



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DIANA MARUJA SANGAMA MOZOMBITE

**AVALIAÇÃO QUÍMICA, FÍSICO-QUÍMICA E ENSAIOS BIOLÓGICOS DO ÓLEO
DA POLPA DE INAJÁ (*Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude) ARECACEAE**

Boa Vista, RR

2016

DIANA MARUJA SANGAMA MOZOMBITE

**AVALIAÇÃO QUÍMICA, FÍSICO-QUÍMICA E ENSAIOS BIOLÓGICOS DO ÓLEO
DA POLPA DE INAJÁ (*Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude) ARECACEAE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química - PPGQ da Universidade Federal de Roraima - UFRR, como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Mestre em Química. Área de concentração: Produtos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Alves de Melo Filho

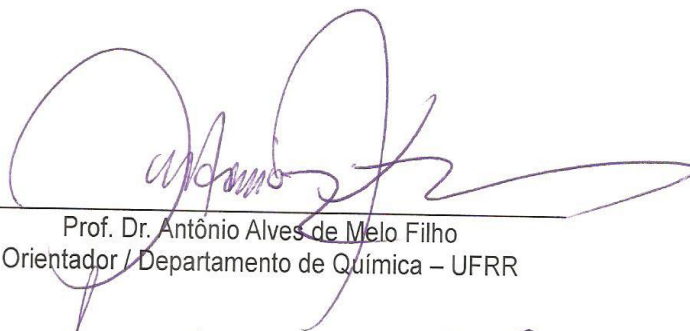
Boa Vista, RR

2016

DIANA MARUJA SANGAMA MOZOMBITE

**AVALIAÇÃO QUÍMICA, FÍSICO-QUÍMICA E ENSAIOS BIOLÓGICOS DO ÓLEO DA
POLPA DE INAJÁ (*Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude) ARECACEAE**

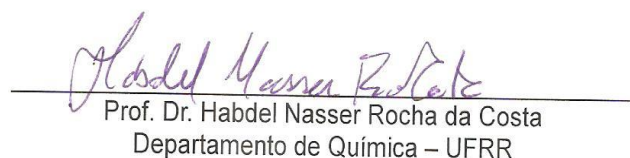
Dissertação apresentada como pré-requisito para conclusão do Curso de Mestrado do Programa de Pós- Graduação em Química – PPGQ da Universidade Federal de Roraima. Defendida em 04 de fevereiro de 2016 e avaliada pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dr. Antônio Alves de Melo Filho
Orientador / Departamento de Química – UFRR



Prof. Dr. André Camargo de Oliveira
Departamento de Química - UERR



Prof. Dr. Habel Nasser Rocha da Costa
Departamento de Química – UFRR

*Ao meu pai Arturo Sangama Guerra (in memoriam),
homem simples de valores e atitudes admiráveis.
À minha mãe Maruja Mozombite Salas (in memoriam),
grande companheira e amiga de todos os momentos.
Com todo meu amor, carinho, respeito e gratidão.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar em minha vida o tempo todo e permitir chegar ao final da corrida, estes dois anos.

À Organização dos Estados Americanos que junto com o Grupo Coimbra de Universidades Brasileiras acreditaram na minha capacidade profissional.

À Universidade Federal de Roraima pelo aceite para desenvolver meus estudos de mestrado no Programa de Pós-graduação em Química.

À Coordenação de Relações Internacionais da Universidade Federal de Roraima, pelas orientações antes e depois da minha chegada ao Brasil.

Ao meu orientador Prof. Dr. Antonio Alves de Melo Filho, pelo auxílio, incentivo e cooperação neste mestrado.

À Prof^a. Dr^a. Jacqueline Takahashi e à Prof^a. Dr^a. Vany Ferraz do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais pela orientação durante o estágio realizado.

Ao Prof. Dr. Emerson Silva Lima do Laboratório de Atividade Biológica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Amazonas, pelas análises de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil e pela orientação durante a realização do teste.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Química, colegas do mestrado e ao grupo de Oleoquímicos pela colaboração.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo auxílio financeiro.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Herbário Virtual da Flora e dos Fungos, que conta com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela identificação taxonômica das amostras.

Aos colegas do laboratório Welida, Cristiane, Nakita, Max, Andreína, Francisco, Müller, Sandra, Ismael, Ricardo e Casandra pelo companheirismo, apoio e sugestões.

Agradeço a meus amigos brasileiros, latinos e africanos, e não poderia deixar de mencionar a meus irmãos, Alina Celarié, Emilia Villalba, Marden Espinoza, Julio Galindo e Luis Bermudez, aqueles que viraram minha família nestes dois anos.

Agradeço a Ângela Scaramuzza, Margarita Jaramillo, Maryory Medina, France Rodrigues, Sirley Almeida, Ana Cristina Gonçalves, Pedro Ribeiro, Luciana Holanda, Liliana Yarleque, Carlos Angulo, Jonathan Cubides, Mirla Souza, Cleiry Simone, Eucânia Peixoto, Paty Nogueira e Shirley Domingues, mesmo por um curto período de tempo, em Boa Vista, em Manaus e Belo Horizonte, me deram a sua amizade e o enorme apoio durante minha estadia, levo no meu coração as lembranças que são parte da minha história em Brasil.

A minhas irmãs (Marby, Sheyla e Isa), com semelhanças ou diferenças o amor familiar sempre prevalece, e que entenderam minha ausência ao longo destes dois anos e desde longe torceram pelo meu sucesso.

Aos meus sobrinhos-filhos queridos, Piero, Luis e Gonzalo, que alimentam meu coração e são fontes de alegrias e sonhos na minha vida.

Enfim, a todos que de uma forma direta ou indiretamente me apoiaram durante esta caminhada.

*O cientista não estuda a
natureza porque ela é útil;
ele a estuda porque se deleita nela,
e se deleita nela porque é bela.
Se a natureza não fosse bela, não valeria
a pena ser conhecida, e se não valesse a pena
ser conhecida, a vida não valeria a pena ser vivida.*

(Henry Poincaré)

RESUMO

O inajá (*Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude) é uma palmeira, pertencente à família botânica Arecaceae e é encontrada na Colômbia, Venezuela, Trinidad (Caribe), Guianas, Equador, Peru, Bolívia e Brasil. Tanto a amêndoa como a polpa do fruto representam a matéria-prima que podem ser consumidos como alimento no seu estado natural, servindo ainda para a produção de vinhos, sucos e sorvetes. Tem importância também para indústria de cosméticos, como saboarias e produtos para a saúde. Apresenta características físico-químicas que possibilitam o seu aproveitamento como alimento energético, assim como matéria-prima de caráter oleífero. Este trabalho apresenta o estudo químico, físico-químico e biológico do óleo da polpa de *M. maripa* de ocorrência natural no estado de Roraima e teve como objetivo analisar a atividade antioxidante por reação do DPPH, avaliar o perfil dos ácidos graxos por meio de cromatografia gasosa, determinar as propriedades físico-químicas por RMN-¹H, identificar os principais grupos funcionais presentes, através do espectrofotômetro de infravermelho, avaliar a atividade biológica sobre bactérias, testar a inibição sobre enzimas de acetilcolinesterase e determinar a toxicidade sobre náuplios de *Artemia salina*. Da polpa extraiu-se um óleo de coloração amarelado claro com rendimento de 44,20%. O óleo da polpa de Inajá, foram obtidos mediante uma extração Soxhlet com hexano. As análises dos óleos, foram realizadas em Cromatógrafo a Gás HP5890 equipado com detector por ionização de chamas, GC-FID. Dez ácidos graxos saturados (AGS) e insaturados (AGI) foram identificados, os AGI majoritários foram ω -9 (22,32%), ω -6 (4,72%) e ω -3 (3,95%), e os AGS majoritários foram palmítico (20,76%) e mirístico (20,48%). Propriedades físico-químicas foram calculadas utilizando RMN-¹H, demonstrando que o óleo da polpa de inajá apresenta características físico-químicas que possibilitam o seu aproveitamento na alimentação tanto humana quanto animal, representando um alimento energético, assim como matéria-prima de caráter oleífero. A espectroscopia de IV mostrou absorções de bandas características dos triglicerídeos, como uma banda forte e intensa, referente ao grupo C=O, em 1.732 cm⁻¹, dos ácidos carboxílicos. Na avaliação antibacteriana do óleo da polpa de Inajá, utilizou-se do teste de sensibilidade antibacteriana (TSA), cujas concentrações foram 250; 125; 62,5; 31,3; 15,6; 7,8; 3,9; 2 µg/mL. Observou-se 26% de inibição frente a *Citrobacter freundii* e 24% de inibição para *Pseudomonas aeruginosa*. Enquanto que, verificou-se 36% de inibição frente a *Bacillus cereus* e 39% de inibição sobre *Listeria monocytogenes*. No teste de acetilcolinesterase, o óleo apresentou uma inibição de 63,76%, sendo considerada potente. No teste frente à *Artemia salina*, determinou-se um DL₅₀ de 0,96 µg.mL⁻¹, sendo considerada tóxica. Os resultados obtidos contribuem com novas informações para a literatura e sugerem estudos futuros de prospecção química e biológica de esta espécie vegetal com a finalidade de desenvolver bioprodutos para a saúde humana.

Palavras-Chave: Inajá; ω -9; ω -6; ω -3; antimicrobiano.

ABSTRACT

The inajá (*Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude) is a palm tree, which belongs to the botanical family Arecaceae is found in Colombia, Venezuela, Trinidad (Caribbean), Guyana, Ecuador, Peru, Bolivia and Brazil. Both almond as the pulp of the fruit represent the raw material which can be consumed as food in its natural state, serving also for production of wines, juices and ice creams. It is important also for the cosmetics industry, soap industry and health products. It presents physical and chemical characteristics that enable their use as food energy as well as raw material oiliness character. This paper presents the chemical, physical-chemical and biological study *M. maripa* pulp oil naturally occurring in the state of Roraima and aimed to analyze the antioxidant activity by the DPPH reaction, analyze the profile of fatty acids by gas chromatography, determine the physicochemical properties RMN-¹H, to identify the main functional groups present, by infrared spectrophotometer, evaluate the biological activity of bacteria, test the inhibition of enzyme acetylcholinesterase and determined the acute toxicity on *Artemia salina*. The extracted pulp a light yellow colored oil in a yield of 44,20%. The oils used were obtained by extraction type Soxhlet with hexane. Analyses were performed on HP5890 Gas Chromatograph equipped with flame ionization detector, GC-FID. Ten saturated fatty acids (AGS) and unsaturated (AGI) were identified, the majority were AGI ω-9 (22,32%) ω-6 (4,72%) and ω-3 (3,95%) and the majority were AGS palmitic acid (20,76%) and myristic acid (20,48%). Physicochemical properties were calculated using RMN-¹H, showing that the oil inajá pulp presents physical and chemical characteristics that allow its use in both human and animal feed, an energy food, as well as raw material oil character. The IR spectroscopy revealed absorptions characteristic bands of triglycerides, such as a strong and intense band, referring to the C = O, in 1,732 cm⁻¹, group of carboxylic acids. In antibacterial evaluation was used the antibacterial susceptibility testing (MIC), whose concentrations were 250; 125; 62.5; 31.3; 15.6; 7.8; 3.9; 2 mg/mL. It observed 26% inhibition against *Citrobacter freundii* and 24% inhibition for *Pseudomonas aeruginosa*. While, there was 36% inhibition against *Bacillus cereus* and 39% inhibition of *Listeria monocytogenes*. In acetylcholinesterase test, the oil showed an inhibition of 63.76% was considered potent. In toxicity test on *Artemia salina*, determined an DL₅₀ of 0.96 μg.mL⁻¹. The results contributes new information to the literature and suggest future studies of chemical and biological prospecting this vegetal species for the purpose of developing products to human health.

Keywords: Inajá; ω-9; ω-6; ω-3; antimicrobial.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema geral simplificado da interface entre o metabolismo primário e as vias de síntese dos metabólitos secundários.....	22
Figura 2 - Indivíduo de <i>M. maripa</i>	25
Figura 3 - Cacho do Inajá.....	26
Figura 4 - Fruto do Inajá.....	27
Figura 5 - Sementes do Inajá.....	27
Figura 6 - Reação geral de hidrólise de um triacilglicerol.....	29
Figura 7 - Estrutura química do colesterol.....	30
Figura 8 - Estrutura química dos ácidos graxos ω -3, ω -6 e ω -9.....	32
Figura 9 - Estrutura das paredes de Bactérias Gram (+) e Gram (-)	38
Figura 10 - Inibidores da Acetilcolinesterase.....	39
Figura 11 - Estratégia geral na busca de novos compostos citotóxicos a partir de extratos vegetais.....	40
Figura 12 - Fluxograma do trabalho experimental.....	42
Figura 13 - Exsicata de <i>M. maripa</i> coletada para identificação taxonômica.....	43
Figura 14 - Modelo e distribuição das amostras e controles nas placas utilizadas para o Teste de sensibilidade antibacteriana.....	51
Figura 15 - Modelo e distribuição das amostras e controles nas placas utilizadas para o Teste de atividade anticolinesterásica.....	53
Figura 16 - Óleo de Inajá hexano.....	56
Figura 17 - Estrutura Química Radicalar (1) e não Radicalar (2) do DPPH.....	57
Figura 18 - Visualização do Fator antioxidante mediante DPPH.....	58
Figura 19 - Cromatograma obtido mediante CG para o óleo de <i>M. maripa</i>	60
Figura 20 - Estrutura de ácidos graxos saturados encontrados no óleo.....	63
Figura 21 - Estrutura de ácidos graxos insaturados encontrados no óleo.....	64
Figura 22 - Espectro de RMN- ¹ H genérico de óleo vegetal.....	67
Figura 23 - Espectro de RMN- ¹ H do óleo de <i>M. maripa</i> a 200 MHz, usando como padrão interno o TMS.....	69
Figura 24 - Espectro de absorção na região do infravermelho do óleo de <i>M. maripa</i>	73
Figura 25 - Curva de atividade frente à <i>Artemia salina</i>	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Uso tradicional de <i>M. maripa</i>	24
Tabela 2 - Principais ácidos graxos presentes em óleos e gorduras.....	31
Tabela 3 - Rendimento das extrações dos óleos da polpa de <i>M. maripa</i>	56
Tabela 4 - % de Inibição de óleo de Inajá e ácido gálico.....	58
Tabela 5 - Valores de ácidos graxos reportados nas amostras <i>M. maripa</i>	61
Tabela 6 - Composição de ácidos graxos de óleos extraídos da polpa de <i>M. maripa</i>	62
Tabela 7 - Valores de ácidos graxos insaturados presentes em óleos vegetais.....	64
Tabela 8 - Composição dos principais ácidos graxos (%) de óleos extraídos do mesocarpo de frutos de palmeiras nativas, segundo os respectivos autores.....	65
Tabela 9 - Atribuição dos sinais do espectro de RMN- ¹ H genérico de óleo vegetal conforme a Figura (18)	68
Tabela 10 - Caracterização físico-química do óleo de <i>M. maripa</i> comparado com dados bibliográficos.....	71
Tabela 11 - Atribuição das principais bandas de absorção na região do infravermelho para amostras de óleos.....	74
Tabela 12 - Resultados de sensibilidade antibacteriana para <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. freundii</i> , <i>B. cereus</i> e <i>L. monocytogenes</i>	75
Tabela 13 - Número de nauplios mortos.....	76
Tabela 14 - Dados de atividade frente à <i>Artemia salina</i> para <i>M. maripa</i>	77

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ω	Ômega
ω -3	Ácido linolênico
ω -6	Ácido linoléico
ω -9	Ácido oléico
α	Alfa
β	Beta
γ	Gamma
%	Porcentagem
°	Graus
°C	Graus Celsius
μ g	Microgramas
μ m	Micrometro
μ L	Microlitro
ACh	Acetilcolina
AChE	Enzima acetilcolinesterase
AGI	Ácidos graxos insaturados
AGMI	Ácidos graxos monoinsaturados
AGS	Ácidos graxos saturados
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Ap	Área de um próton
ATCC	American Type Culture Collection
ATCI	Acetylthiocholine iodide
BF ₃	Trifluoreto de boro
C	Carbono
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CDCl ₃	Clorofórmio <i>deuterado</i>
CG	Cromatografia Gasosa
CG-FID	Cromatografia gasosa - Detector por Ionização de Chama
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

cm	Centímetro
d	Densidade
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
g	Gramma
g.cm ⁻³	Gramas por centímetros cúbicos
GCUB	Grupo Coimbra de Universidades Brasileiras
GI	hidrogênios alílicos internos
H	Hidrogênio
h	Hora
há	Hectare
HCl	Ácido Clorídrico
HFVV	Herbário Virtual da Flora e dos Fungos
IA	Índice de acidez
IAL	Instituto Adolfo Lutz
II	Índice de iodo
INCT	Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
INS	Insaturações por triglicerídeos.
IS	Índice de saponificação
K	Kelvin
Kg	Quilograma
Km	Quilômetro
KOH	Hidróxido de Potássio
L	Litro
M	Molar
MM	Massa molecular média
m	Metro
mM	Milimolar
meq	Miliequivalente
mg	Miligrama

