS Tupé-AM. (SCUDELLER, *et al.*, 2005) (Figura 07).



Figura 07- (—) Trilha; (—) Perímetro; () Comunidades. Limites e localização das comunidades existentes na RDS Tupé (1. Agrovila, 4. Julião, 6. L.ramento, 7. São João do Tupé, 8. Central, 9. Tatulândia) e no seu entorno (2. São Sebastião, 3. Ebenezer, 5. Fátima, 10. Arara, 11. Bela Vista). A comunidade do Julião (4) foidefinida como local de amostragem.

FONTE: Scudeller, 2005

4.2 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO

Os frutos de *Mauritia flexuosa* L.f. foram adquiridos na RDS do Tupé, na Comunidade do Julião, (03° 01'53" S e 60° 20'54"W), nos meses de setembro e outubro de 2010. Em cada coleta foi retirado um cacho inteiro de buriti e a pesagem realizada em campo. Na Figura 08 é possível visualizar algumas etapas da coleta.



Figura 08- Etapas da coleta do buriti na Comunidade do Julião, localizada na RDS do Tupé. 1- A caminho da reserva do Tupé; 2- Escolha da palmeira e retirada do cacho de buriti; 3-Transferência do cacho para o bote; 4- Transporte do cacho para o local de pesagem e embalagem.

FONTE: Cecília Carvalho

Através do método de comparação a exsicata do material botânico foi identificada pela MSc. Ieda Leão do Amaral, botânica do Instituto de Pesquisas da Amazônia – INPA, e o material testemunho encontra-se depositado na coleção de referência do Biotupé, no laboratório de Botânica/UFAM (Figura 09).

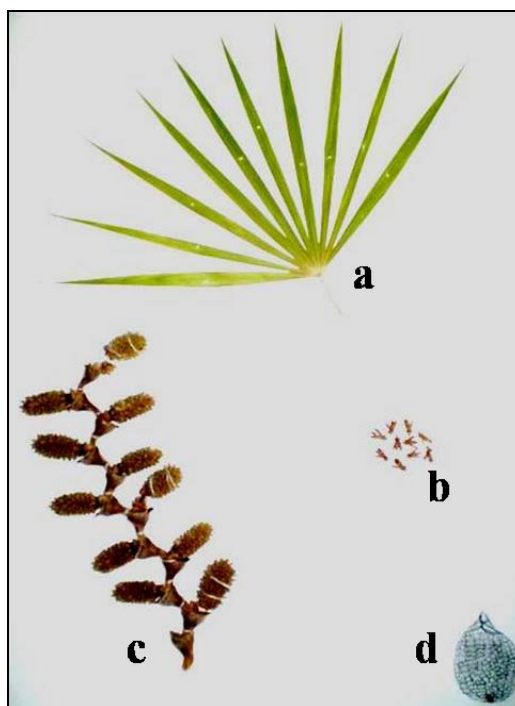


Figura 09- Exsicata de *Mauritia flexuosa* L.f., proveniente da coleta feita na RDS Tupé, depositada no Laboratório de Botânica/UFAM. a) folha jovem tipo costapalmada; b) flores masculinas; c) inflorescência em plantas masculinas; d) desenho do fruto inteiro do buriti.

FONTE: Cecília Carvalho

Os frutos de buriti foram transportados em sacos de polietileno preto até o Laboratório de Química Analítica - CPPN – INPA para a execução da parte experimental.

4.3 PROCESSO DE HIGIENIZAÇÃO

A metodologia de higienização dos frutos usada para separação da polpa e extração do óleo de buriti foi modificada com base em estudos realizados por Yuyama *et al.* (2008). Os

frutos selecionados e pesados foram submetidos a um processo de higienização com água e detergente, em seguida colocados em uma solução de água e hipoclorito a uma concentração de 400 ppm/L por 30 minutos, em seguida foram lavados e colocados em baldes com água destilada até o total amolecimento por aproximadamente 24 horas.

4.4 PROCESSAMENTO DA POLPA DE BURITI

Após a etapa de higienização dos frutos de buriti, através de processo manual com uma faca de aço inoxidável, a polpa foi separada das cascas e sementes e todas as frações pesadas. A polpa da primeira coleta (3399 g) foi acondicionada em recipiente plástico e colocada em refrigeração de 2 a 8°C. A polpa da segunda coleta (3357 g) foi acondicionada em sacos de polietileno preto protegida da luz e oxigênio atmosférico, que depois de hermeticamente fechados foram estocados em freezer comercial a uma temperatura de -20°C.

A polpa obtida na primeira coleta foi dividida em três partes com pesos iguais (1133 g) cada. Duas partes foram colocadas em estufa de ventilação em temperatura de 50°C por um período determinado de 48 horas, tanto para as polpas a serem extraídas por prensagem hidráulica, como as por solvente. A outra parte foi mantida úmida para o processo artesanal.

Com material da segunda coleta, antes do processo de extração pelos três métodos, os sacos de polpa congelados foram retirados com antecedência para o degelo e homogeneização. Em seguida a mesma foi dividida em três partes (1119 g) cada. Duas partes foram colocadas em estufa de ventilação a uma temperatura 40°C, sendo o tempo de secagem determinado somente quando a polpa obteve o peso constante, o que representou cerca de 20 horas na estufa. Para o resultado das médias dos frutos e das partes constituintes do buriti utilizou-se o seguinte cálculo:

$$\text{Média: } (x+y)/2$$

Onde:

x= dados da primeira coleta

y= dados da segunda coleta

4.5 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE *Mauritia flexuosa* L.f.

Os óleos da polpa e sementes de frutos oleaginosos podem ser extraídos de diversas formas. Em todos os casos, busca-se maximizar a produção e obter óleo bruto de boa qualidade. As extrações dos óleos de buriti foram feitas através de três métodos diferentes: extração artesanal, extração por prensagem hidráulica e extração por solvente. Para o resultado de comparação dos rendimentos entre os métodos de extração do óleo do buriti, primeiramente calculou-se as médias da polpa seca, torta e óleos obtidas nas duas coletas através da fórmula:

$$\text{Média} = (a+b)/2$$

Onde:

a= dados da primeira coleta

b= dados da segunda coleta

Com o resultado das médias avaliou-se o rendimento de cada extração, expressos em gramas e porcentagem, usando os seguintes cálculos. Os mesmos não foram expressos em mL em razão das perdas (cilindro, frasco, vidraria) que ocorrem durante o processo de extração.

Cálculo do rendimento:

$m_2 - m_3 =$ rendimento de óleo em gramas (g)

$(m_2 - m_3) / m_1 =$ rendimento em porcentagem (%)

Onde:

$m_1 =$ polpa úmida

$m_2 =$ polpa seca

$m_3 =$ torta

4.5.1 Extração Artesanal

A metodologia usada para extração do óleo de buriti pelo método artesanal foi modificada com base em estudos realizados por Vale (2008), na comunidade São João do Jaburu, Gurupá no Pará. Adicionou-se a um becker de 1000 mL a polpa úmida (1126 g) e 1L de água destilada, levou-se a uma chapa aquecedora em temperaturas que variaram de 50 a 90⁰C. O óleo sobrenadante foi extraído durante aproximadamente 24 horas intercaladas (Figura 10).



Figura 10- Processo de extração do óleo da polpa úmida do fruto de buriti pelo método artesanal.
FONTE: Cecília Carvalho

A quantidade de água foi sendo acrescentada durante o processo de extração. Em seguida o óleo extraído foi centrifugado em 16500 rpm, durante 15 minutos para a separação das fases líquida (água e óleo) e sólida (torta). Com ajuda de uma pipeta automática de 1000 μ l o óleo foi separado, acondicionado em frasco âmbar hermeticamente fechado, pesado e armazenado sob refrigeração (2 a 8°C) em geladeira comercial. A torta foi pesada e armazenada em temperatura ambiente.

4.5.2 Extração por Prensagem Hidráulica

Através do método de extração mecânica por prensagem hidráulica descontínua a polpa desidratada foi pesada e colocada em um cilindro de aço inox e levado a prensa sob uma pressão de 10 toneladas, durante aproximadamente 02 horas (SARTORI, 2007). O óleo bruto retirado foi pesado e armazenado em frasco âmbar hermeticamente fechado, sob refrigeração

(2 a 8 °C), em geladeira comercial. A torta resultante da extração foi pesada e armazenada em temperatura ambiente (Figura 11).



Figura 11- Extração do óleo da polpa seca do fruto de buriti por prensagem hidráulica. 1- peças de inox do cilindro de extração; 2- Extração do óleo com a polpa colocada no cilindro sob pressão de 10 toneladas; 3 - óleo de buriti sendo extraído em frasco volumétrico ao abrigo da luz e do ar; 4- óleo de buriti armazenado em frasco âmbar hermeticamente fechado. 5- torta resultante da polpa de buriti prensada.

FONTE: Cecília Carvalho

4.5.3 Extração por Solvente

A extração do óleo com solvente foi feita através da metodologia modificada com base em estudos feito por Silveira *et al.* (2005) utilizando como solvente o Hexano P.A. A polpa desidratada foi colocada em cartuchos papel de filtro e levada ao extrator Soxhlet acoplado a uma manta aquecedora (Figura 12).



Figura 12- Processo de extração do óleo de buriti por solvente (hexano) utilizando o aparelho o extrator Soxhlet.
FONTE: Cecília Carvalho

Em seguida foi adicionado o solvente na parte superior do aparelho para entrar em contato com o material contendo o óleo a ser extraído. O solvente liberado da extração, ao atingir seu ponto de ebulição, entra em contato com a parede fria do condensador acoplado, fica líquido e retorna para o material a extrair. Este processo ocorre até a polpa perder sua coloração, levando aproximadamente 12 horas descontínuas. O sistema foi aquecido a 70°C , temperatura de ebulição do solvente. O material extraído, coletado no balão, foi levado ao evaporador rotativo para separação do solvente por evaporação. O óleo foi pesado, armazenado em frasco âmbar, hermeticamente fechado e colocado sob refrigeração (2 a 8°C) em geladeira comercial. A torta resultante do processo de extração do óleo foi pesada e armazenada em temperatura ambiente.

Para melhor entendimento a Figura 14 apresenta o fluxograma proposto para os experimentos de extração, indicando as etapas a serem seguidas.

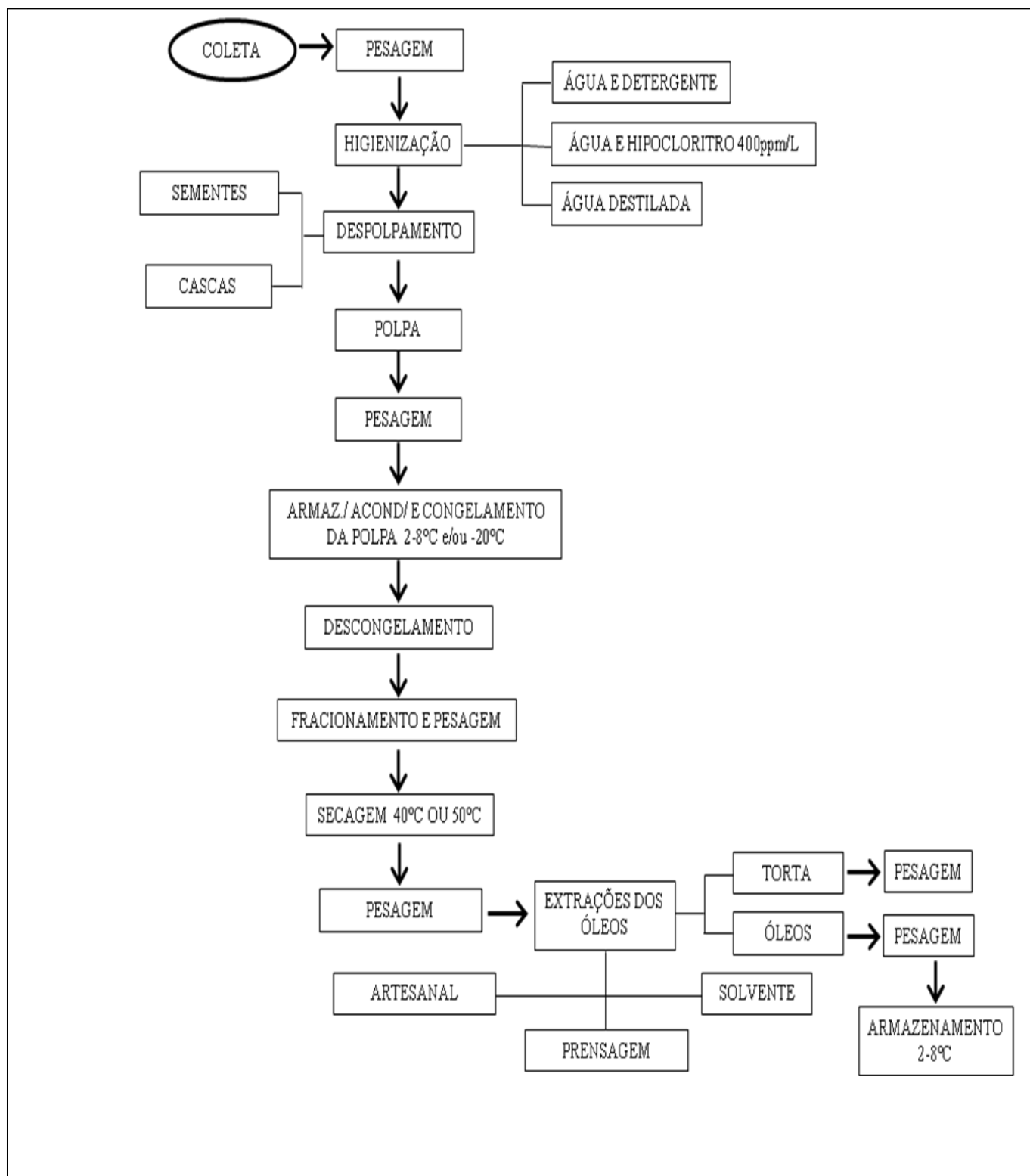


Figura 13- Fluxograma de todas as etapas do processo de extração dos óleos da polpa dos frutos de buriti

4.6 AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES DA POLPA

A avaliação dos constituintes da polpa (água, biomassa e óleo) foi feita utilizando-se as médias das polpas úmida, seca e extraída, encontradas anteriormente, fazendo-se o seguinte cálculo:

$$\text{Umidade} = (m_1 - m_2 / m_1) \times 100 (\%)$$

$$\text{Óleo} = (m_2 - m_3 / m_1) \times 100 (\%) \text{ (pelo método de extração com solvente)}$$

$$\text{Biomassa} = (m_3 / m_1) \times 100 (\%) \text{ (peso da torta proveniente da extração)}$$

Onde:

m_1 = polpa úmida

m_2 = polpa seca

m_3 = torta (polpa pós-prensagem)

4.7 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS ÓLEOS DE BURITI

As análises físico-químicas das três amostras do óleo de buriti extraídas pelos três métodos (artesanal prensagem e solvente) foram realizadas no Laboratório da Central Analítica do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA), localizado no Distrito Industrial em Manaus – AM. As propriedades físico-químicas analisadas foram índice de acidez, índice de refração, índice de peróxido, índice de saponificação. As metodologias oficiais utilizadas foram Official Methods of Analysis - A.O.A.C., (2005) e Normas do Instituto Adolfo Lutz (1985). Todos os testes foram realizados em triplicatas.

4.7.1 Índice de acidez

O índice de acidez foi determinado seguindo as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985), que determinou a quantidade de ácidos graxos livres presentes nas amostras de óleo durante o processo de extração líquido-líquido. O método de titulação envolvido baseou-se em pesar 2 g de óleo de buriti e adicionar a 25 mL de uma solução de éter e álcool etílico (2:1), em constante agitação até total dissolução do óleo. Adicionou-se duas gotas do indicador fenolftaleína. Em seguida titulou-se com uma solução de hidróxido de sódio 0,1N. Através do seguinte cálculo após a titulação foi possível determinar o índice de acidez em ácido oléico do óleo de buriti:

$$\text{I.ac.} = \frac{V \times f \times 100 \times 0,0282}{P}$$

Onde:

V= nº de mL de solução de hidróxido de sódio 0,1N gasto na titulação

f= fator de correção da solução de hidróxido de sódio

P= nº de gramas da amostra

4.7.2 Índice de refração

O índice de refração é característico para cada tipo de óleo e está relacionado com o grau de insaturação das cadeias, compostos de oxidação e tratamento térmico (Moretto & Fett, 1998). O índice de refração foi determinado em refratômetro da Abbé (Marca Optronics), à temperatura de 20°C, utilizando-se 10 microlitros de cada amostra (AOAC, 2005).

4.7.3 Índice de peróxido

Indica o grau de oxidação do óleo, determinando todas as substâncias que oxidam o iodeto de potássio, devido a sua forte ação oxidante (Zambiasi, 2007). A análise foi realizada utilizando-se a metodologia da A.O.A.C., (2005). Foi pesado 5g de cada amostra, acrescentado 30 mL da solução de ácido acético: clorofórmio (3:2) e adicionado 0,5 ml de solução saturada de KI e 30 ml de água. As amostras foram tituladas com a solução de tiosulfato de sódio a 1M até que a cor amarela tenha quase desaparecido. Foram acrescentados 0,5 mL de solução indicadora de amido e a titulação continuou até o desaparecimento da coloração azul.

O índice de peróxido foi obtido pela seguinte fórmula:

$$I.P.= (A-B) \times M \times 1000/P$$

Onde:

A: mL de tiosulfato de sódio 1M gasto na titulação da amostra

B: mL de tiosulfato de sódio 1M gasto na titulação do branco

P: número de gramas da amostra

M: molaridade da solução de tiosulfato de sódio

4.7.4 Índice de saponificação

Foram utilizados 5g de cada amostra em balões volumétricos e acrescentou-se 50 mL de solução de KOH (4%). Os balões volumétricos contendo o material foram conectados a condensadores e aquecidos em banho-maria (Marca GFL) até a completa saponificação do óleo. Após a retirada das amostras do sistema de aquecimento, foi utilizado como solução de

titulação HCL 0,5 a M, usando fenolftaleína como indicador. O índice de saponificação foi obtido pela seguinte fórmula:

$$\text{I.S.} = 28,05 \times (\text{B} - \text{A}) / \text{P}$$

Onde:

B: mL de HCL a 0,5 M gasto na titulação do branco

A: mL de HCL a 0,5 M gasto na titulação da amostra

P: número de gramas da amostra

4.8 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS DE BURITI

A atividade antimicrobiana foi realizada no Instituto Leônidas e Maria Deane – Fiocruz da Amazônia, nos Laboratórios de Micologia e Bacteriologia. Foram selecionadas cepas da Coleção de Bactérias da Amazônia (CBAM) de *Staphylococcus aureus* CBAM 324, *Pseudomonas aeruginosa* CBAM 232, *Escherichia coli* CBAM 02, *Klebsiella pneumoniae* CBAM 382 e da Coleção de Fungos da Amazônia (CFAM) de *Candida albicans* CFAM 1285.

Para a avaliação do teste suscetibilidade das três amostras de óleos extraídos pelos métodos artesanal, prensagem hidráulica e por solvente, foram empregadas duas metodologias, difusão em placa pela técnica de “spread-plate”, com os óleos puros e diluídos (HU *et al.* 2004) e difusão em caldo (microdiluição) baseando-se na metodologia modificada de Silveira *et al.* (2005). As amostras foram diluídas em Tween 80 a 5%. O meio de cultura utilizado para bactérias foi o Ágar Müeller-Hinton e para levedura o Ágar Sabouraud. Como controle positivo para bactérias Clorafenicol a 0,05g/10 mL de DMSO e para levedura

Itraconazol 0,05g/10 mL de DMSO, no controle negativo Tween 80. Os experimentos foram realizados em triplicatas e em câmara de segurança biológica, sob condições assépticas.

4.8.1 Difusão em placas

Preparação dos meios de cultura

Ágar Mueller-Hinton (1000 mL):

Müeller-Hinton.....21 gramas

Ágar.....21 gramas

Água destilada.....q.s.p

Agar Sabouraud (500 mL):

Dextrose.....15gramas

Ágar.....15 gramas

Peptona.....15 gramas

Água destilada.....q.s.p

As substâncias foram pesadas e colocadas uma por vez em um erlemayer com água destilada até total solubilização, em seguida foram lacradas e levadas para autoclave por 15 minutos a 121°C.