MHz	Megahertz
min	Minutos
mL	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
O	Oxigênio
OEA	Organização dos Estados Americanos
OH [·]	Radical hidroxila
ONU	Organização das Nações Unidas
OMS	Organização Mundial de Saúde
PPGQ	Programa de Pós-graduação em Química
pH	Potencial Hidrogeniônico
ppm	Parte por milhão
RMN- ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
Ro,a	Relação de hidrogênios olefínicos / alifáticos
s	Segundo
ssp	espécies
T	Total de prótons
TMS	Tetrametilsilano
UFAM	Universidade Federal de Amazonas
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFRR	Universidade Federal de Roraima
UV	Ultravioleta
V	Hidrogênios olefínicos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	21
1.2.1	Biodiversidade de Plantas no Brasil	21
1.2.2	Metabólitos Secundários	21
1.2.3	Espécie Vegetal	23
1.2.3.1	Família Arecaceae.....	23
1.2.3.2	<i>Maximiliana maripa</i> (Aubl.) Drude.....	23
1.2.3.3	Usos Tradicionais de <i>Maximiliana maripa</i>	24
1.2.3.4	Distribuição geográfica.....	24
1.2.3.5	Tronco/Estipe.....	25
1.2.3.6	Folhas.....	25
1.2.3.7	Inflorescências.....	25
1.2.3.8	Flores.....	26
1.2.3.9	Frutos.....	26
1.2.3.10	Sementes.....	27
1.2.3.11	Cultivo e Importância econômica de <i>M. maripa</i> (Aubl.) Drude.....	28
1.2.4	Óleos e Gorduras	28
1.2.4.1	Lipídios.....	29
1.2.4.2	Ácidos graxos.....	30
1.2.4.3	Importância do óleo de <i>M. maripa</i> (Aubl.) Drude.....	32
1.2.5	Técnicas Utilizadas	33
1.2.5.1	Antioxidantes: Determinação com radical DPPH.....	33
1.2.5.2	Cromatografia Gasosa.....	34
1.2.5.3	Ressonância Magnética Nuclear.....	35
1.2.5.4	Análises Físico-Químicas.....	35
1.2.5.5	Índice de acidez.....	36
1.2.5.6	Índice de saponificação.....	36
1.2.5.7	Índice de iodo.....	36

1.2.5.8	Infravermelho.....	36
1.2.6	Ensaio Biológico <i>in vitro</i>	37
1.2.6.1	Atividade de inibição de bactérias.....	37
1.2.6.2	Atividade de inibição da Enzima Acetilcolinesterase.....	38
1.2.6.3	Testes de toxicidade.....	39
2	OBJETIVOS	41
2.1	OBJETIVO GERAL.....	41
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	41
3	MATERIAL E MÉTODOS	42
3.1	COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO.....	42
3.2	SECAGEM E MOAGEM DE INAJÁ PARA A EXTRAÇÃO.....	42
3.3	EXTRAÇÃO DO ÓLEO VEGETAL.....	44
3.4	DETERMINAÇÃO DO FATOR ANTIOXIDANTE MEDIANTE A REAÇÃO COM DDPH.....	44
3.5	DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DE <i>M. maripa</i> POR CROMATOGRAFIA GASOSA.....	45
3.5.1	Hidrólises de Ácidos graxos	45
3.5.2	Metilação dos Ácidos graxos	46
3.5.3	Determinação dos ácidos graxos por cromatografia gasosa	46
3.6	ESTUDO QUÍMICO DO ÓLEO POR RMN- ¹ H	46
3.6.1	Perfil de ácidos graxos totais mediante caracterização de RMN-¹H	46
3.6.2	Análise das Propriedades Físico-químicas por RMN-¹H	47
3.7	DETERMINAÇÃO DOS GRUPOS FUNCIONAIS POR INFRAVERMELHO.....	49
3.8	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA.....	49
3.8.1	Teste de sensibilidade antibacteriana	50
3.8.1.1	Preparação do meio de cultivo Agar Brain Heart Infusion (BHI)	50
3.8.1.2	Preparação do inóculo.....	50
3.8.1.3	Preparação das amostras.....	50
3.8.1.4	Teste de atividade antibacteriana das amostras.....	51

3.8.2	Teste de atividade anticolinesterásica	52
3.8.2.1	Preparo da solução tampão Tris/HCl pH 8 (50 mM)	52
3.8.2.2	Preparo da solução estoque de enzima (1000U/mL)	52
3.8.2.3	Preparo da solução da enzima na concentração 0,222U/mL.....	52
3.8.2.4	Preparo da solução de trabalho.....	52
3.8.2.5	Preparo dos reagentes.....	53
3.8.2.6	Teste de atividade anticolinesterásica das amostras.....	53
3.8.3	Determinação da toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	54
3.8.3.1	Metodologia empregada	54
3.8.3.2	Preparação da Solução Salina	54
3.8.3.3	Preparação de Soluções para o Teste de <i>Artemia salina</i>	54
3.8.3.4	Realização dos testes	54
3.8.3.5	Avaliação da toxicidade.....	55
3.8.3.6	Cálculo da Dose Letal 50% (DL ₅₀)	55
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	56
4.1	RENDIMENTO DO ÓLEO DE <i>M. maripa</i>	56
4.2	DETERMINAÇÃO DO FATOR ANTIOXIDANTE MEDIANTE A REAÇÃO COM DPPH.....	57
4.3	DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS ÓLEOS MEDIANTE CROMATOGRAFIA GASOSA.....	59
4.4	PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS TOTAIS DE ÓLEO DE <i>M. maripa</i> MEDIANTE CARACTERIZAÇÃO DE RMN- ¹ H	67
4.5	ANÁLISE DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS POR RMN- ¹ H...	70
4.5.1	Índice de Iodo	71
4.5.2	Índice de Acidez	72
4.5.3	Relação de Hidrogênios Oleofínicos/Alifático	72
4.5.4	Índice de Saponificação e Massa Molecular Média	72
4.5.5	Estimativa do teor ácidos graxos insaturados totais	72
4.5.6	Estimativa do grau de insaturação	72
4.5.7	Número médio de ligações duplas por triglicerídeo	73

4.6	GRUPOS FUNCIONAIS PRESENTES NO ÓLEO DE <i>M. MARIPA</i>	73
4.7	ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	74
4.7.1	Teste de sensibilidade antibacteriana	74
4.7.2	Teste de atividade anticolinesterásica	75
4.7.3	Teste de toxicidade geral frente à <i>Artemia salina</i>	76
5	CONCLUSÕES	78
	REFERÊNCIAS	79

1 INTRODUÇÃO

Sabe-se que o uso tradicional das plantas é tão antigo quanto o aparecimento da espécie humana na terra, pois, desde os inícios as primeiras civilizações perceberam, que algumas plantas continham em suas essências princípios ativos, os quais ao serem experimentados no combate das doenças, revelaram empiricamente seu poder curativo. Até hoje, em China e o Egito, continuam usando terapias com produtos naturais tradicionais (SATYAJIT; SARKER, 2007).

A história das plantas medicinais não seria tal, sem a participação dos homens e mulheres que utilizaram as plantas do sitio no que viviam. Os primeiros habitantes da região amazônica viveram numa aprendizagem permanente dos benefícios que oferecia o entorno para a saúde e a cura de doenças. O uso e conhecimento obtiveram-se possivelmente através de provas de ensaio acerto-erro, chegando a conhecer e aprender o uso de um número significativo de plantas (RENGIFO, 2007).

Aproximadamente 3,4 bilhões de pessoas ao redor do mundo dependem da medicina tradicional baseada em plantas. Plantas medicinais são todas as plantas que contêm em um ou mais de seus órgãos substâncias que podem ser utilizadas com propósitos terapêuticos ou que sejam precursoras de semi-síntese químico-farmacêutica (OMS, 1979; 2005). Nesse sentido, Morgan (1994), afirma que toda planta que contém um ou mais princípios ativos em sua composição e que são úteis à saúde dos seres humanos, são consideradas plantas medicinais.

É reconhecida a importância dos produtos naturais, incluindo aqueles derivados de plantas, no desenvolvimento de modernas drogas terapêuticas (CALIXTO, 1997). As plantas medicinais são importantes para a pesquisa farmacológica e o desenvolvimento de drogas, não somente quando seus constituintes são usados diretamente como agentes terapêuticos, mas também como matérias-primas para a síntese, ou modelos para compostos farmacologicamente ativos (OMS, 1998). Estima-se que aproximadamente 40% dos medicamentos atualmente disponíveis foram desenvolvidos direta ou indiretamente a partir de fontes naturais, assim subdivididos: 25% de plantas, 12% de microrganismos e 3% de animais (CALIXTO, 2001). Das 252 drogas consideradas básicas e essenciais pela OMS, 11% são originárias de plantas e um número significativo são drogas sintéticas obtidas de precursores naturais (RATES, 2001). Além disso, nas últimas décadas, o interesse populacional pelas terapias naturais tem aumentado significativamente nos países industrializados (OMS, 2001).

O uso de princípios ativos de plantas é pouco explorada quando falamos de atividade antibacteriana, antifúngica, anticolinesterásica, sendo que das espécies de plantas encontradas no mundo, apenas uma pequena fração teve seu estudo fitoquímico realizado (HAMBURGER, 1991; LOPES, 2005).

Dentro dessa enorme biodiversidade florística encontramos nas regiões do Brasil, uma grande variedade de plantas que compõem a família Arecaceae, que apresenta uma distribuição pantropical e abrigam a maior diversidade de palmeiras do mundo, sendo uma fonte importante de niacina, riboflavina, tiamina, ferro e retinol entre outros compostos (MORA-URPI, 1997; FERREIRA, 1998).

O gênero *Maximiliana*, pertence à família Arecaceae, está composto de 73 espécies descritas na literatura (PINTAUD, 2008). Entre as espécies mais representativas do gênero está a *Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude, conhecida com o nome comum de Inajá, que é uma palmeira que se encontra por toda a Amazônia, no Maranhão, Mato Grosso, Ceará, Venezuela, Peru, Bolívia, etc., e apresenta diversas classes de ácidos graxos essenciais, como ácido graxos saturados (AGS) e ácidos graxos insaturados (AGI) com significativa quantidade, e uma variada característica físico-química os quais, não podem ser produzidos pelo organismo humano e, portanto, tem de ser consumidos, através de alimentos ricos dessas substâncias em benefício da saúde (DAMASCENO, 2009).

A literatura destaca que a palmeira de inajá pode ser totalmente utilizada, como possível fonte alternativa de alimentação para humanos e animais, pois observou-se a presença de proteínas e lipídios (SHANLEY et al., 2010). A amêndoa como a polpa do fruto, pode servir como matéria-prima para indústria de cosméticos, saboarias (“sabão vegetal”) e alimentícias, sendo seu potencial industrial o óleo comestível obtido do fruto, podendo alcançar até 60% (MIRANDA et al., 2001).

Pelos dados obtidos de estudos realizados com Inajá é possível inferir a falta de informação referente a sua utilização como potencial bioativo, sendo ainda pouco conhecida e estudada no meio acadêmico na região amazônica (PEREIRA, 2013).

Portanto, a finalidade deste trabalho é realizar a avaliação química, físico-química e biológica do óleo da polpa de *Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude, de ocorrência natural no estado de Roraima.

1.2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.2.1 Biodiversidade de Plantas no Brasil

O Brasil é o país que detém a maior parcela da biodiversidade, em torno de 15 a 20% do total mundial, com destaque para as plantas superiores, nas quais detém aproximadamente 24% da biodiversidade (MINISTERIO DA SAÚDE, 2006).

O Brasil é signatário da Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB), acordo estabelecido no âmbito da Organização das Nações Unidas (ONU) e integrado por 188 países cujos objetivos são a conservação da diversidade biológica, a utilização sustentável de seus componentes e a repartição justa e equitativa dos benefícios derivados da utilização dos recursos genéticos. A mesma convenção ressalta a importância dos conhecimentos tradicionais de povos indígenas e de comunidades locais para o alcance destes objetivos, delegando aos seus signatários o dever de garantir a esses povos e comunidades o direito de decidir sobre os usos desses saberes e de também perceber os benefícios decorrentes de seu uso (MINISTERIO DA SAÚDE, 2006).

1.2.2 Metabólitos Secundários

Além do metabolismo primário, responsável pela síntese de celulose, lignina, proteínas, lipídeos, açúcares e outras substâncias importantes para a realização das funções vitais, as plantas também apresentam o chamado metabolismo secundário (CHAMPE et al., 2008).

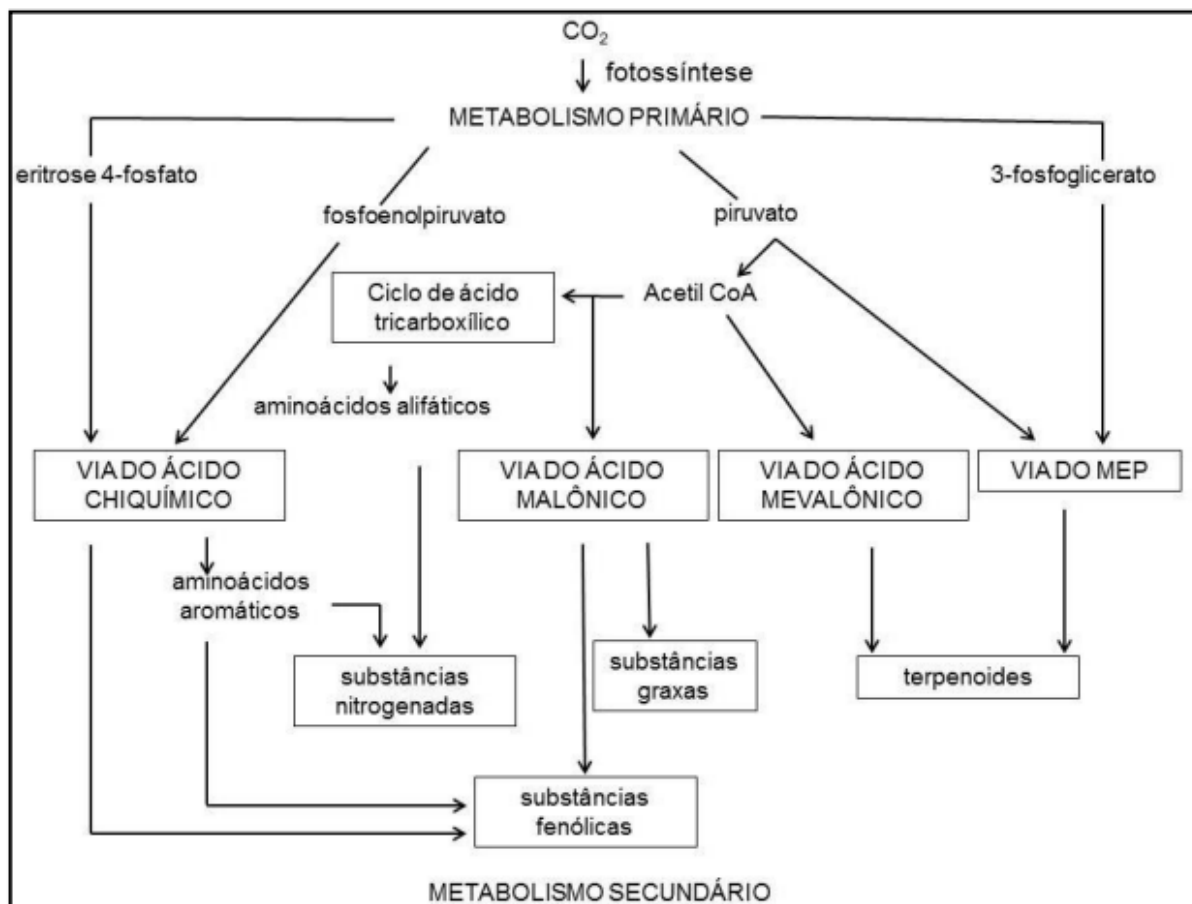
Os metabólitos secundários, geralmente de estrutura complexa, baixo peso molecular, possuem atividades biológicas marcantes e, diferentemente dos metabólitos primários, apresentam-se em baixas concentrações e em determinados grupos de plantas (BERG e LUBERT, 2008). Os metabólitos secundários, despertam grande interesse, não só pelas atividades biológicas exercidas pelas plantas em resposta aos estímulos do meio ambiente, mas também pela imensa atividade farmacológica que possuem. Muitos são de importância comercial não apenas na área farmacêutica, mas também nas áreas alimentar, agrônômica, perfumaria e outras (SIMÕES et al., 2007).