Atividade antimicrobiana

Em placas de Petri contendo meios de cultura específicos para cada microrganismo padrão foram feitos repiques. Estas foram incubadas por 24 horas para as bactérias e 48 horas

para a levedura, ambos a 37 °C. Após a confirmação do crescimento microbiano, retiraram-se alíquotas de cada placa, que foram transferidas para tubos de ensaio com 10 mL de água destilada, até a formação de uma concentração de 10^8 UFC/mL de acordo com a escala de turbidez a 0,5 de Macfarland.

Com ajuda de uma pipeta automática foram inoculados 25 μ l das pré-culturas em placas de Petri contendo meios de cultura esterilizados e específicos para cada microrganismo e utilizando-se swabs estas alíquotas foram espalhadas no meio. Após a secagem, fez-se quatro pocinhos (Figura 14) com aproximadamente oito mm de diâmetro e dentro de três colocou-se 150 μ L das amostras puras e no outro colocou-se 150 μ L do controle positivo.

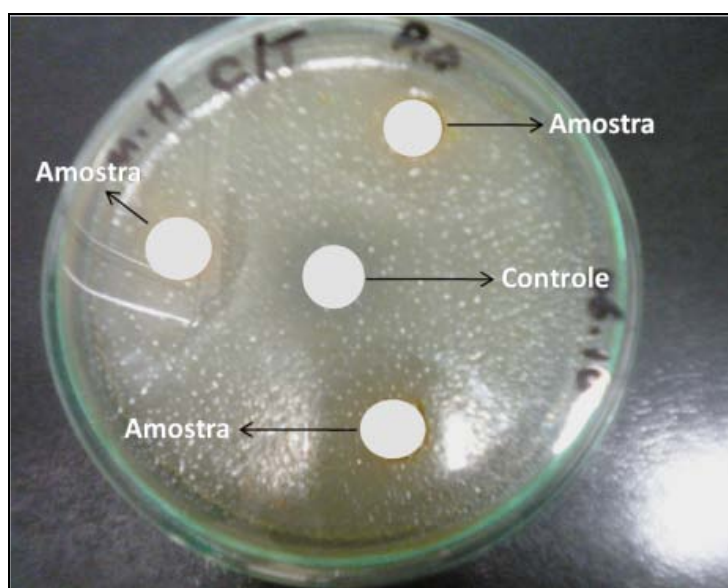


Figura 14- Desenho esquemático da placa perfurada com quatro pocinhos de oito mm, em triplicata.
FONTE: Cecília Carvalho

A mesma metodologia foi adotada para as amostras diluídas em Tween 80 a 5%. Utilizou-se 150 μ l de cada amostra. Como controle positivo usou-se 150 μ l de Clorafenicol e Itraconazol e no controle negativo 150 μ l Tween 80. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 horas para bactérias e 48 horas para levedura. Após este período

as placas foram analisadas, as que apareceram halo de inibição, tiveram seus diâmetros medidos e foram considerados sensíveis a ação de microrganismos (Figura 15).

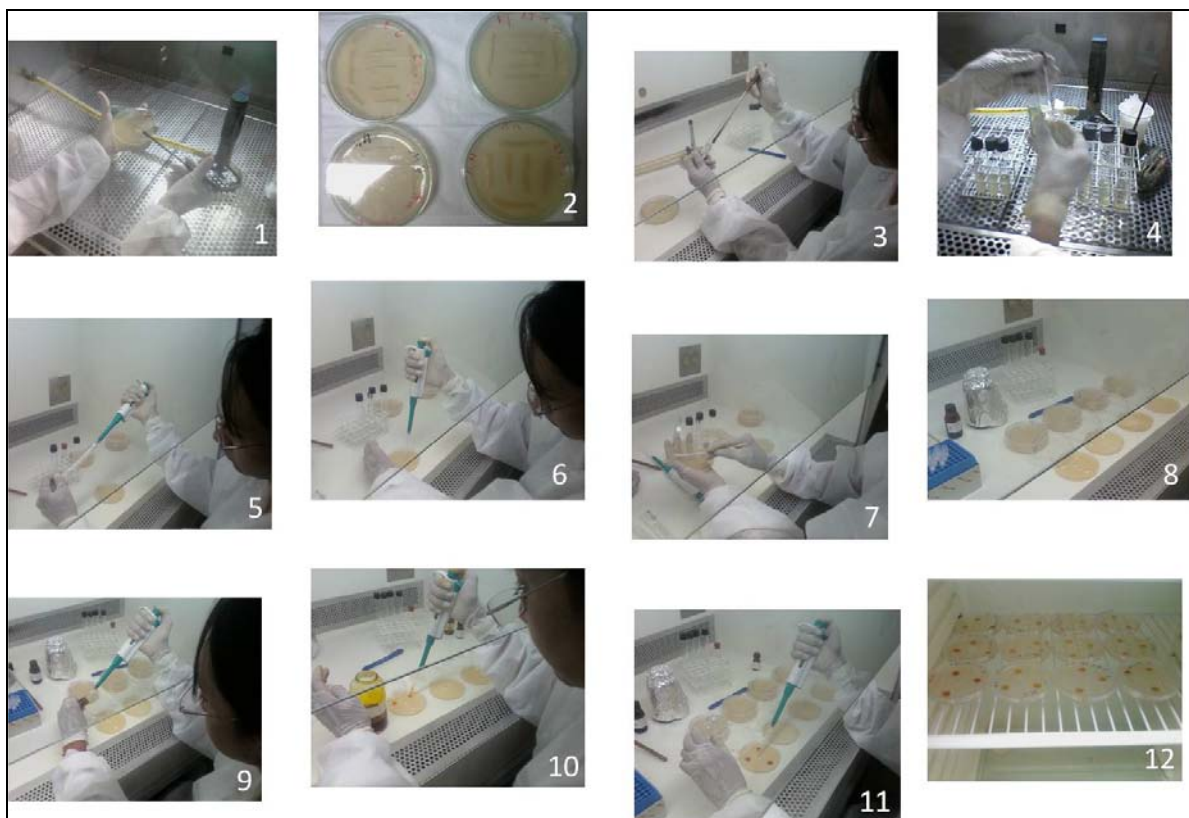


Figura 15- Esquema da técnica de difusão em placa das amostras A, B e C, do óleo de buriti. 1- Repique das bactérias e levedura; 2- Placas com o crescimento dos microrganismos; 3- Preparação das pré-culturas; 4- Comparação com a escala de 0,5 Macfarland; 5,6 Alíquota e inoculação da pré-cultura nas placas; 7- Inoculação com o swab; 8- Placas inoculadas esperando secagem para fazer os pocinhos; 9,10- Amostras sendo colocadas; 11- Controle positivo; 12- Panorama das placas na incubadora.

FONTE: Cecília Carvalho

4.8.2 Diluição em Caldo (Microdiluição)

Preparação dos meios de cultura

Caldo Sabouraud (50 mL):

Dextrose.....1,5 gramas

Peptona.....0,5 gramas

Água Destilada.....q.s.p.

Caldo Mueller-Hinton (200 mL):

Mueller-Hinton.....4,2 gramas

Água Destilada.....q.s.p.

As substâncias foram pesadas e colocadas uma por vez em um erlermayer com água destilada até total solubilização, em seguida foram lacradas e levadas para autoclave por 15 minutos a 121°C.

Atividade Antimicrobiana

Utilizando 10 mL de solução salina, cepas dos microrganismos de referência foram transferidas para os tubos de ensaio até a formação da concentração de 10^8 UFC/mL de acordo com a escala 0,5 de turbidez de Macfarland. As amostras de óleo foram diluídas com Tween 80 a 5%. Cada poço da placa “Sensititre Microtiter” foi preenchido com 100 µl das amostras diluídas (Tween 80 a 5%) e do meio de cultura, 25 µl da pré-cultura e do revelador cloreto trifeniltetrazólio (TCC) a 1%, que permite a observação do crescimento bacteriano através das cores, se a cor da amostra permanecer a mesma significa ausência de crescimento e se apresentar cor vermelha presença. Como controle positivo utilizou-se 100 µl de Clorafenicol e como controle negativo 100 µl de Tween 80. As placas foram seladas com parafilme e incubadas a 37 °C. Após este período as leituras foram feitas em 12 e 24 horas. Os poços da placa que apresentaram ausência de mudança de cor foram interpretados como positivos frente a ação dos microrganismos testes (Figura 16).

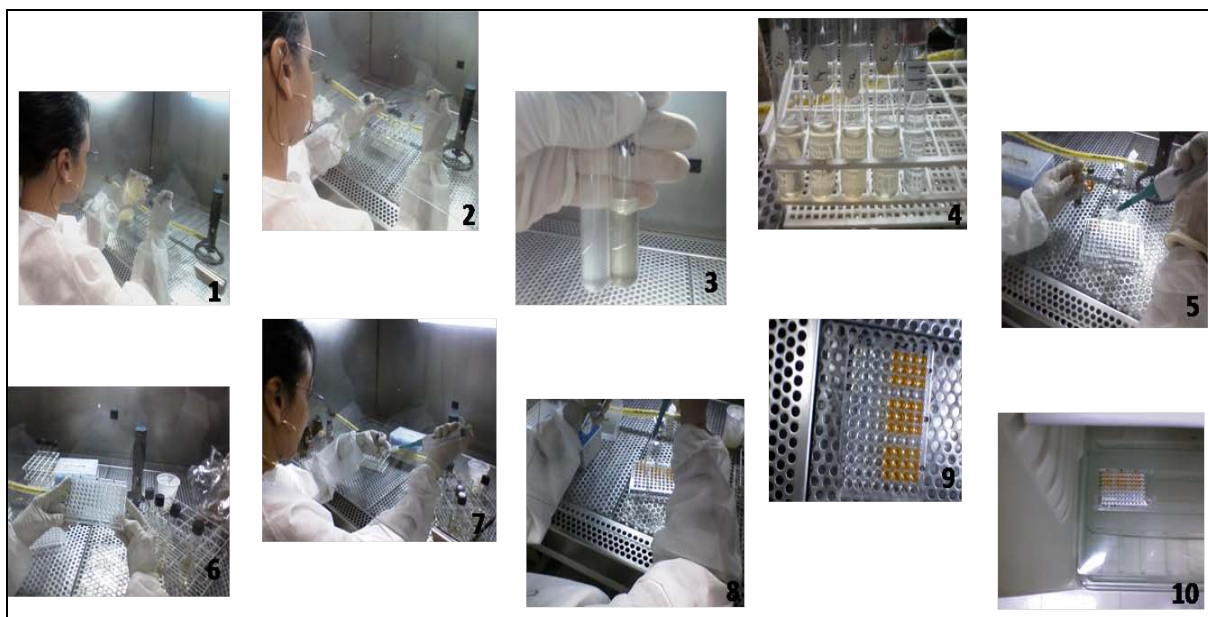


Figura 16- Etapas da atividade antimicrobiana da metodologia de microdiluição. 1- Repique das bactérias; 2- Preparação da pré-cultura; 3- Comparação com a escala 0,5 Macfarland; 4- Pré-culturas prontas; 5-Colocando as amostras; 6- Placa de múltiplos poços; 7- Colocando a pré-cultura; 8- Colocando o revelador; 9- Visualização da placa pronta; 10- Placa na incubadora.

FONTE: Cecília Carvalho

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 COLETA E SEPARAÇÃO DOS FRUTOS DE BURITI.

Foram realizadas duas coletas de frutos de buriti e os valores obtidos podem ser visualizados na Tabela 05, que apresenta a média e o desvio padrão dos frutos de buriti e de suas partes constituintes.

Tabela 05: Valores das médias e desvio padrão e percentual, em massa, dos frutos de buriti e suas partes provenientes dos processos das duas coletas.

D.P.= desvio padrão

PARTES	MÉDIAS (g)	D. P.	MASSA (%)
FRUTOS	14328	1	100
SEMENTES	7793,75	1,25	54,40
CASCAS	3156,25	23,25	22,03
POLPAS	3378,00	21	23,58

Com base nestes dados pode-se perceber que não houve grandes variações entre os frutos e suas frações (polpas, sementes e cascas) nas duas coletas. O maior percentual 54,40% foram para as sementes, 23,58% para a polpa e 22,03% para as cascas. Acredita-se que o alto valor atribuído ao peso das sementes deve-se a estrutura das mesmas e por terem sido pesadas junto com o endocarpo, endosperma e fibras. Apesar de os frutos das coletas terem sido obtidos da mesma palmeira não apresentaram diferenças aos resultados apresentados por Barbosa *et al.* (2010), que avaliaram a variabilidade biométrica entre diferentes palmeiras de buriti nas savanas do estado de Roraima cujo valores foram de 22,07% para as cascas, 24,25% para a polpa, 21,03% para fibra e 32,65% semente (endosperma/endocarpo).

O mesmo também pode ser constatado por Becker *et al.* (2006) em estudo sobre os frutos de buriti, onde os resultados para as cascas foram de 21,57%, para a polpa de 24%, sementes (endosperma/endocarpo) 45,33 % e fibra 8,48%. E por Carvalho & Müller (2005), cuja pesquisa apresentou um percentual de 22,2% para cascas, 25% para polpa, 37,1 para a semente e 15,7% para outras estruturas, sendo o fruto do buriti classificado dentro de um grupo de espécies frutíferas mais consumidas na Amazônia, que apresentam um baixo rendimento de polpa (21% a 40%).

Apesar dos estudos Barbosa *et al.* (2010) indicarem uma variabilidade morfométrica entre os frutos de uma mesma localidade, os resultados apresentados nesta pesquisa apresentam-se dentro dos limites métricos comparáveis a outras regiões da Amazônia. No entanto, esta variabilidade serve para refletir nos atributos de quantidade e qualidade das partes de cada fruto de buriti.

5.2 AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES DA POLPA

De todas estas partes do fruto de buriti, a polpa, é rica em carotenóides, fibras, vitaminas, cálcio e outros constituintes, além de conter também óleo e água. Na Figura 17 estão expressos os valores dos seus constituintes (óleo, água e biomassa), utilizando-se o método por solvente. Observa-se que o maior percentual 49, 20% foi para a umidade, 27, 25% para biomassa e 23, 55% para o óleo.

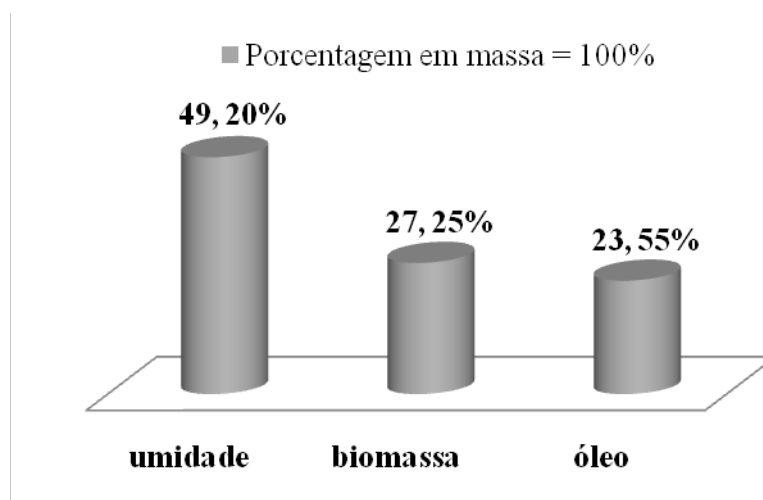


Figura 17- Determinação do percentual, em massa, dos constituintes da polpa dos frutos de buriti. Umidade 49,20%, biomassa 27,25% e óleo 23,55%, obtido através do método com solvente, utilizando-se o hexano.

O rendimento de óleo encontrado nesta pesquisa pode ser considerado baixo quando comparado a outros resultados como aos mostrados por Serruya *et al.*, (1980), de 35,70% e FAO (1986) de 31%. No entanto, este rendimento só é considerado baixo quando apenas o subproduto (óleo) é aproveitado dos frutos. Quando se considera que os demais subprodutos como a torta, cascas, sementes também podem ser aproveitados, a utilização desta espécie torna-se bastante interessante, pois se agregam valores e viabiliza-se sua utilização em diversas outras áreas como nutrição, agricultura, cosmetologia e farmacologia.

5.3 EXTRAÇÃO E RENDIMENTO DOS ÓLEOS DE BURITI

A comparação entre os três métodos de extração dos óleos da polpa dos frutos de buriti é apresentada na Tabela 06.

Tabela 06- Médias, desvio padrão e percentual, em massa, das polpas secas, tortas e óleos obtidos durante as duas coletas.

Coletas	Métodos de Extração	Polpa Seca (g)	Torta (g)	Rendimento de óleo (g)	Rendimento de óleo (%)
1	Artesanal	572,10	527,76	44,25	3,94
	Prensagem	572,00	325,80	246,10	21,87
	Solvente	572,00	297,77	274,23	24,35
2	Artesanal	572,00	526,00	46,00	4,09
	Prensagem	572,00	333,99	238,00	21,14
	Solvente	572,00	315,84	256,16	22,75
Medias	Artesanal	572,05	526,88	45,13	4,01
	Prensagem	572,00	329,895	242,05	21,50
	Solvente	572,00	306,805	265,20	23,55
Desvio Padrao	Artesanal	0,05	0,88	0,88	
	Prensagem	-	4,095	4,05	
	Solvente	-	9,035	9,03	

De acordo com os resultados expostos, a extração com solvente foi a que apresentou maior rendimento (23,55 %), seguido pela extração por prensagem hidráulica (21,50%) e método artesanal (4,01%) de óleo extraído. A metodologia por solvente apresentou o maior rendimento, entretanto é um processo que produz resíduos químicos, utiliza energia e gera aquecimento tanto no óleo quanto na torta.

No método artesanal, o produto obtido apresentou-se opaco, com alta umidade, baixo rendimento e para evitar o processo de oxidação em poucos dias, o mesmo teve que ser centrifugado para retirar a umidade. Mesmo assim, este método, é muito utilizado na região Amazônica pelos moradores de comunidades ribeirinhas e rurais. O uso é justificado devido

aos costumes tradicionais que passam de pai para filho, as baixas condições de renda e a falta de projetos juntos a estas comunidades visando à implementação de técnicas de extração que estejam de acordo com a realidade local e que seja de fácil execução.

O processo por prensagem em relação aos demais mostrou-se uma ótima alternativa a ser empregada nestas localidades. É um procedimento que não utiliza energia elétrica, solventes e não gera aquecimento nem no óleo e na torta, sendo necessário apenas uma prensa e um cilindro extrator. Quando todas as etapas deste método são respeitadas (coleta, higienização, conservação e principalmente a secagem) a polpa apresenta as condições ideais quanto a umidade e viscosidade, para que a força exercida (10 toneladas) no momento da extração seja o suficiente para extrair somente o óleo, em quantidades satisfatórias e bem próximas a obtida quando usa-se solvente.

Em relatos feitos por Ungaro, (2001), o óleo quando é extraído a frio em mini-prensas tem diversas aplicações, desde uso doméstico, na propriedade rural e mercados locais, produção de biodiesel, produtos farmacêuticos e cosméticos. Além disto, apresenta uma torta gorda quando comparada com a torta magra obtida pelo método com solvente.

De acordo com Câmara & Martins (2001) a torta ou farelos, resultantes da extração de óleo, possuem elevado valor comercial, podendo ser destinado à alimentação animal ou como adubo orgânico em culturas perenes. Além disso, avaliação dos teores de proteína, lipídeos e carboidratos destas tortas, gera a possibilidade da utilização das mesmas na alimentação humana.

5.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS ÓLEOS DE BURITI

O Quadro 03 apresenta os resultados dos parâmetros físico-químicos dos óleos de buriti obtidos através de três métodos (artesanal, prensagem hidráulica e solvente),

comparando as duas coletas, a primeira com temperatura de armazenamento da polpa úmida a 2-8°C e a segunda com temperatura de -20°C.

Quadro 03- Análises físico-químicas do óleo da polpa de buriti referentes às coletas na RDS Tupé, a partir de três métodos de extração artesanal; prensagem hidráulica e por solvente, utilizando temperaturas de armazenamento de -20 °C e 2 a 8°C. I. Ac.= Índice de acidez, I. Ac. Oléico = Índice de Ácido Oléico, I. R.= Índice de Refração, I. S.= Índice de Saponificação e I. P.= Índice de Peróxido.

n.a = índices não analisados

*Valores de referência RDC nº 270 e Normas do Codex Alimentarius – FAO/OMS.