Para Pereira e Cardoso (2012), a origem de todos os metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais: o ácido chiquímico e o acetato. O ácido chiquímico é precursor de taninos hidrolisáveis, cumarinas,

alcalóides derivados dos aminoácidos aromáticos e fenilpropanóides, compostos que tem em comum a presença de um anel aromático na sua constituição; ao passo que os derivados do acetato são os aminoácidos alifáticos e os alcalóides derivados deles; terpenóides, esteróides, ácidos graxos e triglicerídeos (LEITE, 2008). Os metabólitos secundários vegetais destacam-se na área da farmacologia devido a seus efeitos biológicos sobre a saúde da espécie humana.

Na Figura 1 observa-se uma visão simplificada das principais vias de biossíntese de metabólitos secundários.

Figura 1 - Esquema geral simplificado da interface entre o metabolismo primário e as vias de síntese dos metabólitos secundários



Fonte: Taiz Zeiger (2009).

1.2.3 Espécie Vegetal

1.2.3.1 Família Arecaceae

A família Arecaceae é constituída por 2000 espécies, distribuídas em 190 gêneros, predominantemente nos trópicos. Constitui a terceira família botânica economicamente mais importante, atrás apenas das famílias Poaceae e Fabaceae. A Arecaceae subdivide-se em seis subfamílias: Calamoideae, Nypoideae, Phytelephantoideae, Ceroxyloideae, Arecoideae e Coryphoideae (HEYWOOD, 2007).

Arecoideae é a maior subfamília das Palmas, que compreende seis grupos separados, com um total de 112 gêneros (entre os que destaca *Maximiliana*) e 1400 spp. (HEYWOOD, 2007). Na floresta Ombrófila Atlântica, que se estende por toda a Costa do Brasil até Argentina e Paraguai, são encontrados 10 gêneros e 40 espécies de palmeiras (HENDERSON; GALEANO et al., 1995).

1.2.3.2 *Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude

Também conhecida como a palmeira do inajazeiro, o fruto pode ser considerado alimento tanto para humanos quanto para animais domésticos e silvestres (BEZERRA, 2011). Os nomes populares desta palmeira, depende do lugar de procedência. É conhecida como Aritá, pelos Ameríndios, na Bolívia: Cusu, Huacava; no Brasil: inajá, najá, anajá, catolé; na Colômbia: Chinchire; no Equador: Inayio; em Guiana: Kokeritpalm; em Guiana Francesa: Maripa; em Peru: Incham, Inaynga; em Suriname: Maripa, e em Venezuela: Cucurito, Anajá (SILVEIRA, 2009).

A palmeira de inajá apresenta diversos sinônimos em quanto a sua identificação botânica (LEITMAN, 2015). O mais usado é *Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude; isto por apresentar o uso de diferentes conceitos de gênero entre os taxonomistas. Na Guia de Campo das palmas das Américas (Henderson et al., 1995), todas as espécies da subtribu Attaleinae *sensu* Uhl e Dransfield (1987) são incluídas num amplo gênero *Attalea*, enquanto que no tratamento taxonômico de Palma Subtribu Attaleinae (Glassman, 1999), o grupo trata-se como cinco gêneros separados (*stricto sensu* *Attalea*, *Orbignya*, *Scheelea*, *Maximiliana* e *Ynesa*) (PINTAUD, 2008). As sinônimas de *Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude, encontradas são [*Palma maripa* Aubl.; *Palma maripa* Corrêa; *Attalea maripa* (Aubl.) Martius; *Englerophoenix*

maripa (Corrêa) Kuntze]. [*Maximiliana elegans* Karsten]. [*Maximiliana regia* Mart.]. [*Maximiliana martiana* Karsten]. [*Englerophoenix regia* (Mart.) Kuntze; *Attalea regia* (Mart.) Wess. Boer.]. [*Maximiliana tetrasticha* Drude; *Englerophoenix tetrasticha* (Drude) Barb. Rodr.; *Scheelea tetrasticha* (Drude) Burret]. [*Maximiliana longirostrata* Barb. Rodr.; *Englerophoenix longirostrata* (Barb. Rodr.) Barb. Rodr.]. [*Maximiliana macrogyne* Burret]. [*Maximiliana stenocarpa* Burret]. [*Maximiliana macropetala* Burret; *Attalea macropetala* (Burret) Wess. Boer]. [*Attalea cryptanthera* Wess. Boer] (FERREIRA, 2005).

1.2.3.3 Usos Tradicionais de *Maximilina maripa*

Na Tabela 1, podemos observar que a palmeira de Inajá é totalmente utilizada, e o fruto pode ser considerado alimento tanto para humanos quanto para animais domésticos e silvestres.

Tabela 1 - Uso tradicional de *M. maripa*

PARTES DO VEGETAL	USOS
Fruto	Alimentos (podendo ser usada como ração para aves, suínos e peixes, farinha, óleo comestível, vinho), saboarias (sabão vegetal), combustível, cosméticos.
Folha	Cobertura temporária de casas.
Coarató, Pedúnculo	Utensílios e ferramentas.
Palmito	Alimentos (utilizando no engorde dos animais, aumentando a produção de leite.)

Tanto a amêndoa como a polpa do fruto representam a matéria-prima que podem ser consumidos como alimento no seu estado natural, servindo ainda para a produção de vinhos, sucos, sorvetes e produção de polpa. Tem importância também para indústria de cosméticos, como saboarias ("sabão vegetal") e produtos para a saúde (SOUZA, LUCIEN, SILVEIRA, 2005; BEZERRA, 2011; CHARLES 1999; ELOY, 2001).

1.2.3.4 Distribuição geográfica

A palmeira *M. maripa* cresce em locais de área seca, aberta e tem uma boa adaptação em solos quimicamente pobres (DUARTE, 2009). É encontrada em todo o norte da América do Sul, incluindo Colômbia, Venezuela, Trinidad (caribe), Guianas, Equador, Peru, Bolívia e Brasil (Acre, Amazonas, Roraima, Maranhão, Mato Grosso, Pará e Rondônia) (FERREIRA, 2005).

1.2.3.5 Tronco/Estipe

Pode atingir até 20 metros de altura (DUARTE, 2009). Solitário, com 229,5 cm de diâmetro, ereto, e às vezes com um cone de raízes na base alcançando até 70 cm (FERREIRA, 2005).

Figura 2 - Indivíduo de *M. maripa*



Fonte: Duarte (2008).

1.2.3.6 Folhas

Folhas eretas, arranjadas em espiral; pecíolo e bainha com 1,5 - 2,3 m de comprimento fibrosos nas margens; pecíolo com até 20 cm de largura na base, pecíolo e raque com os bordos cortantes; raque 6,23-6,58 m de comprimento; arranjadas em grupos de 2-10, dispostas em diferentes planos, lineares, aristadas, sem aurícula na base, pinas medianas com 1-1,15 m de comprimento e 4-6,5 cm de largura, com nervura central bem proeminente (FERREIRA, 2005).

1.2.3.7 Inflorescências

Intrafoliar, persistente, algumas vezes totalmente estaminada ou estaminada e pistilada; pedúnculo 45-100 cm de comprimento; bráctea primária 0,5-1,6 m de comprimento; bráctea peduncular persistente, 1,1-2,5 m de comprimento incluído o ápice, longo e fino, que pode

medir 35-50 cm de comprimento; raque 40-100 cm de comprimento; 15-22 cm de comprimento, dispostas em todos os lados da raque (FERREIRA, 2005).

1.2.3.8 Flores

Estaminadas com 3 sépalas triangulares, 3 pétalas unidas na base, lanceoladas, 3,5 mm de comprimento, 6 estames com anteras medindo até 8 mm de comprimento, pistilóide ausente; flores pistiladas 1,5 cm de comprimento, 6-10 por raquila; 3 pétalas e 3 sépalas, ovário tomentoso (FERREIRA, 2005).

1.2.3.9 Frutos

Os cachos de Inajá, contém aproximadamente 2.000 frutos (DUARTE, 2009), compostos por mesocarpo fibroso e viscoso, endocarpo sem fibras, com 4,5-7,5 cm de comprimento, 2,5-3 cm de diâmetro, recoberto, às vezes, até a metade pelo perianto e com resíduo estaminoidal apicalmente franjado; forma oblongo-elipsóide; quando maduro, ocorrendo no período de janeiro a junho ou também podem ser apresentar entre os meses de outubro a dezembro (FERREIRA, 2005). Nas Figuras 3 e 4 observa-se, respectivamente, cacho e fruto do inajá.

Figura 3 - Cacho do Inajá



Fonte: Bezerra (2011).

Figura 4 - Fruto do Inajá



Fonte: Bezerra (2011).

1.2.3.10 Sementes

Na Figura 5, pode-se observar as sementes, encontrando-se de 2-3 sementes por fruto, as quais apresentam um alto percentual de óleo, que pode ultrapassar os 60%, fato que enquadra esta oleaginosa como palmeira promissora para o seu aproveitamento sustentável como biodiesel no estado de Roraima (DUARTE, 2009; FERREIRA, 2005).

Figura 5 - Sementes do Inajá



Fonte: O autor.

1.2.3.11 Cultivo e Importância econômica de *M. maripa* (Aubl.) Drude

O Inajá se encontra por toda a Amazônia. Em Roraima, a palmeira pode ser observada nas áreas de mata, durante o ano inteiro, e devido a sua produtividade, distribuição e abundância, se mostra como uma fonte promissora de energia renovável. Frequentemente em ambientes muito distintos, é tolerante a inundações, queimadas e condições de baixa fertilidade do solo (CARDOSO, 2007). Em Roraima, encontra-se principalmente nos municípios de Mucajaí, Iracema, Cantá, Caracarái, Bonfim, Alto Alegre, Amajari entre outros (DUARTE, 2008).

O potencial industrial do inajá está no óleo comestível obtido da amêndoa do fruto, podendo alcançar até 60% (MIRANDA et al., 2001). É consumida como farinha, óleo comestível, em ração para aves, suínos e peixes. As folhas jovens servem como cobertura de casas e as adultas como abrigo nas florestas para homens e animais; na coroa foliar, encontra-se o palmito que tem grande valor alimentício e industrial; o estipe (caule) é utilizado para fabricação de móveis, assoalhos, paredes de casas e etc., também a polpa pode ser a base de uma bebida denominada “vinho” que é composta com uma mistura de água e açúcar (DOUGLAS, 2002; BEZERRA, 2011).

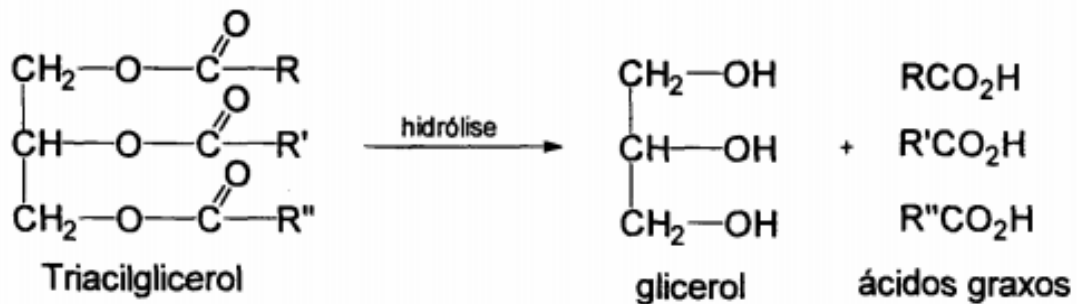
O fruto de inajá apresenta características físico-químicas que possibilitam o seu aproveitamento na alimentação tanto humana quanto animal, representando um alimento energético, assim como matéria-prima de caráter oleífero (BEZERRA, 2011; DUARTE, 2012), podendo gerar 3,690 litros de óleo por ha ao ano (DUARTE, 2012), o que representa um alto potencial quando comparado com a soja (400L/ha), o girassol (800L/ha), o milho (160L/ha), ou o algodão (280L/ha) (PETROBIO, 2013). Estes fatores despertaram muito interesse na viabilização econômica do inajá para a produção energética (DUARTE, 2012).

1.2.4 Óleos e Gorduras

Os óleos e gorduras são substâncias insolúveis em água (hidrofóbicas), de origem animal ou vegetal formados predominantemente de produtos de condensação entre glicerol e ácidos graxos chamados de triglicerídeos (CARNEIRO, 2007). O químico e físico francês Michel-Eugène Chevreul no início do século XIX, realizou as primeiras pesquisas de sobre constituições de óleos e gorduras, demonstrando que a hidrólise de óleos e gorduras davam

origem a ácidos graxos e glicerol (GUNSTONE, 1971). Na Figura 6, pode-se observar a reação geral de hidrólise de um triacilglicerol.

Figura 6 - Reação geral de hidrólise de um triacilglicerol



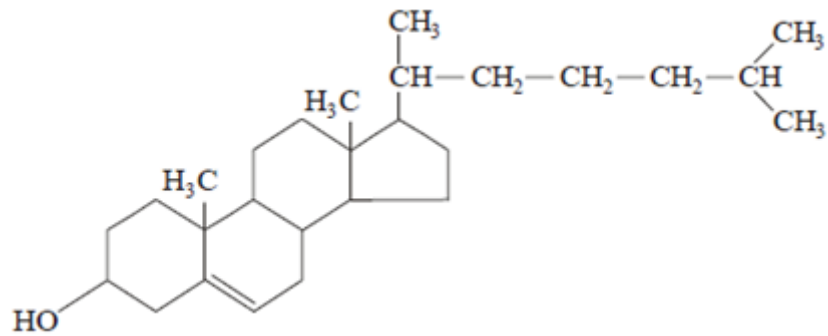
Fonte: Hardman (2008).

Atualmente são reconhecidos como nutrientes essenciais na alimentação humana e animal e proporcionam a fonte mais concentrada de energia que se tem conhecimento, e suas propriedades físico-químicas e organolépticas, estão intimamente ligadas à sua composição química, principalmente aos tipos de ácidos graxos presentes (RAMALHO, 2012).

1.2.4.1 Lipídios

Os lipídios são biomoléculas com grande variedade estrutural. Os ácidos graxos e seus derivados, esteróis, ceras e carotenoides, são os exemplos mais conhecidos de lipídeos, tendo em comum a presença de cadeias orgânicas com um elevado número de carbonos, o que lhes confere o caráter hidrofóbico, podendo apresentar apenas átomos de carbono e hidrogênio ou, ainda, grupos funcionais com heteroátomos, como álcoois, fenóis, ácidos carboxílicos, ésteres, entre outros (FAHY, 2005). Na Figura 7, encontra-se a estrutura química do colesterol, que é uma importante molécula dos tecidos animais, é um exemplo de um esteroide. Além de ser um componente essencial das membranas biológicas, o colesterol é um precursor na biossíntese de todos os hormônios esteroides, vitamina D e sais biliares (MOTTA, 2009).

Figura 7 - Estrutura química do colesterol



Fonte: Hardman (2008).

1.2.4.2 Ácidos graxos

A essencialidade de certos ácidos graxos foi descrita pela primeira vez por Burr (1929) e reafirmada por inúmeros trabalhos de pesquisa, sendo determinada pela impossibilidade dos animais (diferente dos vegetais) em sintetizar estes ácidos graxos a partir de precursores estruturalmente mais simples. Os ácidos graxos são cadeias carbônicas compostas de C, O e H que contêm um grupo carboxila em uma das extremidades e um grupo metil na extremidade oposta. Essa cadeia carbônica varia de tamanho dependendo do número de carbonos ligados a ela. A cadeia carbônica, quando apresenta menos de 4 carbonos, é classificada como cadeia curta; quando possui de 6 a 12 carbonos, é classificada como cadeia média; e como cadeia longa, aquelas com mais de 14 carbonos. Além do número de carbonos ligados, os lipídios são classificados como saturados, sem duplas ligações, ou insaturados, com presença de dupla entre os átomos de carbono. Os ácidos graxos insaturados podem ser classificados como monoinsaturados, quando possuem apenas uma dupla ligação, ou poli-insaturados, quando têm mais de uma dupla ligação (LEHNINGER, 1995).