Armazenamento	Métodos	I.Ac. (mg NaOH/g)	I.Ac. Oléico (%)	I.R. 20°C	I.S. (mgKOH/g)	I.P. meq/kg
- 20°C	Artesanal**	1,29	0,65	1,467	173,9	ausente
	Prensagem Hidráulica	1,57	0,79	1,467	128,6	ausente
	Solvente	1,41	0,71	1,467	140,8	ausente
2 - 8°C	Artesanal**	5,82	2,92	n.a	n.a	n.a
	Prensagem Hidráulica	10,21	5,13	n.a	n.a	n.a
	Solvente	17,36	8,73	n.a	n.a	n.a
Referências *		4,0	máx. 2,0	1,465-1467	máx. 250	máx. 15

Desta forma, pode-se observar que em temperatura de armazenamento da polpa úmida a -20°C todos os valores dos óleos adquiridos através dos três métodos apresentam-se dentro dos limites estabelecidos pelas legislações vigentes. De acordo com ANVISA (2005) os parâmetros estipulados pela Resolução RDC nº 270, o índice de acidez (I.AC.) e o índice de peróxido (I.P.) destes óleos não devem ultrapassar o limite máximo de 4,0 mgNaOH/g e 15 meq/Kg, respectivamente.

A resolução ressalta ainda, que a identidade de óleos vegetais, incluindo azeites de oliva, e de gorduras vegetais deve atender também aos requisitos de composição determinados

em Normas do Codex Alimentarius - FAO/OMS, que estabelece parâmetros de I.Ac. de 4,0 mgNaOH/g e I.P. de até 10 meq/Kg, para óleos prensados a frio e não refinados.

O mesmo não pode ser observado, quanto ao índice de acidez e ácido oléico, quando se utilizou a temperatura de armazenamento da polpa úmida foi de 2-8°C. Estes valores apresentaram-se bem acima do que determina à legislação e em consonância aos encontrados por Albuquerque & Regiane (2006) cujo índice de acidez foi de 7,47 mgKOH/g e de Faria *et al.* (2009) 7,63% para o índice de ácido oléico.

De acordo com relatos de Albuquerque & Regiane (2006), o alto índice de acidez pode ser decorrente da degradação da polpa do buriti, um reflexo do tempo decorrido entre a coleta e o processamento dos frutos. Nogueira (1992), discorre ainda que estas propriedades físico-químicas de óleos podem ser alteradas pela temperatura, levando à rancificação e alterando pigmentos, tais como os carotenóides.

Outro fator importante a ser comentado é o armazenamento, pois de acordo com Aquino *et al.* (2009), as temperaturas de congelamento e refrigeração contribui para a redução das atividades microbianas e das alterações químicas e enzimáticas características das hortaliças e frutas. Dessa forma, a seleção das condições de operação (tipo de secagem e tempo) que minimizam essas alterações é importante para obtenção de produtos de qualidade.

A secagem constitui uma etapa prévia para aumentar a recuperação do óleo e sua qualidade, sendo objeto de otimização na extração de óleos de sementes oleaginosas, entretanto pode provocar efeitos adversos sobre sua qualidade. Altas temperaturas, longo tempo de exposição a tratamentos térmicos, irradiações e alta concentração de oxigênio, levam à oxidação lipídica e afetam suas propriedades físico-químicas (RAMESH *et al.*, 1995).

Fatores como índice de peróxido, refração e saponificação tornam-se também importantes parâmetros, pois de acordo com Moretto & Fett (1998), fornecem o grau de

oxidação em que a gordura ou o óleo se encontram, sendo uma das principais formas de deterioração e responsável pelo aparecimento de alguns sabores e odores estranhos. Além de danificar a qualidade nutricional e possivelmente produzindo substâncias tóxicas.

Em pesquisas realizadas por Albuquerque *et al.* (2005), o óleo de buriti é classificado como um óleo oléico, mesma classificação dada ao azeite de oliva, ao óleo de canola e amendoim, devido a elevada quantidade deste ácido graxo, cerca de 75%.

O Quadro 04 apresenta uma comparação das propriedades físico-químicas das amostras do óleo de buriti, em temperatura de -20°C, com estes óleos, cujos valores foram determinados pela Resolução RDC nº 482 (ANVISA, 1999). Os resultados apresentados confirmam a similaridade do óleo de buriti com os óleos de canola, amendoim e oliva relatados na literatura.

Quadro 04- Comparação das propriedades físico-químicas dos óleos da polpa dos frutos de buriti (artesanal, prensagem hidráulica e solvente) com os óleos de canola, amendoim e oliva.

Propriedades físico-químicas	Método Artesanal	Método Prensagem Hidráulica	Método Solvente	Canola	Amendoim	Oliva
Í.de Ác. Oléico (%)	0,65	0,79	0,71	2,0	2,0	2,0
I. de Refração (20°C)	1,467	1,467	1,467	1,465-1,467	1,460-1,465	1,468-1,470
I. Peróxido (meq/Kg)	ausente	ausente	ausente	máx. 10	máx. 10	máx. 10
I. de Saponificação (KOH/g)	173,9	128,6	140,8	182-193	187-196	182-193

Conforme o exposto acima as propriedades físico-químicas de óleos vegetais têm uma relação importante com o tempo decorrido entre a coleta e o processamento dos frutos. Quando as condições de armazenagem não são adequadas pode ocorrer o aumento na

temperatura, aumentando a acidez do óleo, escurecimento, alterações no sabor e odor e alterações estruturais (ALBUQUERQUE & REGIANE, 2006; MORETTO & FETT, 1998).

Quando a temperatura de armazenamento da polpa úmida do presente estudo foi alterada, pôde-se perceber que ocorreram alterações significativas nas propriedades físico-químicas dos óleos extraídos da polpa dos frutos de buriti (vide quadro 03). Portanto, a condição de armazenamento da polpa úmida torna-se importante condição para a manutenção destes parâmetros e para a boa qualidade do óleo extraído.

5.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Há muitos anos óleos e extratos de plantas vêm sendo utilizados para diversas aplicações na medicina popular, entre elas, a produção de anti-sépticos tópicos. Esta realidade serviu de base para diversas investigações científicas com vista na confirmação da atividade antimicrobiana destes vegetais (ALMEIDA *et al.*, 2006).

Os resultados do método por difusão em ágar foram expostos na Tabela 07 e mostram que os óleos puros não apresentaram halo de inibição frente aos microrganismos testados, entretanto o mesmo não foi observado quando se utilizou as amostras diluídas (20µl/mL), onde as zonas de inibição formadas frente a *Pseudomonas aeruginosas*, apresentaram diâmetros de 11 mm para amostra A e de ±12 mm para as amostras B e C.

Tabela 07- Atividade antimicrobiana (halos de inibição= mm) dos óleos puros e diluídos da polpa do fruto de buriti, pelos métodos de difusão em placas, 24 e 48 horas após a incubação. Amostras: extração tradicional; prensagem hidráulica e extração por solvente. Microrganismos: *Staphylococcus aureus* (S.a), *Escherichia coli* (E.c.); *Pseudomonas aeruginosa* (P.a); *Klebsiella pneumoniae* (K. p.) e *Candida albicans* (C.a). * Valores dos halos de inibição das amostras de óleos que apresentaram resultados positivos para *Pseudomonas aeruginosa* (P.a). (-) Amostras que apresentaram resultados negativos.

Microrganismos												
Amostras	Puras	S.a.	E.c.	Ps.a.	Ky	C.a.	Diluidas	S.a.	E.c.	Ps.a.	Ky	C.a.
Artesanal		-	-	-	-	-		-	-	11*	-	-
	Controle+	5	5	5	5	5		5	5	5	5	5
Prensagem		-	-	-	-	-		-	-	12*	-	-
	Controle+	5	5	5	5	5		5	5	5	5	5
Solvente		-	-	-	-	-		-	-	12*	-	-
	Controle+	5	5	5	5	5		5	5	5	5	5

De acordo com Hood *et al.* (2003), as substâncias normalmente testadas pelos métodos propostos têm natureza hidrófila sendo padronizados para esta condição. Como os óleos são viscosos, insolúveis em água e complexos, podem formar suspensão turva que impede a determinação visual da eficácia antimicrobiana, devido à interferência da dissolução insuficiente dos componentes testados.

Outro problema observado quando se utiliza a técnica de difusão em ágar é a concentração desigual do óleo no meio, pois a difusão irregular dos componentes lipofílicos resulta em concentrações desiguais causando a formação de regiões com atividade antimicrobiana variável e, finalmente, a determinação de um número de bactérias viáveis remanescentes, após a adição do óleo (SETZER *et al.*, 2004).

Os autores supracitados, Hood *et al.* (2003) e Setzer *et al.* (2004), acreditam que os resultados negativos encontrados nos trabalhos que utilizam o teste de difusão em ágar para analisar o potencial antimicrobiano de óleos brutos podem ser decorrentes do impedimento de observação dos halos de inibição. Isto ocorre devido a dificuldade que a substância tem em se difundir no meio em razão das diferenças de polaridade entre os meios.

Acredita-se que os resultados positivos para *Pseudomonas aeruginosas* quando se utilizou amostras de óleos diluídas, se deu pelo uso do agente emulsificante, Tween 80, a uma concentração de 5%, que facilitou a dispersão das mesmas no meio ágar.

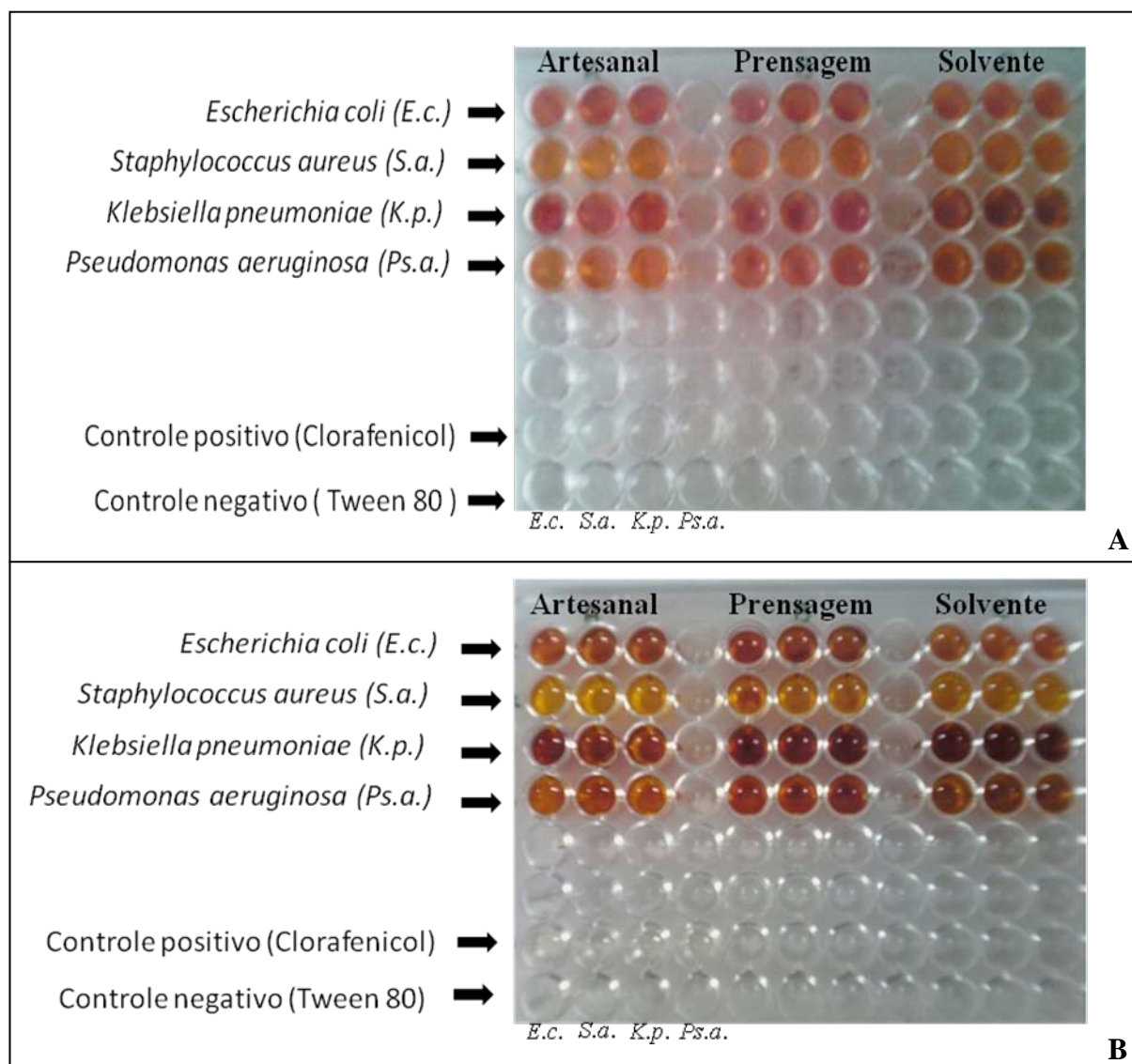
No entanto, faz-se necessário que o uso destes agentes emulsificantes obedeça às concentrações determinadas, 0,5% a 20%, de forma a não interferirem, antagônica ou sinergicamente, na possível atividade biológica destes óleos (TAKARADA *et al.*, 2004).

Em razão do exposto o método por difusão em ágar por ser um teste com vantagens limitadas, apresentando dados somente qualitativos, podendo sofrer interferência de vários fatores como condições de cultivo, meio de cultura, concentração das substâncias testadas, dispersão e emulsificação dos agentes utilizados (RIOS; RECIO, 2005), torna-se necessário então a utilização de testes quantitativos para uma confirmação dos resultados sobre uma possível atividade antimicrobiana.

Os resultados para o método de microdiluição podem ser observados na Figura 18. Nota-se que as amostras utilizadas (artesanal. prensagem e solvente) apresentaram uma possível atividade bactericida para *S. aureus*, em razão da cor do óleo que se manteve inalterada durante o período e 12 e 24 horas, mesmo sobre a presença do revelador TTC (Cloreto de Trifenil-tetrazólio), substância que quando oxidada pelo microrganismo muda de coloração.

Entretanto, ao se observar a mesma figura nota-se que as amostras frente a *E. coli* e *Ps. Aeruginosas*, no período de 12 e 24 horas não mantiveram suas cores iniciais, porém não realizaram a total virada para a cor vermelha, sendo sugestivo a uma ação bacteriostática. Como estes microrganismos são de fácil e rápida multiplicação, estes óleos podem ter uma ação na fase log impedindo seu crescimento (ação bacteriostática), mas sem ação bactericida.

Figura 18- Atividade antimicrobiana em caldo por microdiluição. **A)** Leitura em 12 horas. **B)** Leitura em 24 horas das amostras de óleo da polpa dos frutos de buriti, provenientes dos processos de extração tradicional; prensagem hidráulica e por solvente, frente aos microrganismos *Escherichia coli* (*E.c.*); *Staphylococcus aureus* (*S.a.*); *Klebsiella pneumoniae* (*K.p.*); *Pseudomonas aeruginosa* (*P.a.*). Coloração amarela significando resultado positivo de uma possível ação bactericida para *S.a.* e resultados parciais para *E.c* e *Ps.a.*, pois observa-se que não houve a total virada para cor vermelha mesmo na presença do revelador (TCC), demonstrando uma possível ação bacteriostática.



Em estudos feitos por Silveira *et al.* (2005), com extratos etanólico e hexânico dos frutos de buriti, os mesmos mostraram-se ativos contra *S. aureus* e *Ps. Aeruginosas*, entretanto não sendo capaz de inibir significativamente *E. coli*. De acordo com os autores, a presença de ácidos graxos saturados e insaturados no óleo de buriti pode ter contribuído para a atividade antimicrobiana observada contra cepas Gram-positivas e, especificamente, contra Gram-negativas. Estando em consonância com os resultados exposto pelo presente estudo.

Os resultados obtidos foram bastante satisfatórios em razão da possível atividade antimicrobiana de *Mauritia flexuosa* L.f. frente a microrganismos patogênicos e por está em consonância com outros estudos antimicrobianos sobre esta espécie. Entretanto, é preciso que em trabalhos futuros testes quantitativos sejam feitos para que se possa confirmar realmente tal atividade antimicrobiana.

6 CONCLUSÃO

- Das partes dos frutos de buriti o maior percentual 54,40% foram para as sementes, 23,58% para a polpa e 22,03% para as cascas, não ocorrendo muita diferença entre estes constituintes nas duas coletas.
- A análise dos componentes das polpas mostrou o maior percentual 49, 20% para a umidade, 27, 25% para biomassa e 23, 55% para o óleo.
- Dos três métodos de extração o por solvente foi a que apresentou maior rendimento (23,55 %), seguido pela extração por prensagem hidráulica (21,50%) e método artesanal (4,01%) de óleo extraído.
- Apesar da extração por solvente ter apresentado o maior rendimento, é um processo que produz resíduos químicos, utiliza energia e gera aquecimento tanto no óleo quanto na torta.
- No método artesanal, o produto obtido apresentou-se opaco, com alta umidade, baixo rendimento.
- O processo por prensagem em relação aos demais se mostrou uma ótima alternativa a ser empregada na RDS Tupé. Não utiliza energia elétrica, solventes e não gera aquecimento nem no óleo e na torta, sendo necessário apenas uma prensa e um cilindro extrator.
- Em temperatura de armazenamento -20°C todos os valores dos óleos adquiridos através dos três métodos apresentam-se dentro dos limites estabelecidos pelas legislações vigentes RDC nº 270 e Normas do Codex Alimentarius - FAO/OMS para óleos prensados a frio e não refinados.

- O mesmo não foi observado quanto ao índice de acidez e ácido oléico, quando se utilizou a temperatura de 2 a 8°C. Estes valores estavam bem acima do que determina às legislações.
- Quando as temperaturas de armazenamento foram alteradas de -20°C para 2-8°C ocorreram mudanças significativas em seus parâmetros físico-químicos onde a média do índice de acidez passou de 1,41 para 11,53 mg/g.
- O tempo e as condições de armazenamento da polpa úmida, bem como a temperatura de secagem da mesma, são os prováveis fatores de alteração das propriedades físico-químicas.
- O método de extração artesanal, prensagem ou solvente não interferem nas propriedades físico-químicas, pois independentes da metodologia adotada estes parâmetros permanecem dentro dos limites estipulados pela legislação vigente para óleos prensados a frio e não refinados.
- Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos puros não apresentou halo de inibição frente aos microrganismos testados.
- As amostras diluídas em agentes emulsificantes formaram zonas de inibição frente à bactéria *Pseudomonas aeruginosas*, com diâmetros de 11 mm para o método artesanal e de ± 12 mm para as amostras por prensagem e solvente.
- O método por difusão em ágar por ser um teste com vantagens limitadas apresentou somente dados qualitativos.
- As amostras utilizadas apresentaram uma possível atividade bactericida para *S. aureus*, em razão da cor do óleo que se manteve inalterada durante o período de 12 e 24 horas, mesmo sobre a presença do revelador TTC (Cloreto de Trifenil-tetrazólio).

- As amostras frente a *E. coli* e *Ps. Aeruginosas*, no período de 12 e 24 horas não mantiveram suas cores iniciais, não ocorrendo no entanto, a total virada de cor, sendo sugestivo a uma ação bacteriostática.
- Os resultados obtidos quanto à possível atividade antimicrobiana de *Mauritia flexuosa* L.f. frente a microrganismos patogênicos, foram bastante satisfatórios.

7 REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-ANVISA. Regulamento Técnico Para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Creme Vegetal. Resolução RDC n. 270, de 22 de setembro de 2005. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 23 de set. 2005.

AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-ANVISA. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais. Resolução RDC 482, de 22 de setembro de 1999. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 23 de set. 1999.

ALBUQUERQUE, M. L. S.; GUEDES, I.; JÚNIOR, P. A.; MORIERA, S. G. C.; NETO, N. M. B.; CORREIA, D. S.; ZÍLIO, S. C. Characterization of buriti (*Mauritia flexuosa* L) oil by absorption and emission spectroscopies. J. Braz. Chem. Soc. 16 (6A) 1113-1117. 2005.

ALBUQUERQUE, S. R. S; REGIANI, A. M. Estudo do fruto do buriti (*Mauritia flexuosa*) para obtenção de óleo e síntese de biodiesel. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 29, 2006, Anais: Águas de Lindóia. Sociedade Brasileira de Química (SBQ).

ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMPRAPA-CEPAC. 1998.

ALMEIDA, J. R. G. A.; SILVA-FILHO, R. N.; NUNES, X. P.; DIAS, C. S.; PEREIRA, F. O.; LIMA, E. O. Antimicrobial activity of the essential oil *Bowdichia virgilioides* Kunt. Rev Bras Farmacogn 16(Supl.): 638-641. 2006.

AQUINO, L. P.; FERRUA, F. Q.; BORGES, S. V.; ANTONIASSI, CORREA, R.; J. L. G.; CIRILLO M. A. Influência da secagem do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) na qualidade do óleo extraído. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 29(2): 354-357, abr.-jun. 2009.

AYRES, M. C. C; BRANDÃO, M. S; VIEIRA JR, G. M.; MENOR, J. C. A.S; SILVA, H. B.; SOARES, M. J. S.; CHAVES, M. H. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. Rev Bras Farmacogn 18: 90-97. 2008.

BARBOSA, R. I.; LIMA, A. D.; MOURÃO JÚNIOR, M. Biometria de frutos do buriti *Mauritia flexuosa* L.f. – Arecaceae: Produção de polpa e óleo em uma área de savana em Roraima. Amazônia: Ci & Desenv., Belém, v. 5. N. 10, jan./jun.2010.

BARRY, A. L.; THORNSBERRY, C. Susceptibility tests: diffusion test procedures. In: BALOWS, A.; HAUSLER Jr., W. J.; HERMANN, K. L.; ISENBERG, H. D.; SHAMODY, H. J. Manual of clinical microbiology. 5. Ed. Washington: American Society for Microbiology, 1991. Cap. 111, p. 1117-1125.

BARTON, D.; NAKANISHI, K., METH-COHN, O. Comprehensive natural products chemistry: isoprenoids including carotenoids and steroids. Oxford: Elsevier Science Ltda. v. 2, 1999.

BAYDAR, H.; SADDIÇ, O.; ÖZKAN, G., KARADODAN, T. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control* 15: 169-172. 2004.

BECKER, M. M; SANTOS, V. R. S. D; FLACH; A; COSTA, L. A. M. A. Avaliação do potencial do buritizeiro para produção de Biodiesel no Estado de Roraima. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). 2006.

BELITZ, H-D.; GROSH, W. Química de los alimentos. Segunda ed. Zaragoza: Acribia, 1992.

BIAGI, J. D.; VALENTINI, S. R. T.; QUEIROZ, D. M. Secagem de Produtos Agrícolas. In: CORTEZ, L. A. B.; MAGALHÃES, P. S. G. (Eds.). Introdução a Engenharia Agrícola. Campinas: Unicamp, 1992. p. 245-265.

BIRMAN, E. G. Um breve retrospecto sobre *Candida* e candidoses em relação à boca. Revista Vida 8: 56-59, 1998.

BLACK, J.G. Microbiology: Principles & Applications. 3ed New Jersey: Simom & Scuster, 1996.

BRENNAN, J. G.; BUTTERS, J. R.; COWELL, N. D.; LILLEY, A. E. V. Food engineering operations. Linton Road, England: Elsevier Applied Science, 1990.

CALDERONE, R. A.; FONZI, W. A. Virulence factors of *C. albicans*. Trends Microbiology 9: 327-335, 2001.

CÂMARA, G. M. S., MARTINS, M. C. Amendoim: cultura e agronegócio. In: Câmara, G.M.S., Chiavegato, E.J (Ed). O agronegócio das plantas oleaginosas: algodão, amendoim, girassol e mamona. Piracicaba: Esalq, 2001. p. 89 - 122.

CARVALHO, J. E. U. DE; MÜLLER, C. H. Biometria e Rendimento Percentual de Polpa de Frutas Nativas da Amazônia. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005. 3p. (Comunicado Técnico 139)

CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. Editora da UNICAMP: 2º Ed. rev.- Campinas, SP, Editora da UNICAMP, 2003. 207p.

CHRISTIE, W.W. Lipid Analysis - Isolation, Separation, Identification and Structural Analysis of Lipids. 3rd edition. The Oily Press, 2003.

DEUS, T. N. Extração e caracterização de óleo do pequi (*caryocar brasiliensis* camb.) para o uso sustentável em formulações cosmética óleo/água (o/a). 2008. Dissertação de Mestrado Multidisciplinar. Universidade Católica de Goiás.

DE GREYT, W. D., KELLENS, M. Deodorization In: SHAHIDI, F. (Org.) Bailey's Industrial Oil & Fat Products. New York, John Wiley & Son, 6ªed, v.5, p.341-383, 2005.

DURÃES, J. A.; DRUMMOND, A. L.; PIMENTEL, T. A. P. F.; MURTA, M. M.; BICALHO, F.S.; MOREIRA, S. G. C.; SALES, M. J. A. Absorption and photoluminescence of Buriti oil/polystyrene and Buriti oil/poly(methyl methacrylate) blends. European Polymer Journal. V. 42, 3324-3332, 2006.

FAO. Food and fruit-bearing Forest species. 3. Examples from Latim America. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1986. (FAO Forestry Paper 44/3).

FARIA, L. A.; GONCALVES, F. A. G; CARNEIRO, C. D; COLEN, G; COELHO, J. V. 2009. Estudos preliminares sobre a composição físico-química de óleos do cerrado mineiro produzidos artesanalmente. In: XVI ENAAL e II Congresso Latino-americano de analistas de alimentos, 2009, Belo Horizonte. XVI ENAAL.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Microbiologia de Alimentos. Sao Paulo: Atheneu, 182p, 1996.

FRANÇA, L.F.; REBER, G.; MEIRELES, M.A.A.; MACHADO, N.T.; BRUNNER, G. Supercritical extraction of carotenoids and lipids from buriti (*Mauritia flexuosa*), a fruit from the Amazon region. *Journal of Supercritical Fluids* v.14, p.247–256, 1999.

GEANKOPLIS, C. J. Transport processes and separations process principles. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall, 2003.

GONÇALVES, C.; BATISTA, E.; MEIRELLES, A.J.A. Liquid–Liquid Equilibrium Data for the System Corn Oil + Oleic Acid + Ethanol + Water at 298.15 K. *J. Chem. Eng. Data*, v.47, n.3, p.416 – 420, 2002.

GRAZIOLA, F.; SOLIS, V. S.; CURI, R. Estrutura e classificação dos ácidos graxos. In: CURI, R.; POMPÉIA, C. MIYSAKA, C. K.; PROCOPIO, S. Entendendo a gordura: os ácidos graxos. Barueri, SP: Manole, 2002. 580 p.

GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAG, Ö; TEMELLI, F. Correlating the solubility behavior of minor components insupercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids*, n. 31, p.235-253, 2004.

GUNSTONE, F.D. Vegetable Oils In: SHAHIDI, F. (Org.) *Bailey's Industrial Oil & Fat Products* 6^a ed. v.1, John Wiley & Son, New York, p. 213-268, 2005.

HOOD, J. R.; WILKINSON, J. M.; CAVANAGH, H. M. A. Evaluation of common antibacterial screening methods utilized in essential oil research. *J Essent Oil Res* 15: 428-433. 2003.

HU, S. H.; WANG, J. C.; KUNG, H. F.; WANG, J. T.; LEE, W. L.; YANG, Y. H. Antimicrobial effect of extracts of cruciferous vegetables. *Kaohsiung Journal of Medical Science*. v.12, p.591-599, 2004.

HUI, Y. H. *Bailey's industrial oil and fat products*. New York: John Wiley & Sons, 1996.

JAWETZ, E.; MELNICK, L. J.; ADELBERG, E. A. *Microbiologia Médica*, Ed. Artmed, 7 ed., p. 568, 2007.

JUNQUEIRA, L. C; CARNEIRO, J. *Biologia Celular e Molecular*. 8ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

KARAMAN, I.; SAHIN, F.; GULLUCE, M.; OGUTÇU, H.; SENGUL, M.; ADIGUZEL, A. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Journal of Ethnopharmacology*, v.85, p.231-235, 2003.

KANAFANI, Z.A., FOWLER, V.G. JR. *Staphylococcus aureus* infections: new challenges from an old pathogen. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, v.24, n.3, p.182-93, 2006.

KAUR, C.; KAPOOR, H.C. Antioxidants in fruits and vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*. n. 36, p. 703-725, 2001.

KITTS, D. Toxicity and Safety of Fats and Oils In: HUI, Y.H. (Org.) *Bailey's Industrial Oil & Fat Products* 5ªed., v.1, New York, John Wiley & Son, p.215-280, 1996.

KONEMAN, E. W; ALLEN, S. D; JANDA, W. M; SCHRECKENBERGER, P. C; WINN JR, M. W. C. *Diagnóstico Microbiológico*. 6 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2008, p. 1465.

LUTZ, I. A. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físicos e químicos para análises de alimentos. 3.ed. São Paulo: IMESP, 1985. v.1. 533p.

LUZ Jr. G. E.; LIMA, S. H.; MELO, A. C. R.; ARAÚJO, A. S.; FERNANDES Jr.; V. J. Direct synthesis and characterization of LaSBA-15 mesoporous molecular sieves. *Journal of materials Science*, v. 45, p. 1117-1122, 2010.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. *Microbiologia de Brock*. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004.

MARIATH, J.G.R.; LIMA, M.C.C.; SANTOS, L.M.P. Vitamin A activity of Buriti (*Mauritia vinifera Mart*) and its effectiveness in the treatment and prevention of Xerophthalmia *American Journal of. Clinical Nutrition*, v.49, n°5, p.849-853, 1989.

MENDES-GIANNINI, M. J. S.; MELHEM, M. S. C. Infecções fúngicas. In: FERREIRA. A.W.; ÁVILA, S.L.M. – *Diagnóstico laboratorial*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1996. 216-275.

MENEZES, M.; PINHEIRO, M. R.; GUAZZELLI, A. C.; *Cadeia produtiva dos óleos vegetais extrativos no estado do Amazonas*. 2006.

MIMS, C. C; PLAYFAIR, J; ROITT; WAKELIN, D; WILLIAMS, R. *Microbiologia Médica*. 2ed. São Paulo: Manole, 1999.