Os ácidos graxos saturados (AGS) são predominantemente encontrados em carne, ovos, queijos, leite, manteiga, óleo de coco, palma e em vegetais hidrogenados (GÓMEZ, 2003). Os ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) são encontrados na maioria das gorduras animais, aves, carnes de vaca, cordeiro, em azeitonas, sementes e nozes (GARCIA, 2006), sendo o mais comum o ácido oléico (C18:1). Na Tabela 2 pode-se observar os principais ácidos graxos saturados e insaturados presentes em óleos e gorduras.

Tabela 2 - Principais ácidos graxos presentes em óleos e gorduras

Ácidos Graxos Saturados				
Nomenclatura Usual	Nomenclatura Oficial	C / I	Fórmula	PF (°C)
Ácido Butírico	Ácido Butanóico	4 : 0	CH ₃ - (CH ₂) ₂ - COOH	- 5,3
Ácido Caprótico	Ácido Hexanóico	6 : 0	CH ₃ - (CH ₂) ₄ - COOH	- 3,2
Ácido Caprílico	Ácido Octanóico	8 : 0	CH ₃ - (CH ₂) ₆ - COOH	16,5
Ácido Cáprico	Ácido Decanóico	10 : 0	CH ₃ - (CH ₂) ₈ - COOH	31,0
Ácido Láurico	Ácido Dodecanóico	12 : 0	CH ₃ - (CH ₂) ₁₀ - COOH	45,0
Ácido Mirístico	Ácido Tetradecanóico	14 : 0	CH ₃ - (CH ₂) ₁₂ - COOH	54,0
Ácido Palmítico	Ácido Hexadecanóico	16 : 0	CH ₃ - (CH ₂) ₁₄ - COOH	63,0
Ácido Estearico	Ácido Octodecanóico	18 : 0	CH ₃ - (CH ₂) ₁₆ - COOH	70,0
Ácido Araquídico	Ácido Eicosanóico	20 : 0	CH ₃ - (CH ₂) ₁₈ - COOH	76,1
Ácido Behênico	Ácido Docosanoico	22 : 0	CH ₃ - (CH ₂) ₂₀ - COOH	80,0
Ácidos Graxos Insaturados				
Ácido Palmitoléico	Cis-9-Hexadecenóico	16:1	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CH-(CH ₂) ₉ -COOH	32,0
Ácido Oléico (GD-9)	9-Octadecenóico	18:1	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH	4,0
Ácido Linoléico (GD-6)	9-12-Octadecadienóico	18:2	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH	- 5,0
Ácido Linolênico (GD-3)	9,12,15-Octadecatrienóico	18:3	CH ₃ CH ₂ CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH	-11,0

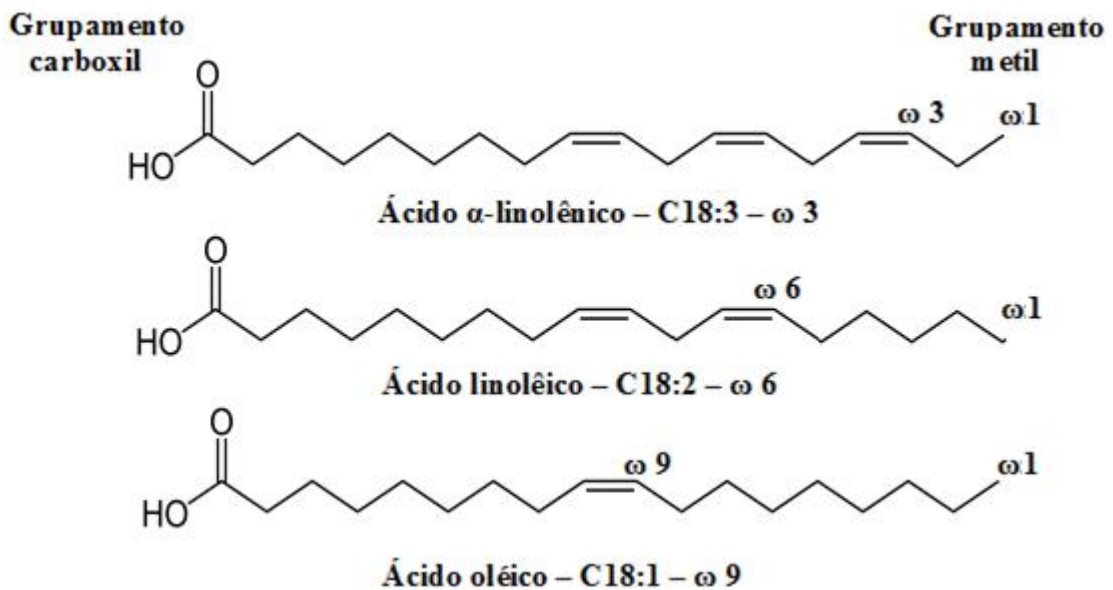
C / I: Carbonos e insaturações
 Fonte: Santos (2010).

As três famílias mais importantes são a ω -9, ω -6 e ω -3. O principal representante da família ω -3 é o ácido α -linolênico (C18:3) é encontrado em quantidades apreciáveis em sementes oleaginosas como canola, soja e linhaça. O principal representante da família ω -6 é o ácido linoléico (C18:2) e está presente de forma abundante nos óleos vegetais como óleo de girassol, cártamo, milho, soja, algodão, etc., e da família ω -9 é o ácido oleico (C18:1) (DZIEZAK, 1989). Contudo, a maior fonte deste ácido reside nos animais marinhos, particularmente peixes. Os ácidos ω -6 e ω -3, são considerados ácidos graxos essenciais por serem necessários para a saúde uma vez que, não são biossintetizados pelos animais, sendo adquiridos através da dieta (GÓMEZ, 2003).

A numeração dos carbonos de uma cadeia carbônica de ácidos graxos se inicia a partir do grupamento carboxila, cujo carbono é considerado o número 1. O carbono número 2 é denominado como alfa, e o carbono número 3 é denominado beta. O carbono do grupo metil é

conhecido como carbono ômega. Nos ácidos graxos insaturados, as famílias são denominadas pela posição da primeira dupla ligação, sendo a contagem iniciada pelo carbono ômega, ou seja, uma cadeia carbônica com a primeira dupla ligação no carbono de número 3 a partir do carbono ômega é chamada de ômega 3 (SANTOS; GRECO, 2010). A Figura 8 mostra os ácidos graxos ω -3, ω -6 e ω -9.

Figura 8 – Estrutura química dos ácidos graxos ω -3, ω -6 e ω -9.



Fonte: Santos e Greco (2010).

1.2.4.3 Importância do óleo de *M. maripa* (Aubl.) Drude

O inajá é uma oleaginosa característica da Amazônia, sendo considerada uma cultura perene na região, já que possui potencial para a produção de biocombustíveis (CARDOSO, 2007). Os teores de proteína (7,06%) e de extrato etéreo (28,64%) observados no mesocarpo indicam que o inajá pode ter um potencial aproveitamento na alimentação humana e animal, representado como um alimento energético por seu valor nutritivo e conteúdo de lipídeos (BEZERRA, 2006; SOUZA, 2005; MOTA, 2007). A cultura destas plantas, que se realiza tradicionalmente pelos nativos desde tempos antigos deve-se fomentar, como uma alternativa alimentaria para o povo que mora nas regiões, mas poderiam ser também uma fonte de óleos vegetais de alta qualidade que se poderia vender contribuindo consideravelmente à conservação dos bosques tropicais (COSTA, 2011; BEZERRA, 2006; SOUZA, 2005).

1.2.5 Técnicas Utilizadas

A seguir, apresentamos uma breve revisão das técnicas utilizadas neste trabalho de pesquisa.

1.2.5.1 Antioxidantes: Determinação com radical DPPH

Nos últimos anos, a técnica de raios X começou a ser utilizada na medicina para detecção não invasiva de lesões e, em seguida, detectado sua capacidade de causar danos nos tecidos biológicos. Na primeira metade do século XX, os estudos sobre os efeitos da radiação gama e X sugerem que, especialmente os radicais livres, radicais hidroxila foram responsáveis pelo dano celular (STEIN; WEISS, 1948). A partir desse momento os eliminadores de radicais livres apareceram como a solução para os danos oxidativos associados com a radiação e qualquer processo biológico de degradação causada pelos radicais. Em particular, foi proposta a teoria que explica o envelhecimento por ação dos radicais livres e, conseqüentemente, a solução teria de vir dos antioxidantes com capacidade de capturar esses radicais livres (OXILIA, 2010).

Os radicais livres são produzidos por funções celulares normais ou ainda podem ser induzidos por diferentes fatores ambientais ou fisiológicos, tais como a radiação ultravioleta, exercício físico extenuante. Entre os radicais livres estão incluídos o radical hidroxila (OH), o ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e óxido nítrico (NO). Tais espécies, devido a sua elevada reatividade química, podem levar a uma peroxidação lipídica, oxidação de certas enzimas, a oxidação e degradação de proteínas e danos mutagênicos no ácido desoxirribonucléico (ADN) (GENESTRA, 2007). Os radicais livres estão envolvidos em funções distintas através de reações de oxidação-redução, a modificação de uma variedade de moléculas envolvidas na maioria das vias de sinalização celular, ou, moléculas da matriz extracelular (LOPEZ, 2012).

Sendo que a morte celular é um processo irreversível de oxidação, por conseguinte, um antioxidante eficaz, deve parar o processo degenerativo que culmina na morte da célula (PHAM-HUY; HE, et al., 2008).

Os antioxidantes formam parte de um conjunto de compostos químicos ou produtos biológicos que neutralizam de forma direta ou indireta os efeitos nocivos dos radicais livres ou oxidantes (ZAMORA, 2007).

Compostos derivados de plantas medicinais com atividade antioxidante têm sido isolados das mais diversas famílias de plantas, sendo os compostos fenólicos as substâncias representativas desta atividade (RAMAWAT, 2009).

Uma alta proporção de flavonóides ocorre naturalmente como glicosídeos solúveis em água. Quantidades consideráveis de flavonóides são consumidas diariamente em nossa dieta quando há consumo de vegetais. Alguns flavonóides são particularmente benéficos, atuando como antioxidantes, dando proteção contra doenças cardiovasculares, certos tipos de câncer, e, alega-se, degeneração relacionada à idade dos componentes celulares (ALVES, 2007). Sua natureza fenólica lhes permite neutralizar os radicais livres prejudiciais, tais como superóxido, radicais hidroxilas (SATYAJIT; SARKER, 2007).

Os compostos químicos, como polifenóis, entre outros têm a capacidade para capturar e deslocar elétrons, fornecendo essas substâncias com propriedades oxidantes. Assim, o ensaio de eliminador de radical livre de DPPH apresenta-se como um teste de previsão do potencial da atividade antioxidante e pode ser utilizado para o rastreamento de substâncias químicas sintéticas, bem como produtos naturais (SHARMA, 2009).

1.2.5.2 Cromatografia Gasosa

A teoria da cromatografia e sua prática foram desenvolvidas ao longo de décadas. Os primeiros trabalhos envolvendo cromatografia foram publicados em 1906 por Michel Tswett, um botânico russo, o qual separou algumas substâncias de extratos de plantas (CHESTER, 2002). A cromatografia gasosa, é uma técnica de separação importante para análises quantitativa e qualitativa de uma vasta gama de compostos. Trata-se de uma técnica rápida e sensível, que permite a combinação de uma variedade de detectores seletivos incluindo a detecção por espectrometria de massas (KAAL, 2008).

A Cromatografia Gasosa, é uma técnica para separação e análise de misturas de substâncias voláteis. Cromatografia gasosa - Detector por Ionização de Chama (CG-FID) é uma técnica analítica muito comum que é amplamente utilizada na indústria petroquímica e farmacêutica. Um FID geralmente usa uma chama de hidrogênio/ar pela qual passa a amostra para oxidar moléculas orgânicas e produz partículas eletricamente carregadas (íons). Os íons são recolhidos e produzem um sinal elétrico que é então mensurado (COLLINS et al., 2006; VISENTAINER; FRANCO, 2006).

O FID é extremamente sensível a impurezas de hidrocarboneto no fornecimento de hidrogênio e de ar da chama. Impurezas de hidrocarbonetos podem causar aumento do ruído de

base e reduzir a sensibilidade do detector (COLLINS et al., 2006; VISENTAINER; FRANCO, 2006).

1.2.5.3 Ressonância Magnética Nuclear

Foi descoberta em 1945 por Bloch e Purcell (Prêmio Nobel da Física em 1952) na sequência dos trabalhos de Isidor I. Rabi (Prêmio Nobel da Física em 1944). É a ferramenta mais poderosa que existe para a determinação de estruturas orgânicas, e proporciona uma grande quantidade de informação sobre a estrutura do composto e pode se determinar muitas estruturas utilizando só o espectro de RMN, se baseia na detecção das propriedades magnéticas dos núcleos (LUZYANIN, 2010; WADE, 2011).

A técnica do RMN-¹H é uma técnica extremamente sensível à densidade eletrônica e a população de hidrogênios que gerou o sinal. O espectro de RMN-¹H é uma série de sinais agudos cujas frequências podem ser relacionadas à natureza química dos átomos de hidrogênios (grupos metil, metilenos, etc.) e cujas intensidades são diretamente relacionadas ao número de hidrogênios que produzem o sinal. Hidrogênios em ambientes eletrônicos diversos mostram diferentes deslocamentos químicos e a intensidade do sinal é proporcional à quantidade de hidrogênios (GUILÉN; RUIZ, 2001).

Assim, de um único espectro adquirido diretamente da amostra em estudo, é possível identificar e quantificar um grande número de componentes individuais de uma mistura complexa através dos seus sinais característicos na RMN (BARISON; SILVA; CAMPOS, 2010). A RMN pode ser utilizada tanto para a análise qualitativa como quantitativa e as suas aplicações vão desde a análise de compostos químicos simples a seres vivos intactos. No entanto, é usada com outras formas de espectroscopia e análises químicas para determinar as estruturas de moléculas orgânicas complicadas (LUZYANIN, 2010; WADE, 2011).

1.2.5.4 Análises Físico-Químicas

Os chamados índices são as determinações feitas nos estudos de óleos e gorduras, os quais são as expressões das propriedades físicas ou químicas daquelas substâncias. Desta forma, para avaliação e qualificação de óleos são determinados os índices de acidez, saponificação, iodo, éster e as propriedades físicas (CORREIA, 2009). No presente trabalho, serão realizadas as caracterizações físico-químicas do óleo de Inajá, com algumas adaptações.

1.2.5.5 Índice de acidez

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 e acelerada pelo calor e presença de luz, altera quase sempre a concentração dos íons hidrogênio, sendo a rancidez comumente acompanhada pela formação de ácidos graxos livres. Estes geralmente são expressos em índice de acidez, em mL de solução normal, por cento em grama de ácido oléico, forma adotada pelos regulamentos técnicos (IAL, 2008). Pode ser medido através do método titulométrico.

1.2.5.6 Índice de saponificação

O índice de saponificação é definido como o número de miligramas de hidróxido de potássio (KOH) necessário para saponificar um grama de amostra (IAL, 2008). É inversamente, proporcional à massa molecular média dos ácidos graxos dos triglicerídeos presentes nas amostras. Este índice demonstra a presença de óleos ou gorduras de alta proporção de ácidos graxos de baixa massa molecular em mistura com outros óleos e gorduras (MORETTO et al., 2008). A reação de saponificação pode estabelecer o grau de deterioração e a estabilidade, além de verificar se as propriedades dos óleos estão de acordo com as especificações e identificar possíveis fraudes e adulterações (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

1.2.5.7 Índice de iodo

O índice de iodo é a medida do seu grau de insaturação, sendo expresso em porcentagem de iodo absorvido por grama de amostra (IAL, 2008). Este índice, está relacionado com a presença de duplas ligações no óleo. Assim, o iodo pode ser quantitativamente introduzido nas duplas ligações dos ácidos graxos insaturados e triglicerídeos, razão pela qual, quanto maior a insaturação de um ácido graxo, maior será a sua capacidade de absorção de iodo e, conseqüentemente, maior será seu índice (REDA, 2004).