MIRANDA, I. P. D. A; RABELO, A. *Guia de Identificação de palmeiras de Porto de Trombetas – PA*. Editora INPA. 2008.

MORETTO, E.; FETT, R. Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos. São Paulo: Varela, 1998.

NASCIMENTO, G. G. F; LOCATELLI, J; FREITAS, P. C; SILVA, G. L. Antibacterial activity off plant extract and phytochemicals on antibiotic-resistent bactéria. Brazilian Journal of Microbiology. v. 31, n.2, p. 247-256, 2000.

NOGUEIRA, R. I. Secagem e desidratação de frutas e hortaliças. In: NOGUEIRA, R. I. (Ed.). Curso de Processamento de Frutas e Hortaliças. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1992. p. 117-130.

NOGUEIRA, C. M.; PARMANHAN, B. R.; FARIAS, P. P.; CORRÊA, A. G. A importância crescente dos carboidratos em química medicinal. Rev. Virtual Quim. 1 (2), 149-159. 2009.

NUNES, E. C. B. Propriedades ópticas de óleos derivados do fruto da palma. 2005. TCC (Trabalho de Conclusão de Curso) – Departamento de Física.

OFFICIAL METHOD: 965.33. Peroxide value of Oils and Fats (Titration Method). AOAC Official Methods of Analysis, 18th Edition, 2005, chapter 41, p.3.

OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determinations of carotenoids in foods. Journal of Chromatography. v. A, n. 881, p. 543-555, 2000.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos. v.1. Porto Alegre: ARTMED, 2005.

Organização Pan-Americana da Saúde. Higiene dos Alimentos – Textos Básicos / Organização Pan-Americana da Saúde; Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Food and Agriculture Organization of the United Nations – Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde. Codex Alimentarius. FAO/OMS. 2006.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. Rev.Bras. Farmacogn. João Pessoa, v. 18, n. 2, 301-307. 2008.

PELCZAR Júnior, M. J; CHAN, E. C. S; KRIEG, N. R;. Microbiologia: Conceitos e Aplicações, São Paulo: Makron books, 2ªedição, 1996.

PERRY, R. H.; CHILTON, C. H. Manual de engenharia química. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1986.

PETTI, C.A., FOWLER, V.G.JR. *Staphylococcus aureus* bacteremia and endocarditis. Cardiology Clinics, v. 21, n.2, p. 219-233, 2003.

PINTO, T. J. A; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos. 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003. 325 p.

PRADO, M. R. Isolamento de *microsporum canis*, *malassezia spp.* e *candida tropicalis* em cães: um destaque para teste de sensibilidade de *malassezia pachydermatis* in vitro. 2007. Tese (doutorado em ciências veterinárias) Universidade Estadual do Ceará.

RAMESH, M. et al. Microwave treatment of groundnut (*Arachis hypogaea*): Extractability and quality of oil and its relation to lipase and lipoxygenase activity. Lebensmittel – Wissenschaft und –Technologie. v. 28, n. 1, p. 96-99, 1995.

RANG, H. P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. Farmacologia. 6ª. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 920, 2007.

REMÉDIOS, C. M. R.; NUNES, E. C. D. B.; CABRAL, A. Jr. D. F.; NERO, J. D.; ALCANTARA Jr., P.; MOREIRA, S. G. C. Estudo espectroscópico de óleos derivados de frutos da palma. Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências dos Materiais. Foz do Iguaçu, Paraná. 2006.

RIBEIRO, B. D. Aplicação de tecnologia enzimática na obtenção de β -caroteno a partir de óleo de buriti (*Mauritia vinifera*). 2008. Dissertação de Mestrado do Curso de Tecnologia de processos químicos e bioquímicos. Universidade Federal do Rio de Janeiro.

RÍOS, J. L.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. J Ethnopharmacol 100: 80-84. 2005.

RITTNER, H. Óleo de mamona e derivados. São Paulo: H. Rittner, 1996. 559 p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Assessment of The provitamina A contents of. Foods - the Brazilian experience. Journal of Food Composition and Analysis, v.9, p.196-230, 1996.

SAHM DF, WASHINGTON II JA. Antibacterial susceptibility tests: Dilution methods. In: Balows, A.; Hauser, W.J.; Hermann, K.L.; Isenberg, H.D.; Shamody, H.J. Manual of clinical microbiology. 5.ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991. p. 1105-1116.

SARTORI, M. A. Análise de Cenários de Extração de Óleo Vegetal para a Produção de Biodiesel na Região do Norte de Minas Gerais. 2007. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais. Minas Gerais.

SCHAECHTER, M; ENGLEBERG, N. C; EISENSTEN, B. I; MEDOFF, G. Microbiologia Mecanismos da Doença Infecciosa. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

SCRIMGEOUR, C. Chemistry of Fatty Acids In: SHAHIDI, F. (Org.) Bailey's Industrial Oil & Fat Products 6^a ed. v.1, John Wiley & Son, New York p.565-576, 2005.

SCUDELLER, V. V.; APRILE, F. M.; MELO, S.; SILVA, E. N. dos S. Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Tupé: características gerais. PP. XI-XXI. In: SILVA, E. N. dos S.; APRILE, F. M.; SCUDELLER, V. V.; MELO S. 2005. Biotupé: Meio Físico, Diversidade Biológica e Sócio-cultural do Baixo Rio Negro, Amazônia Central. Inpa ed. Manaus.

SERRUYA,H.; BENTES,M.H.S., SIMÕES,J.C.; LOBATO,J.E.; MULLER,A.H.; ROCHA FILHO,G.N. Análise dos óleos dos frutos de 3 palmáceas da região amazônica. Anais da Associação Brasileira de Química, v.21, p.93-6, 1980.

SETZER, W. N.; VOGLER, B.; SCHMIDT, J. M.; LEAHY, J. G.; RIVES, R. Antimicrobial activity of Artemisia douglasiana leaf essential oil. Fitoterapia 75: 192-200. 2004.

SHAHIDI, F. Quality Assurance of Fats and Oils In: SHAHIDI, F (Org.) Bailey's Industrial Oil & Fat Products. 6^a ed. v.1. John Wiley & Son. New York p.565-576, 2005.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. Candidíase. In: SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. Micologia médica à luz de autores contemporâneos. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan,. Cap. 25, p. 265-273, 2004.

SILVA, C. R. da. Bioativos Tropicais com Eficácia Comprovada. Chemyunion. Cosmetics & Toiletries. v.14, n° 1, jan/fev 2002.

SILVA J. G; SOUZA, I.A; HIGINO, J.S; SIQUEIRA-JUNIOR; J.P; PEREIRA, J. V; PEREIRA, M. S. V. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn.

em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 17(4): 572-577, Out./Dez, 2007.

SILVEIRA, C. S.; PESSANHA, M. C. S.; NEVES JUNIOR, I.; MENEZES, F.S.; KAPLAN, M. A. C. Atividade antimicrobiana dos frutos de *Syagrus oleracea* e *Mauritia vinifera*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 15(2): 143-148, Abr/Jun. 2005.

SOUZA, O. C; MARTINS, D. D; BARBOSA, S. C. C; RODRIGUES, N. S; YOSHIDA. S. P. Antimicrobial resistance profile of *Pseudomonas aeruginosa* isolated in feces of patients infected with human immunodeficiency vírus. CADERNO SAÚDE COLETIVA, Rio de Janeiro, 15 (3): 392 -379, 2007.

SUFRAMA. Potencialidades Regionais: Estudos de Viabilidade, Dendê. vol. 5. Coord. V. Melo Parente (Economista). Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. 2006.

TAKARADA, K.; KIMIZUKA, R.; TAKAHASHI, N.; HONMA, K.; OKUDA, K.; KATO, T. A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. *Oral Microbiol Immunol* 19: 61-64. 2004.

TANGO, J. S.; CARVALHO, C. R. L.; SOARES, N. 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.

TANDY, D. C. Oilseed extraction. In: WAN, P. J. Introduction to fats and oils technology. Champaign, Illinois: American il Chemists' Society, 1991.

THANE, C.; REDDY, S. Processing of fruit and vegetables: effect on carotenoids. *Nutrition & Food Science*. n. 2, p. 58-65, mar./apr., 1997.

TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE; C. L. *Microbiologia*. 8ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 920.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. *Microbiologia*, 4 ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

UNGARO, M. R. G. IAC – Iarama. Boletim Técnico IAC – Campinas. 2001.

VACLAVIK, V. A.; CHRISTIAN, E. W. *Essentials of food science*. 2nd ed. New York: Klumer Academic/ Plenum Publishers, 2003.

VALE, I. Oficina de extração de óleo de Buriti na comunidade de São João do Jaburu – Gurupá – Pará. 2008. Relatório de Visita Técnica.

VON EIFF, C.; BECKER, K.; MACHKA, K.; STAMMER, H.; PETERS, G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *The New England Journal of Medicine*, v. 344, n.1, p. 11-6, 2001.

WARTHENSEN, J.; MUEHLENKAMP, M. Food chemistry for engineers. Chap. 17. In: VALENTAS, K.; RORSTEIN, E.; SINGH, R. P. *Handbook of food engineering practice*. New York: CRC Press, 1997.

WATKINS, B. A.; HENNING, B.; TOBOREK, M. Dietary Fat and Health In: HUI, Y.H. *Bailey's Industrial Oil & Fat Products* 5ªed., v.1, New York, John Wiley & Son, p.215-280, 1996.

WRIGHT, G. D. Bacterial resistance to antibiotics. Enzymatic degradation and modification. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.57, p. 1451-1470, 2005.

WENNERSTEN, R. Extraction of organic compounds. Chap 9. In: In: YDBERG, J.; MUSIKAS, C.; CHOPPIN, G. R. *Principles and practices of solvent extraction*. New York: Marcel Dekker, 1992. p. 115-356.

YUYAMA, L. K. O.; MAEDA, R. N.; PANTOJA, L.; AGUIAR, J. P. L.; MARINHO, H. A. Processamento e avaliação da vida-de-prateleira do tucumã (*Astrocaryum aculeatum* Meyer) desidratado e pulverizado. *Ciênc. Technol. Aliment.* vol. 28. n^o 2. Campinas. Apr./June, 2008.

ZGODA JR.; PORTER JR. A convenient microdilution method for screening natural products against bacteria and fungi. *Pharm Biol* 39: 221-225. 2001.