1.2.5.8 Infravermelho

A espectroscopia no infravermelho é uma técnica utilizada desde 1940 pelos cientistas russos, mas só em 1950 foram comercializados os primeiros espectrômetros dispersivos. É um

método de caracterização físico para análise qualitativas e determinações quantitativas de traços de elementos. Isto é possível porque os átomos que formam as moléculas possuem frequências específicas de vibração, que variam de acordo com a estrutura, composição e o modo de vibração da amostra (CHIA, 1988). Duas categorias básicas de vibração moleculares são conhecidas: as vibrações de deformação axiais e as deformações angulares. Uma vibração de deformação axial (estiramento) envolve uma mudança contínua na distância interatômica ao longo do eixo da ligação entre dois átomos. Vibrações de deformação angulares são caracterizadas pela mudança no ângulo entre duas ligações (SILVERSTEIN, 1994). A radiação infravermelha corresponde aproximadamente à parte do espectro eletromagnético situada entre as regiões do visível e microondas, sendo a porção mais utilizada para o químico orgânico àquela situada entre 4000 cm^{-1} e 400 cm^{-1} (SILVERSTEIN, 2006).

A espectroscopia na região do infravermelho (IV) é uma técnica amplamente utilizada em análises qualitativas, síntese, e transformações orgânicas. Atualmente, o infravermelho é um importante recurso para identificação e elucidação estrutural de substâncias orgânicas, ao mesmo tempo esta técnica apresenta alta relevância na determinação da pureza, assim como no controle e acompanhamento de reações (LOPES; FASCIO, 2004; RIBEIRO; SOUZA, 2007).

1.2.6 Ensaio Biológicos *in vitro*

1.2.6.1 Atividade de inibição de bactérias

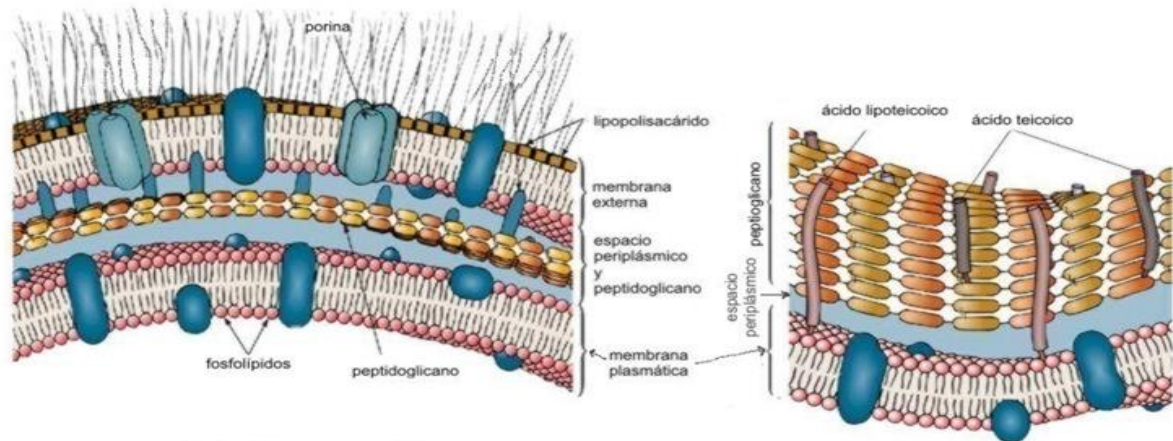
As infecções têm sido uma das principais causas de doença ao longo da história da humanidade. Com a introdução dos antibióticos, este problema tendeu a desaparecer. No entanto, os microrganismos têm vindo a desenvolver mecanismos de resistência que têm contrariado os avanços alcançados no tratamento de infecções (GOODMAN; GILMAN'S, 2008; KATZUNG, 2007; TENOVER, 2006).

Para a sobrevivência de qualquer bactéria é essencial manter a integridade da parede celular, sendo importante referir que a parede celular das bactérias Gram positivas e das bactérias Gram negativas é diferente, como se pode visualizar na Figura 9.

A parede celular é suficientemente flexível em virtude da sua estrutura entrelaçada do seu principal constituinte, o peptidoglicano, com o alto índice de ligações cruzadas (GOODMAN; GILMAN'S, 2008).

Antibióticos são compostos naturais ou sintéticos capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de fungos ou bactérias. Podem ser classificados como bactericidas, quando causam a morte da bactéria, ou bacteriostáticos, quando promovem a inibição do crescimento microbiano. São exemplos de antibióticos com ação ao nível da síntese do peptidoglicano os antibióticos β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenems, monobactâmicos e alguns inibidores das β -lactamases), a bacitracina e os glicopéptidos (BAPTISTA, 2013).

Figura 9 - Estrutura das paredes de Bactérias Gram (+) e Gram (-)



Fonte: Sánchez e Rivas (2015).

As novas estratégias da pesquisa em produtos naturais microbianos, envolvendo a busca de substâncias em micro-organismos e a utilização de ferramentas genômicas para o acesso a novos produtos naturais, podem acelerar o processo de descoberta de novos antibióticos, extremamente importantes num cenário de rápido desenvolvimento de resistência pelas bactérias aos agentes terapêuticos disponíveis (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

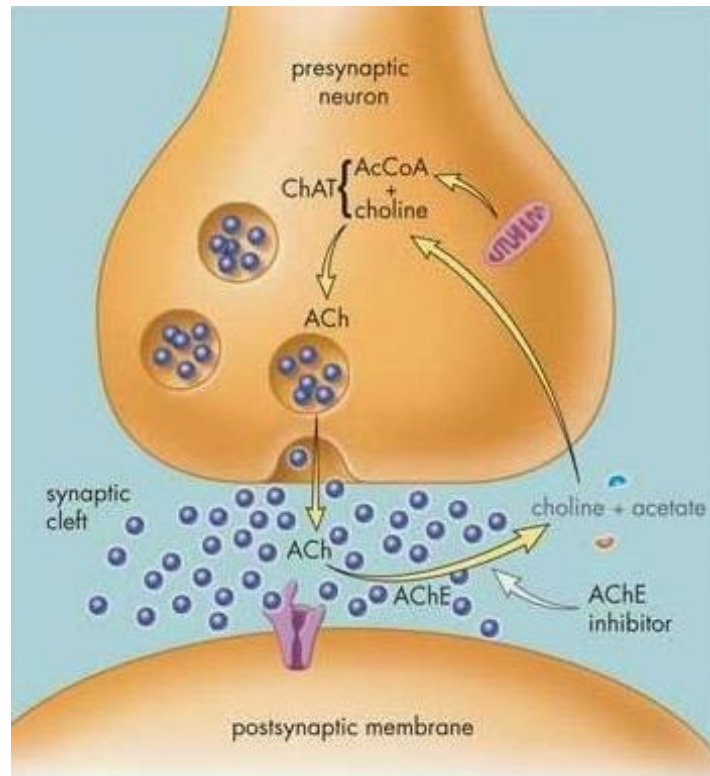
1.2.6.2 Atividade de inibição da Enzima Acetilcolinesterase

A acetilcolinesterase (AChE) é uma enzima pertencente à família das colinesterases, sendo responsável pela finalização da transmissão dos impulsos nervosos nas sinapses colinérgicas pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh). A AChE está presente no sistema nervoso central e periférico (RANG, 2001).

Na doença de Alzheimer ocorre a deficiência de neurotransmissores que são responsáveis pela transmissão dos estímulos nervosos transmitidos de um neurônio a outro. O principal neurotransmissor é a ACh que está envolvida diretamente nos processos motores,

cognitivos e de memória. A doença de Alzheimer gera a degradação de neurônios diminuindo a atuação da ACh, a qual é degradada pela ação de enzimas. Apesar da doença de Alzheimer não ter cura, existe um tratamento que tem sido bastante eficaz em diminuir os sintomas desta doença que é o uso de fármacos inibidores da AChE (anticolinesterásicos) para evitar a degradação da ACh (GILMAN, 2005). Na Figura 10 pode-se observar a ação da enzima Ache.

Figura 10 - Inibidores da Acetilcolinesterase



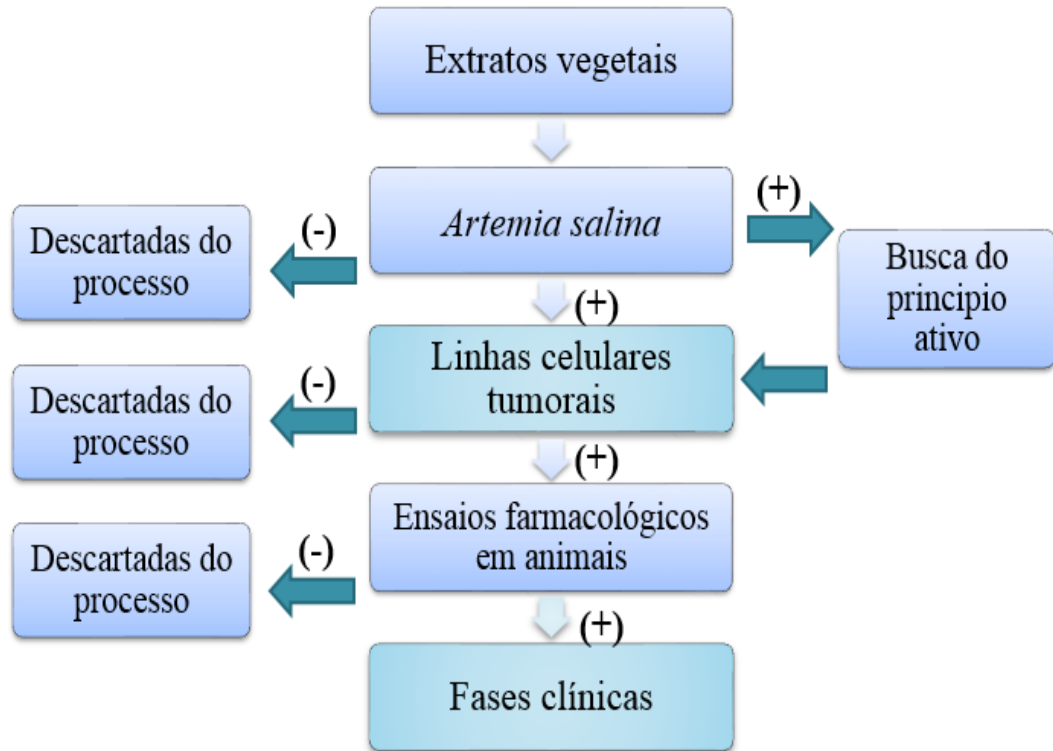
Fonte: Ferreira (2015).

1.2.6.3 Testes de toxicidade

O uso do micro crustáceo de *Artemia salina*, estende-se a investigações de toxicologia aplicada (SORGeloos et al., 1978; FAIRCHILD et al., 2010; GONZÁLEZ-LOZANO, 2010) dada sua disponibilidade comercial, útil como material vivo de prova (MEYER et al., 1982). A investigação sobre *Artemia salina* tem um amplo espectro que vá desde a avaliação de compostos tóxicos ou essenciais nos náuplios (ARENCEBIA e TIZOL, 1996; RODRÍGUEZ, 1998) até a exposição tóxica aguda a diversos produtos químicos (ABDULLAH et al., 1997), a detecção de tóxicos em produtos comestíveis e farmacêuticos, estudos de modelos de ação tóxica de substâncias e de transferência tóxica de contaminantes (SORGeloos et al., 1986).

Na figura 11, pode-se observar uma estratégia resumida dos extratos positivos ao bioensaio se são submetidos ao estudo químico preliminar para encontrar compostos puros ou mesclas de compostos, os quais finalmente são testados até alcançar as fases clínicas (GARCÍA-OCÓN; DÍAZ-TORRES; ESPINOZA, 2015).

Figura 11 - Estratégia geral na busca de novos compostos citotóxicos a partir de extratos vegetais



Fonte: García-Ocón; Díaz-Torres; Espinoza (2015).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Realizar a avaliação química, físico-química e biológica do óleo extraído da polpa de *Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude de ocorrência natural no Estado de Roraima.

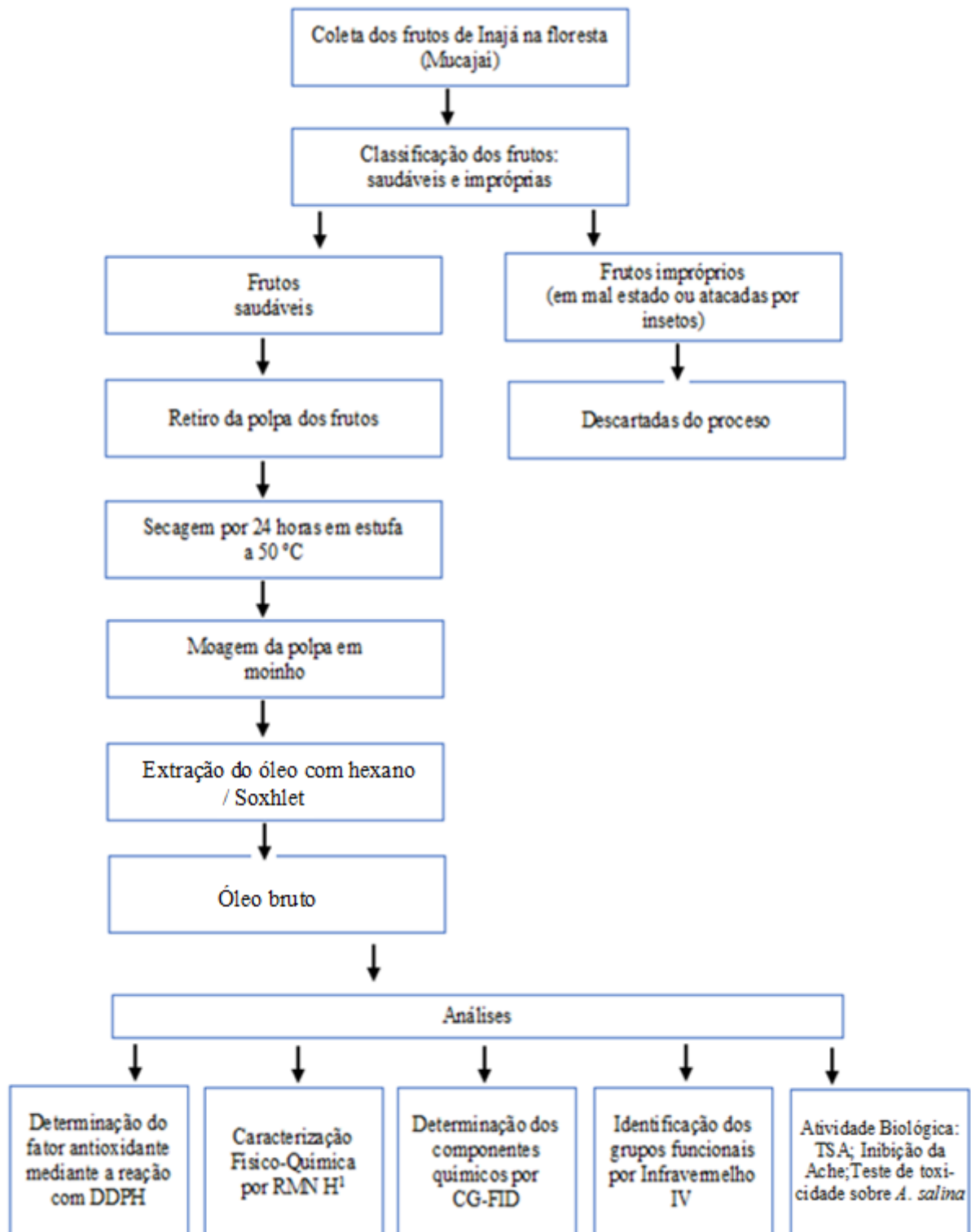
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o potencial antioxidante de óleo de inajá com radical DPPH.
- Identificar e quantificar os ácidos graxos majoritários presentes no óleo de inajá.
- Obter a caracterização físico-química dos ácidos graxos presentes no óleo de inajá.
- Conhecer os principais grupos funcionais presentes no óleo da polpa de inajá.
- Avaliar as atividades antibacteriana, anticolinesterásica e de toxicidade do óleo da polpa de *Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A seguir, apresenta-se um fluxograma na Figura 12, que *resume* a sequência do trabalho realizado.

Figura 12 - Fluxograma do trabalho experimental



3.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO

As amostras de Inajá, foram coletadas na região de Mucajaí no do estado de Roraima, numa zona denominada Vila Tantinho, no quilômetro 451 da rodoviária Br - 174, 2°27'44" N, 60°55'10" W, Alt: 800m, durante o mês de março de 2014. As amostras foram trasladadas ao laboratório de Química Ambiental do Núcleo de Pesquisa e Tecnologia Química da Universidade Federal de Roraima, em Boa Vista. Exsicatas do material coletado foram depositadas para identificação taxonômica no Herbário da Coordenação de Pesquisas em Botânica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, e registradas com o número 268120.

Figura 13 - Exsicata de *M. maripa* coletada para identificação taxonômica



Fonte: O autor.

3.2 SECAGEM E MOAGEM DE INAJÁ PARA A EXTRAÇÃO

Foram secadas durante 48 h, com uma temperatura de 50 °C em uma estufa para esterilização e secado modelo *LAB 1000*. Uma vez secadas, as amostras foram moídas e foi feito a granulometria em peneiras entre 20 - 40 Mesh.

3.3 EXTRAÇÃO DO ÓLEO VEGETAL

Realizou-se a extração do óleo em Soxhlet com n-hexano (Merck 99%). Após, a mistura contendo óleo e hexano foi filtrada, em seguida passou por um processo de separação por evaporação, em um evaporador rotativo a vácuo, onde o solvente utilizado para a extração foi recuperado e posteriormente reutilizado e finalmente pesado para o cálculo do rendimento do óleo. Para este cálculo utilizou-se, Equação 1:

Equação 1:

$$\% \text{ Óleo} = (\text{MO} \times 100) / \text{MA}$$

Onde:

MO: massa do óleo (g);

MA: massa da amostra (g).

3.4 DETERMINAÇÃO DO FATOR ANTIOXIDANTE MEDIANTE A REAÇÃO COM DPPH

A determinação do Fator antioxidante foi realizada no Laboratório de Atividade Biológica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Amazonas, sob a orientação do Prof. Dr. Emerson Silva Lima.

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada medindo a capacidade de sequestro de radicais livres do radical Fe^{3+} e do DPPH, ao adicionar o provável antioxidante presente nos extratos vegetais, ocorre a perda do radical, que é evidenciada pela redução de absorbância em determinado comprimento de onda, onde as diminuições são correlacionadas em uma curva com o antioxidante padrão, que pode ser o ácido ascórbico por ser biologicamente ativo participando das reações no organismo. Para esta avaliação será utilizado o espectrofotômetro UV-Visível.

A solução de DPPH foi preparada com concentração de 0,3 mM em etanol em um frasco ambar, na qual foi mantida no escuro e refrigerada 10 °C. A solução padrão foi preparada com 2 mg de reagente DPPH dissolvidos em 10 mL de etanol.

A determinação da atividade antioxidante foi realizada por meio da avaliação da capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras em sequestrar o radical estável DPPH, segundo metodologia utilizada por Molyneux (2004) com modificações, no aparelho leitor de microplaca (DTX 800, Beckman) em comprimento de onda de 492 nm até obtenção de absorvância de 1,00 ($\pm 0,1$).

Na microplaca de 96 poços, foram aplicados 270 μL de DPPH (1 mg/mL) e 30 μL das soluções das amostras na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$. Como controle positivo utilizou-se o ácido gálico e, para o controle negativo, foram utilizados 270 μL de DPPH e 30 μL de DMSO. A placa foi incubada por 30 min em temperatura ambiente no escuro e realizou-se a leitura da absorvância em 492 nm. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em porcentagem de captura do radical DPPH. A porcentagem de inibição foi obtida a través da Equação 2:

Equação 2:

$$\% \text{ de inibição} = 100 - \left(\frac{\text{abs amostra}}{\text{abs controle}} \right) \times 100$$

3.5 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DE *M. maripa* POR CROMATOGRAFIA A GÁS

3.5.1 Hidrólises de Ácido graxos

Dissolveu-se, em tubo criogênico de capacidade de 2 mL, aproximadamente 10 mg do óleo em 100 μL de uma solução de etanol (95%)/hidróxido de potássio 1 mol.L⁻¹ (5%). Após agitação em vórtex por 10 s, o óleo foi hidrolisado em um forno de microondas doméstico (Panasonic Piccolo), à potência de 80 W (Potencia 2), durante 5 min. Após resfriamento, adicionou-se 400 μL de ácido clorídrico a 20%, uma ponta de espátula de NaCl (aproximadamente 20 mg) e 600 μL de acetato de etila. Após agitação em vórtex por 10 s e repouso por 5 min, uma alíquota de 300 μL da camada orgânica foi retirada, colocada em tubos de microcentrífuga e seco por evaporação, obtendo-se assim os ácidos graxos livres, adaptado de Christie (1989).

3.5.2 Metilação dos Ácidos graxos

Os ácidos graxos livres foram metilados com 100 μL BF_3 /metanol (14%) e aquecidas durante 10 min em banho de água a 60 $^\circ\text{C}$. Em seguida foram diluídos com 400 μL de metanol e analisados por Cromatografia Gasosa.

3.5.3 Determinação dos ácidos graxos por Cromatografia Gasosa

A composição dos ácidos graxos presentes nos óleos foi determinada por cromatografia gasosa após a preparação dos ésteres metílicos. As análises foram realizadas em um Cromatógrafo a Gás HP5890 equipado com detector por ionização de chamas. Utilizou-se uma coluna SP2380 (Supelco) 30 m x 0,32 mm com gradiente de temperatura: 120 $^\circ\text{C}$, 0 min, 7 $^\circ\text{C}/\text{min}^{-1}$ até 240 $^\circ\text{C}$; injetor (split de 1/50) a 250 $^\circ\text{C}$ e detector a 250 $^\circ\text{C}$. Hidrogênio como gás de arraste (2 mL/min) e volume de injeção de 1 μL . A identificação dos picos foi feita por comparação com padrões de ácidos graxos metilados SUPELCO-37.

A identificação dos ácidos graxos foi efetuada a través da comparação de tempo de retenção dos picos das amostras com os dos padrões de ácidos graxos metilados FAME Mix C14-C22, CRM18917 Supelco, e a quantificação foram realizadas pelo cálculo das áreas dos picos e os resultados expressos em porcentagem.

3.6 ESTUDO QUÍMICO DO ÓLEO POR RMN- ^1H

Esta técnica foi desenvolvida, no Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais, sob a orientação da Profª. Dra. Jacqueline Aparecida Takahashi.

3.6.1 Perfil de ácidos graxos totais mediante caracterização de RMN- ^1H

Os espectros de RMN- ^1H foram registados num espectrómetro Bruker Avance DPX 200, operando a 4,7 Tesla, correspondente à frequência de ressonância de 200,13 MHz para o núcleo ^1H , equipado com uma detecção direta quatro núcleos cabeça de sonda e gradientes de campo no eixo z. As amostras foram analisadas em tubos de 5 mm RMN (Wilmad 507).

As amostras de RMN foram preparadas por dissolução de 0,5 mL de óleo em 0,5 mL de CDCl₃. Os desvios químicos são apresentados em ppm, utilizando o TMS como padrão interno. Parâmetros típicos para espectros ¹H-RMN foram: 30 ° pulso, tempo de aquisição 8 s, 6,4 KHz janela espectral, 16 varreduras, 52 K pontos de dados.

3.6.2 Análise das Propriedades Físico-químicas por RMN-¹H

Alguns propriedades físico-químicas em óleos vegetais, podem ser calculados através de equações matemáticas, onde o valor das integrais dos picos do RMN-¹H oferece o valor das substituições das equações. Através do valor das integrais podemos calcular parâmetros de qualidade como o grau de insaturação, peso molecular médio, índice de iodo, índice de saponificação e o índice de acidez, através da RMN-¹H, através das equações, previamente estudadas por Reda (2004) e Reda; Carneiro (2006), apresentadas nas Equações 3-12, respectivamente.

Equação 3:

$$A_p = (I + H) / 4$$

Em que:

A_p = Área de um próton

$I + H$ = são os prótons dos dois grupos metilenos do glicerol.

Equação 4:

$$V = [(J + K) - A_p] / A_p$$

Em que:

V = Hidrogênios olefínicos

$J + K$ = é a área correspondente aos prótons vinílicos;

A_p = Área de um próton

Equação 5:

$$T = (K + J + I + H + G + F + E + D + C + B + A) / A_p$$

Em que:

T = Total de prótons

A_p = Área de um próton

Equação 6:

$$\text{INS} = \text{V} / 2$$

Em que:

INS = Insaturações por triglicerídeos.

V = hidrogênios oleofínicos.

Equação 7:

$$\text{GI} = [\text{G} - (\text{E} / 4)] / \text{F}$$

Em que:

GI = Grau de Insaturação

E = hidrogênios metilênicos em posição α ao grupo oleofínico.

F = hidrogênios metilênicos em posição α ao grupo carbonila.

Equação 8:

$$\text{MM} = 119,7 + 7,036 \cdot \text{T} + 5,983 \cdot \text{V}$$

Em que:

MM = Massa molecular média

T = total de prótons

Equação 9:

$$\text{II} = (126,91 \cdot 100 \cdot \text{V}) / \text{MM}$$

Em que:

II = Índice de iodo

V = Número de prótons vinílicos (olefínicos);

MM = Massa molecular média.

Equação 10:

$$\text{IS} = [\text{MM} \cdot (-0,2358)] + 398,42$$

Em que:

IS = Índice de saponificação

MM = Massa molecular média.

Equação 11:

$$Ro,a = V / (A + B)$$

Em que:

Ro , a = Relação de hidrogênios olefinicos / alifáticos

V = Hidrogênios olefinicos;

A + B = Soma dos hidrogênios alifáticos da molécula do triacilglicerol.

Equação 12:

$$IA = 3,0597 \cdot (Ro,a)^2 - 6,3181 \cdot (Ro,a) + 3,3381$$

Em que:

IA = Índice de acidez

Ro,a = Relação hidrogênios olefinicos / alifáticos.

3.7 DETERMINAÇÃO DOS GRUPOS FUNCIONAIS POR INFRAVERMELHO

As amostras de óleos foram analisadas na região do Infravermelho utilizando-se IR Prestige – 21, Fourier Transform Infrared Spectrophotometer, marca SHIMADZU do Departamento de Química da Universidade Federal de Roraima. Para esta análise foram preparadas pastilhas de KBr contendo a amostra, e utilizou-se as seguintes condições:

- Modo de medição: absorbância;
- Número de scans: 10;
- Resolução: 16%;
- Faixa comprimento de onda: 400 – 4000cm⁻¹.

3.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

Os testes de sensibilidade antibacteriana e atividade anticolinesterásica foram realizados no Laboratório de Biotecnologia e Bioensaios no Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais, sob a orientação da Profa. Dra. Jacqueline Aparecida Takahashi.

3.8.1 Teste de sensibilidade antibacteriana

3.8.1.1 Preparação do meio de cultivo Agar Brain Heart Infusion (BHI)

Para o preparo do meio de cultivo, dissolveu-se 3,4 g de Agar Brain Heart Infusion (BHI) em 200 mL de água destilada. Homogeneizou-se e autoclavou a solução por 15 min a 121°C.

3.8.1.2 Preparação do inóculo

Para realizar o teste, foram utilizadas bactérias Gram Negativas: *Citrobacter freundii* (ATCC 8090), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853); e bactérias Gram Positivas: *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313) obtidas da American Type Culture Collection (ATCC, USA).

Foi preparado um pré-inóculo no qual as bactérias estocadas foram inoculadas em tubos de ensaios contendo 3,0 mL de meio de cultura BHI previamente esterilizados, em seguida, os tubos foram incubados em estufa a 37°C por 24 h, depois deste tempo e com o auxílio de uma micropipeta, 500 µL do pré-inóculo foram transferidos para erlenmeyer contendo 40 mL de água destilada estéril. O inóculo foi padronizado no intervalo de transmitância 74-75% para bactérias em espectrofotômetro, a 600 nm. Todo o procedimento foi realizado em capela de fluxo laminar próximo ao bico de Bünsen.

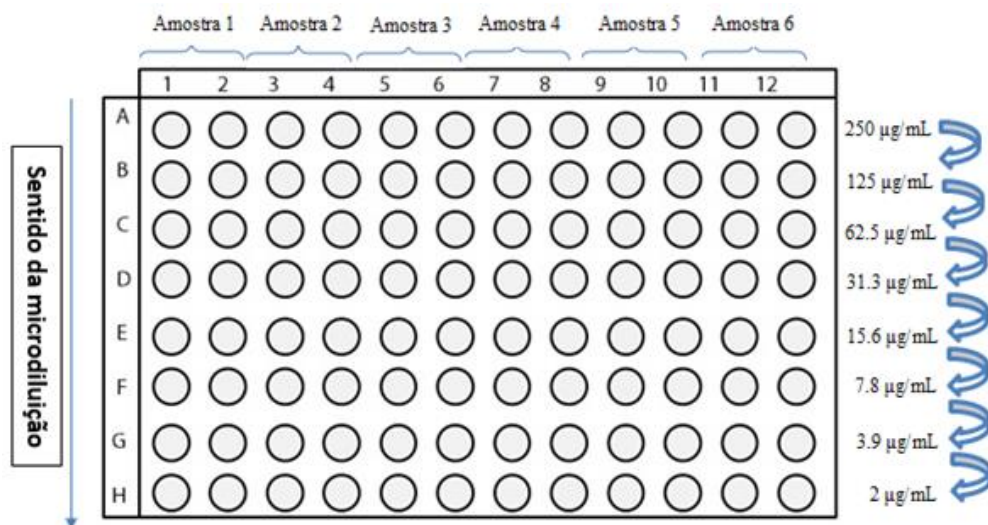
3.8.1.3 Preparação das amostras

As amostras foram pesadas, transferida para frascos tipo *ependorf* e solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO), resultando em uma solução com concentração de 50 mg/mL (por tratar-se de extratos). Após ser homogeneizada em misturador vortex, pipetou-se 20 µL desta solução para um frasco *ependorf*, contendo 1980 µL de meio de cultura BHI afim de se obter uma solução final de 250 µg/mL. O antibiótico Ampicilina foi preparado seguindo o mesmo procedimento, sendo que a concentração utilizada de 12,5 mg/mL.

3.8.1.4 Teste de atividade antibacteriana das amostras

Os testes foram realizados em placas de 96 micropoços, em duplicata. Para realizar as diluições, foi adicionado 200 μL da solução da amostra a ser testada (250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em meio BHI) por toda a fila A (Figura 14) do teste e do controle da amostra. Nas filas B à H, foi adicionado 100 μL de meio BHI. Foram realizadas diluições seriadas na placa da seguinte maneira: 100 μL de amostra foi retirada de cada poço da fila A e transferido para a fila B. Este foi homogeneizado com os 100 μL de meio BHI que já estavam nestes poços, e 100 μL desta nova solução foi transferido para a fila C, assim sucessivamente até a fila H. Foi desprezado os 100 μL finais. Ao final, as filas de A à H possuíam soluções de amostra na concentração de 250; 125; 62,5; 31,3; 15,6; 7,8; 3,9; 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.

Figura 14 - Modelo e distribuição das amostras e controles nas placas utilizadas para o Teste de sensibilidade antibacteriana



Fonte: O autor.

Os controles foram realizados da mesma maneira que o ensaio:

Controle de qualidade do ensaio:

Substitui-se a solução-trabalho pelo antibiótico

- 100 μL de solução de Ampicilina (12.5 mg/mL em meio BHI)
- 100 μL de inóculo

Branco:

Aqui não se adicionou o inóculo.

- 100 μL de solução da amostra em meio BHI

- 100 µL de água destilada estéril

Controle de crescimento do micro-organismo:

Aqui verifica-se a viabilidade celular

- 100 µL de meio BHI
- 100 µL de inóculo

Controle de esterilidade do meio de cultura:

- 100 µL de meio BHI
- 100 µL de água destilada estéril

As microplacas foram incubadas em estufa a 37°C e posteriormente, após 24 h foram realizadas leitura em leitor de placa de Elisa (492 nm), encerrando o teste.

3.8.2 Teste de atividade anticolinesterásica

3.8.2.1 Preparo da solução tampão Tris/HCl pH 8 (50 mM)

Para preparar uma solução de 25 mL de Tris/HCl, pesou-se 398,08 mg do sal Utrapure Tris Hydrochloride e adicionou-se 25 mL de água destilada. Conferiu-se o pH em 8.

3.8.2.2 Preparo da solução estoque de enzima (1000U/mL)

Diluiu-se 0,77 mg da enzima no volume de 500 µL da solução tampão Tris/HCl pH 8,0 no próprio frasco da enzima, para adquirir uma solução de concentração de 1000U/mL. Deixou-se a enzima em solução por 20 minutos e depois, sob agitação, por um período de 10 a 15 minutos.

3.8.2.3 Preparo da solução da enzima na concentração 0,222 U/mL

Adicionou-se 1µL da solução estoque (1000 U/mL) em 4,5 mL da solução Tris/HCl (50mM). Depois agregou-se albumina sérica bovina 0,1% (p/v): 4,5 mg.

3.8.2.4 Preparo da solução de trabalho

Preparou-se uma solução do extrato em tampão Tris/HCl, DMSO, ou solvente adequado, na concentração 10 mg/mL.

3.8.2.5 Preparo dos reagentes

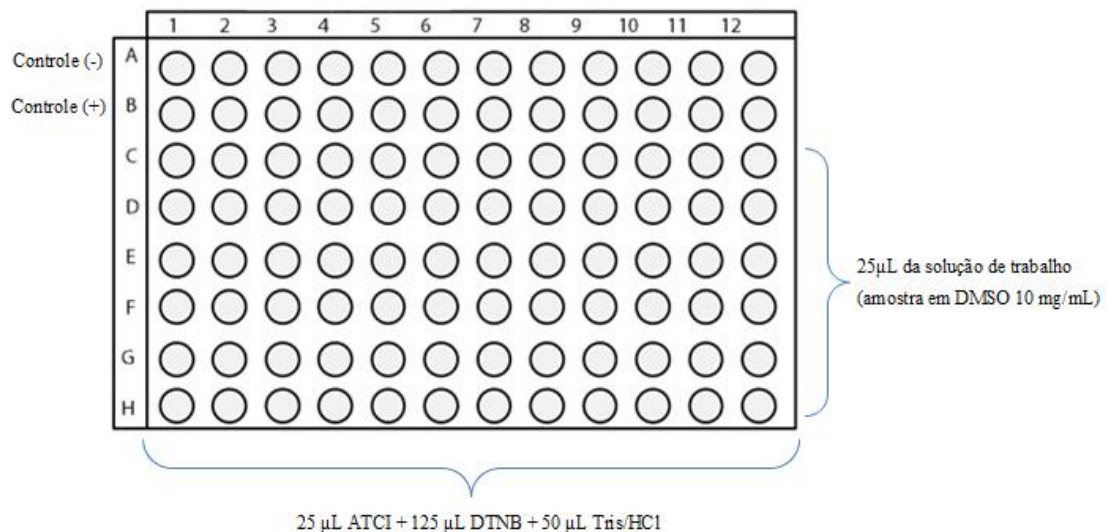
Solução de ATCI (15mM): Preparou-se 1 mL de solução, pesou-se 4,08 mg de iodeto de acetilcolina e dissolveu-se em 1 mL de água destilada.

Solução de DTNB (3mM): Pesou-se 2,38 mg de DTNB e dissolveu-se em 2 ml de solução tampão Tris/HCl pH 8. Adicionou-se 11,69 mg de NaCl (0,1M) e 8,132 mg de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ à solução.

3.8.2.6 Teste de atividade anticolinesterásica das amostras

Os testes foram realizados em placas de 96 micropoços, em quintuplicata. Adicionou-se 25 μ L da solução de trabalho (amostra em DMSO 10 mg/mL) aos poços da placa de Elisa do teste. Nos cinco primeiros poços da fila (Figura 15) do controle negativo, adicionaram-se 25 μ L da solução de DMSO e nos cinco segundos poços da fila do controle positivo, adicionou-se 25 μ L da solução de galantamina. Adicionou-se, a cada poço, 25 μ L de solução de Iodeto de Acetilcolina (Acetylthiocholine iodide, ATCI), 125 μ l da solução de DTNB (5',5-dithio-bis-(2-nitrobenzoate, Sigma) e 50 μ L de Tris/HCl(50mM) com albumina sérica bovina. A absorbância foi medida a 405 nm a cada 1 min por 8 vezes (8 min no total). Adicionaram-se 25 μ L da solução de AChE (0,226 U/mL) em Tris/HCl ao poço. Mediu-se a absorbância a 405 nm por 10 vezes (10 min no total).

Figura 15 - Modelo e distribuição das amostras e controles nas placas utilizadas para o Teste de atividade anticolinesterásica



Fonte: O autor.

3.8.3 Determinação da toxicidade frente à *Artemia salina*

3.8.3.1 Metodologia empregada

A toxicidade sobre *Artemia salina* realizou-se através da metodologia adaptada de Mayer et al. (1982).

3.8.3.2 Preparação da Solução Salina

Em um aquário que se utilizou como incubadora, foi adicionada uma solução salina artificial (40g de sal grosso em 1 L de água destilada). Ajustando o pH entre 8 e 9 com uma solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3 a 10%). A incubadora foi iluminada artificialmente com uma lâmpada fluorescente com aeração. Em um dos lados da incubadora, foram colocados aproximadamente 100 mg de ovos de *Artemia salina*. Parte do sistema foi coberto com papel alumínio para que os organismos ao nascerem, permanecessem isolados em um dos lados do aquário devido à diferença de iluminação. Os náuplios foram atraídos pela iluminação depois da eclosão facilitando a separação destes e das cascas dos cistos. Durante a incubação, a temperatura foi mantida em torno de 25 °C e a eclosão dos ovos foram monitoradas a cada 12 horas sendo verificada no período de 48 horas.

3.8.3.3 Preparação de Soluções para o Teste de *Artemia salina*

O tempo de exposição (24 h) partiu de uma solução de 25 mL contendo $1000 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ da amostra, solubilizada em DMSO a 1% e completados com água salina. A partir da primeira solução, pipetou-se volumes de 11 mL a tubos contendo 1 mL de uma solução de DMSO a 1% em solução salina e completados com 10 mL de solução salina, para obter a concentração de $500 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$. As demais soluções de concentração inferior (250 e 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$) foram obtidas conforme já descrito, e utilizando a seguinte Equação 20, respectivamente:

$$\text{Equação 20:} \quad C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

3.8.3.4 Realização dos testes

Após o período de incubação de 48 horas, 10 organismos (náuplios de *Artemia salina*), foram selecionados e expostos nos tubos de ensaios com as diferentes concentrações diluídas

(500, 250 e 125 µg/mL). Os testes foram feitos em triplicata para cada concentração. Utilizou-se uma solução salina sem extrato como controle positivo, que foi submetido ao mesmo procedimento experimental que os grupos tratados com as amostras em estudo para efeitos comparativos da influência do veículo utilizado sobre a resposta das larvas de *A. salina*. Este sistema foi incubado em temperatura ambiente por 24 horas, sem aeração sendo os frascos mantidos sob iluminação. Após o período de 24 horas de incubação foram verificados, contados o número de larvas mortas e vivas em cada frasco, através da visualização macroscópica e os valores foram registrados em formulário.

3.8.3.5 Avaliação da toxicidade

Decorrido o tempo de 24 horas, realizou-se a contagem do número de náuplios vivos e mortos/imobilizados. A probabilidade de mortalidade foi calculada utilizando a Equação 21:

Equação 21:

$$M (\%) = \frac{\text{Números de organismos mortos}}{\text{Número total de organismos no tubo}} \times 100$$

Ressaltando que os valores da mortalidade foram corrigidos, utilizou-se a Equação 22 de Abbott (LUCENA, 2012):

Equação 22:

$$MC = \frac{(\text{Mortalidade nos frascos teste } [\%] - \text{Mortalidade no frasco controle } [\%])}{(100\% - \text{Mortalidade no frasco controle } [\%])} \times 100$$

MC = Mortalidade corrigida

Na interpretação dos resultados será determinada a Doses Letal 50% (DL₅₀).

3.8.3.6 Cálculo da Dose Letal 50% (DL₅₀)

Para a obtenção da DL₅₀ no teste de avaliação de toxicidade utilizou-se uma curva de calibração. Considerou-se após os cálculos, baixa toxicidade quando a DL₅₀ for superior a 500 µg.mL⁻¹; moderada para DL₅₀ entre 100 a 500 µg.mL⁻¹ e muito tóxico quando a DL₅₀ foi inferior a 100 µg.mL⁻¹ (AMARANTE, 2010).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 RENDIMENTO DO ÓLEO DE *M. maripa*

O óleo extraído da polpa de Inajá obteve uma coloração amarelo-claro para a extração com hexano como pode ser observado na Figura 16 e o rendimento da extração obtido pelo solvente está apresentado na Tabela 3.

Figura 16 - Óleo de Inajá hexano



Fonte: O autor.

Tabela 3 – Rendimento das extrações dos óleos da polpa de *M. maripa*

	Souza et al., 2005 (Mazagão)	Cardoso et al., 2007 (Manaus)	Duarte, 2008 (Iracema)	Amostra Autor (Mucajaí)
Rendimento (%)	36	37	17,38	44,2

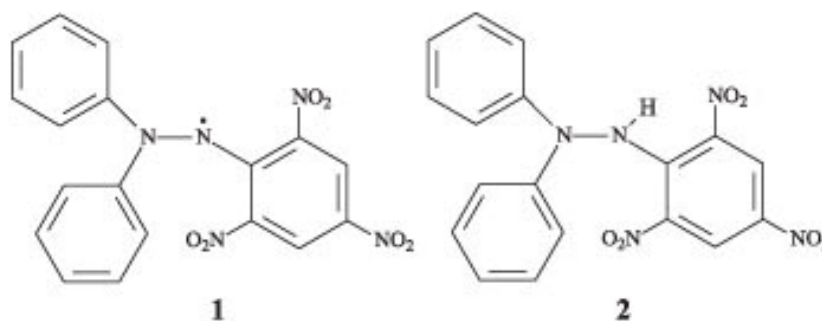
Segundo a Tabela 3, o teor de óleo obtido neste trabalho foi de 44,20% com o solvente hexano, enquanto Souza et al., (2005), Cardoso et al., (2007) e Duarte (2008) obtiveram um rendimento inferior com 36%, 37% e 17,38%, respectivamente, também utilizando extrator Soxhlet com o mesmo solvente.

4.2 DETERMINAÇÃO DO FATOR ANTIOXIDANTE MEDIANTE A REAÇÃO COM DPPH

A atividade antioxidante (capacidade ou potencial antioxidante) é um parâmetro vastamente utilizado para caracterizar diferentes materiais naturais (frutas, vegetais, vinhos, chás). Esta atividade está relacionada com compostos capazes de proteger um sistema biológico contra potenciais efeitos danosos de processos ou reações que causam oxidação excessiva, envolvendo espécies reativas de oxigênio (ARNAO, 2000). Um antioxidante biológico é definido como “qualquer substância que, presente em baixas concentrações comparado ao substrato oxidável, reduz ou previne significativamente a oxidação deste substrato” (BENZIE, 1996). São substâncias que retardam ou previnem significativamente a oxidação de lipídios ou outras moléculas ao inibirem a iniciação ou a propagação da reação de oxidação em cadeia, além de prevenirem ou repararem danos ocasionados a célula pelas espécies reativas de oxigênio (ANDRADE et al., 2007).

A molécula de DPPH é caracterizada como um radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula. Esta deslocalização confere a esta molécula uma coloração violeta, caracterizada por uma banda de absorção em etanol em cerca de 520 nm. Este ensaio se baseia na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH (Figura 17), reduzindo-o a hidrazina. Quando uma determinada substância que age como doador de átomos de hidrogênio é adicionada a uma solução de DPPH, a hidrazina é obtida com mudança simultânea na coloração de violeta a amarelo pálido.

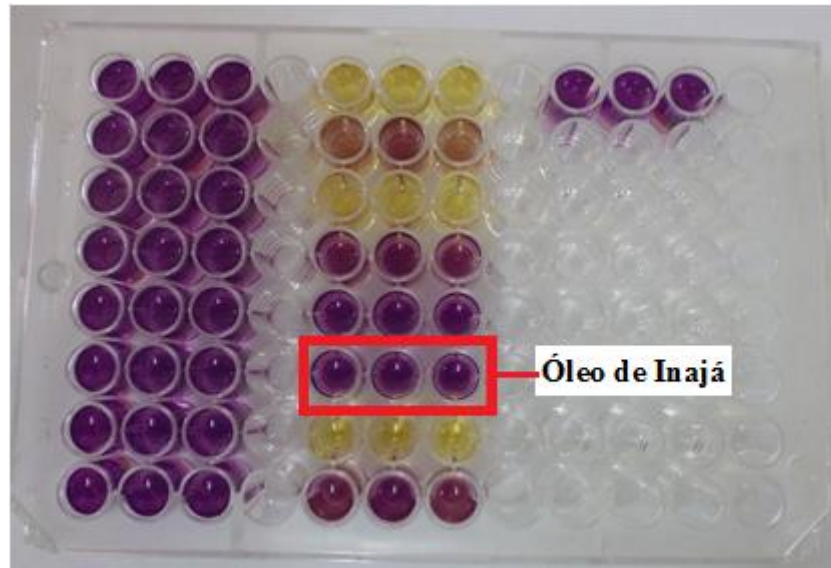
Figura 17 - Estrutura Química Radicalar (1) e não Radicalar (2) do DPPH



Fonte: Alves (2010).

Este método é considerado, do ponto de vista metodológico, um dos mais fáceis, precisos e reprodutivos na avaliação da atividade antioxidante de sucos de frutas, extratos vegetais e substâncias puras, tais como flavonoides e terpenoides (ALVES et al., 2010). Na Figura 18 pode-se observar a placa de 96 poços contendo a amostra por triplicata e na Tabela 4, foi calculada a porcentagem de inibição do DPPH.

Figura 18 - Visualização do Fator antioxidante mediante reação com DPPH



Fonte: O autor

Tabela 4 - % de Inibição de óleo de Inajá e ácido gálico

Amostras	Concentração	% inibição media
Óleo de Inajá	100 µg/mL	0,94
Ácido Gálico	100 µg/mL	86,23

Como pode-se observar o óleo de Inajá apresentou um 0,94% de inibição do DPPH, em concentração de 100 µg/mL, fato que determinou não minimizar as concentrações por ser considerado um valor baixo. Logo, não foi possível calcular o EC₅₀, que é a quantidade de antioxidantes presentes nos extratos capaz de sequestrar 50 % dos radicais livres DPPH da solução. Quanto menor o valor desta medida, menor será a quantidade do extrato exigida para reduzir 50 % do radical livre DPPH e conseqüentemente maior sua atividade antioxidante (SANTOS, 2012).

Já o ácido gálico, que é um antioxidante natural com cinética rápida e de carácter hidrofílico, apresentou um alto EC_{50} (3,4 $\mu\text{g/mL}$), por tratar-se da droga controle.

Entretanto, não foram encontradas na literatura referências sobre a alta atividade antioxidante para a amostra analisada. Santos (2012; 2015), descreve a baixa atividade antioxidante para a polpa Inajá (18936,33 g polpa.g⁻¹ DPPH), quando são comparadas com outras frutas estudadas, tais como bacaba, tucumã, buriti e Inajá com valores de 47,46; 3343,99; 7938,28 e 18936,33 g polpa.g⁻¹ DPPH, respectivamente.

Já que não foram obtidos valores que permitissem a avaliação de EC_{50} , este resultado pode-se atribuir provavelmente ao baixo teor de PET (Teor de polifenóis extraíveis totais). Santos (2012; 2015), afirma que os frutos que se destacaram por sua atividade antioxidante no método de DPPH, foram os mesmos que apresentaram teores de PET mais elevados, o que, no caso pode indicar uma relação direta entre os compostos fenólicos e a atividade antioxidante total.

Utilizando este método para avaliar a atividade antioxidante de alguns compostos fenólicos, a interação de um potencial antioxidante com o DPPH depende, sobretudo, de sua conformação estrutural e do número de grupos hidroxílicos disponíveis (MING, 2006).

As frutas possuem em sua constituição, vários compostos com ação antioxidante, entre eles, os polifenóis, ácido ascórbico e carotenóides. O conteúdo, assim como, o perfil destes constituintes variam em função do tipo, variedade e grau de maturação da fruta, bem como das condições edafoclimáticas do cultivo (LEONG; SHUI, 2002). Devido aos diversos tipos de radicais e aos diferentes alvos de oxidação, dificilmente haverá um único método capaz de representar de forma segura e precisa a real atividade antioxidante de um composto (SANTOS et al., 2013).

4.3 DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS ÓLEOS MEDIANTE CROMATOGRAFIA GASOSA

A Figura 19 mostra o cromatograma das áreas dos picos e tempo de retenção do padrão (Supelco 37) do óleo do Inajá de Roraima, a Tabela 5, mostra as nomenclaturas, resultados (%), tempo de retenção (tr) em minutos e a área dos picos.

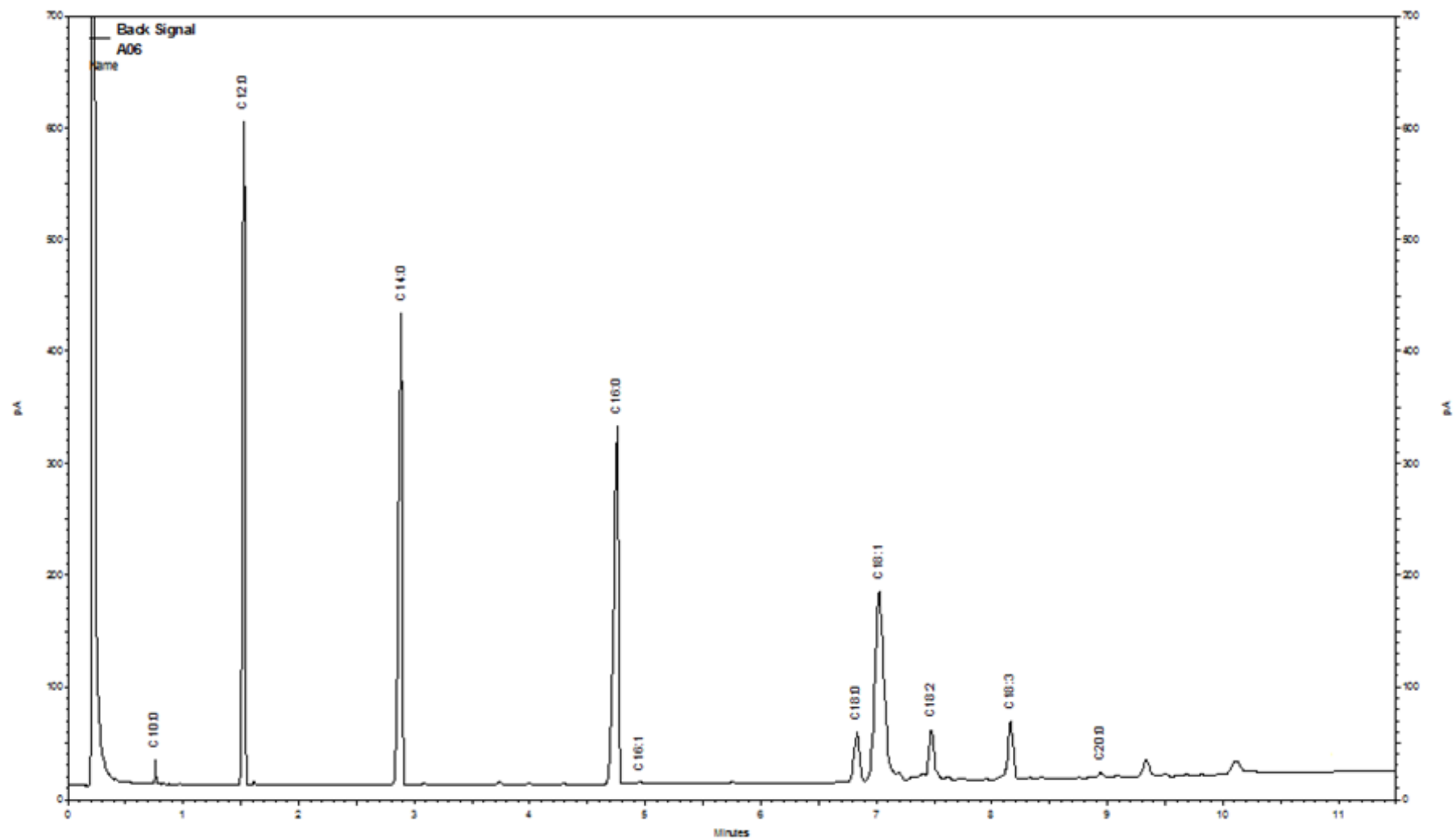
Figura 19 - Cromatograma dos ácidos graxos metilados obtido mediante CG para o óleo de *M. maripa*

Tabela 5 – Valores de ácidos graxos reportados nas amostras de *M. maripa*

Ácidos Graxos	Composição	Tempo de Retenção (tr)	%	Área
Ácido cáprico	C10:0	0,761	0,38	127594
Ácido láurico	C12:0	1,563	17,42	5922885
Ácido mirístico	C14:0	2,862	20,48	6964490
Ácido palmítico	C16:0	4,742	20,76	7059311
Ácido palmitoléico	C16:1	4,903	0,24	80791
Ácido esteárico	C18:0	6,867	3,4	1157289
Ácido oléico	C18:1	7,071	22,32	7592061
Ácido linoléico	C18:2	7,562	4,72	1605867
Ácido linolênico	C18:3	8,197	3,95	1341681
Ácido araquídico	C20:0	8,977	0,34	114387

Como pode-se observar, determinou-se um total de 10 ácidos graxos diferentes. Os ácidos graxos insaturados predominantes nas amostras estudadas foram os ácidos oléico, linoléico e linolênico, com valores de 22,32%; 4,72% e 3,95% respectivamente. Os ácidos graxos saturados maioritários encontrados foram palmítico (20,76%), mirístico (20,48%) e láurico (17,42%).

O óleo de *M. maripa*, mostra uma quantificação de 62,78% para ácidos graxos saturados enquanto 31,23% para os ácidos graxos insaturados, tendo uma razão entre ácidos graxos saturados/insaturados de 2,01 mostrando que o óleo de Inajá estudado apresenta elevada composição de ácidos saturados, a diferença dos valores apresentados aos demais estudos desenvolvidos com óleos de *M. maripa*, são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Composição de ácidos graxos de óleos extraídos da polpa de *M. maripa*

Ácidos Graxos	% Cardoso et al., 2007 (Manaus)	% Duarte 2008 (Iracema)	% Rodrigues et al., 2010 (Pará)	% Costa et al., 2011 (Belém)	% Santos et al., 2013 (Amapá)	% Amostra Inajá-autor (Mucajá)
10:0 (ácido cáprico)	-	-	-	-	-	0,38
12:0 (Ácido Láurico)	12,60	9,24	3,70	5,78	4,60	17,42
14:0 (Ácido Mirístico)	-	15,12	7,60	-	10,70	20,48
16:0 (Ácido Palmítico)	20,50	19,64	20,10	9,65	25,10	20,76
16:1 (Ácido Palmitoléico)	-	1,02	0,10	-	0,30	0,24
17:0 (Ácido heptadecanóico)	-	-	-	20,99	-	-
18:0 (Ácido Esteárico)	-	2,45	3,50	0,05	1,60	3,40
18:1 (ácido oléico) ω -9	40,80	42,74	52,40	2,10	39,20	22,32
18:2 (ácido linoléico) ω -6	-	7,65	8,90	50,05	12,90	4,72
18:3 (ácido linolênico) ω -3	-	6,09	0,20	15,50	1,50	3,95
20:0 (Ácido Araquídico)	-	-	3,20	-	-	0,34
20:1 (ácido eicosenoico)	-	-	-	-	1,30	-
22:0 (Ácido Behênico)	-	-	-	0,29	-	-
24:0 (Ácido tetracosanóico)	-	-	-	0,12	-	-
Ácidos graxos saturados	33,10	46,45	38,10	36,88	43,30	62,78
Ácidos graxos insaturados	40,80	57,50	61,60	67,65	53,90	31,23

(-) Sem dados

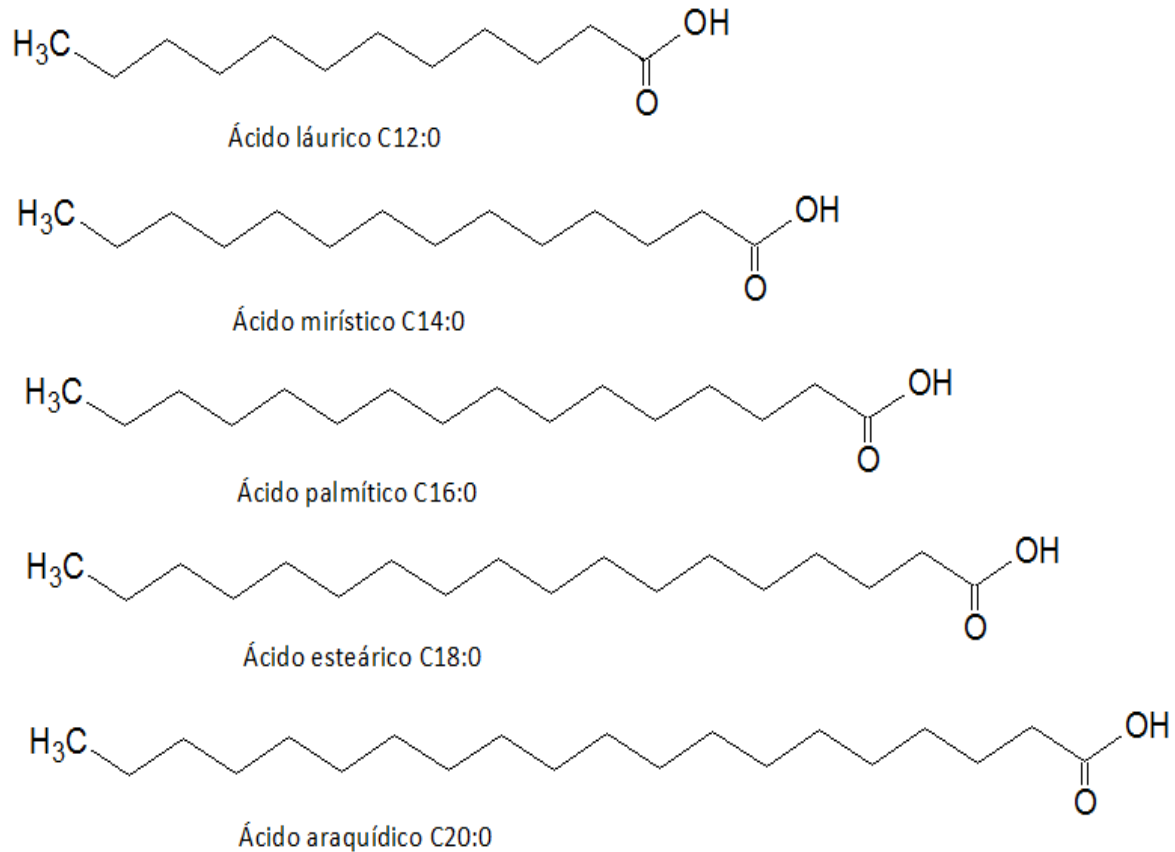
Nos estudos citados e na amostra em estudo, pode-se confirmar a presença em quantidades diferenciadas dos ácidos graxos insaturados (AGI) conhecidos como ω -3 (Ômega 3), ω -6 (Ômega 6), ω -9 (Ômega 9), enquanto ao ácido oleico e ácido linolênico os valores encontrados são semelhantes aos reportados, porém pode-se observar que o ácido linoléico (4,72%), apresentou-se abaixo dos valores reportados na Tabela 6.

Em relação ao ácido palmítico, encontrou-se um valor de 20,76%, valor que é semelhante aos observados nos trabalhos citados, com quantidade significativa acima de 20%, diferente do valor encontrado por Costa et al., (2011) que reporta um 9,65 %. O ácido palmítico é um dos principais ácidos graxos saturados (AGS), necessário como aporte energético e também importante na formação das membranas celulares como constituintes dos fosfolipídios.

Na Tabela 6, Costa et al. (2011), reporta o valor de ω -6 de mais elevado, a diferença dos valores encontrados neste trabalho aos demais autores que coincidem que o ácido graxo mais abundante na polpa de Inajá corresponde a ω -9, que é um ácido graxo essencial importante presente em diversos óleos e azeites alimentícios. Entre os ácidos graxos monoinsaturados, o principal é ω -9, porque possui, como principal efeito, a redução do colesterol total e LDL (low density lipoproteins), sem reduzir o HDL (high density lipoproteins). Além disso, causa alterações na membrana das plaquetas produzindo a ação anti-trombótica (VOGNILD, 1998).

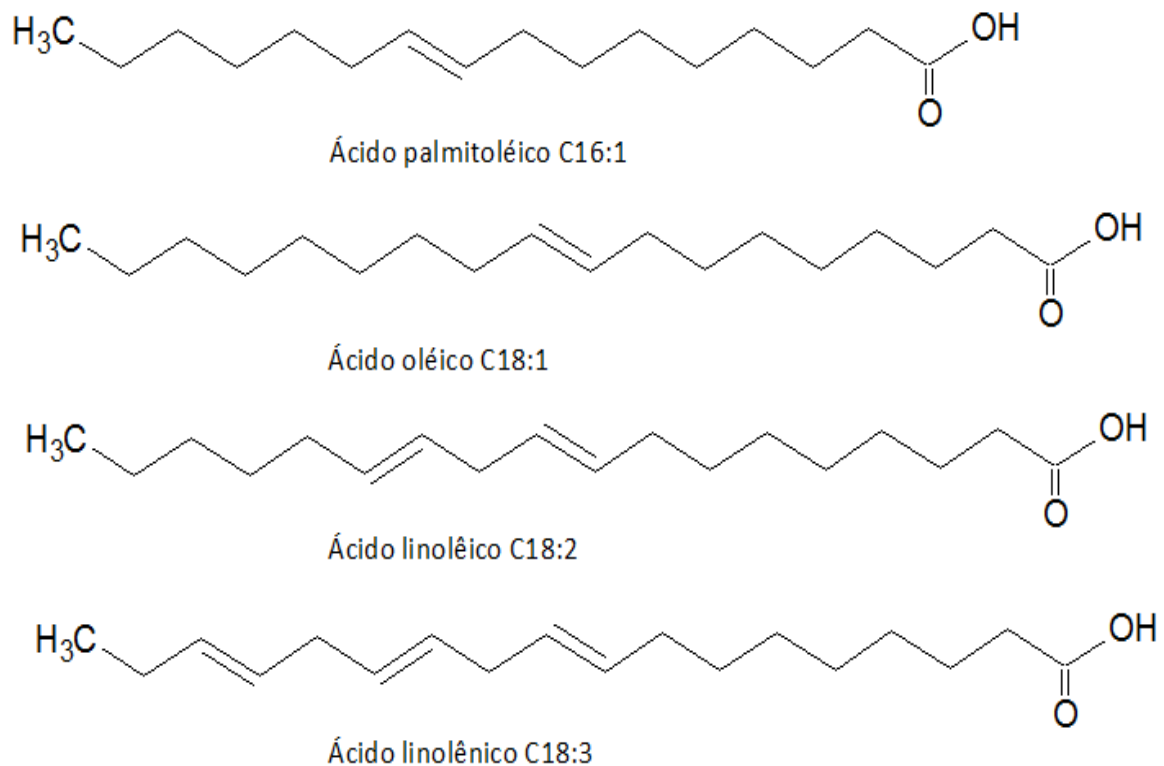
As Figuras de 20 e 21 apresentam as estruturas e nomenclaturas dos 10 ácidos graxos identificados nos óleos da polpa de Inajá *M. maripa*.

Figura 20 – Estrutura de ácidos graxos saturados encontrados no óleo de *M. maripa*



Fonte: O autor.

Figura 21 - Estrutura de ácidos graxos insaturados encontrados no óleo de *M. maripa*



Fonte: O autor.

Por outro lado, os valores de ácidos graxos encontrados neste trabalho, também podem ser comparados com valores de outros óleos vegetais conhecidos, tais como o óleo de oliva, óleo de cacau e óleo de coco (CORDERO, 2009; YÚFERA, 1979; SIMOPOULOS, 1999), como pode-se observar na Tabela 7.

Tabela 7 - Valores de ácidos graxos insaturados presentes em óleos vegetais

Amostras	Ácido oleico (%)	Ácido linoléico (%)	Ácido linolênico (%)
Óleo de Inajá - autor	22,32	4,72	3,95
Óleo de oliva	67,0 – 81,0	3,50 – 14,0	0,30 – 1,20
Óleo de cacau	26,30	41,0	0,34
Óleo de coco	5,0 – 10,0	1,0 – 2,50	0,20

A quantidade de ácido oléico presente nas amostras de inajá, é similar à encontrada no óleo de cacau e maior que o óleo de coco. Este ácido graxo possui estabilidade oxidativa, frente a outros ácidos graxos saturados e hidrogenados (BONAMONE, 1988).

Os valores de ácido linoléico e linolênico de Inajá apresentaram-se superior ao valor do óleo de coco. Também pode-se observar que o valor do ácido linolênico encontrado neste trabalho (3,95%) foi superior que os valores do óleo de oliva, cacau e coco.

Para Costa e Rossi (2000), a análise da composição de ácidos graxos constitui o primeiro passo para uma avaliação preliminar da qualidade do óleo bruto e/ou de seus produtos de transformação. Dependendo da espécie oleaginosa, podem ocorrer variações na composição química do óleo vegetal.

A Tabela 8 apresenta a composição dos principais ácidos graxos de óleos extraídos do mesocarpo de frutos de algumas espécies de palmeiras, segundo os respectivos autores.

Tabela 8 - Composição dos principais ácidos graxos (%) de óleos extraídos do mesocarpo de frutos de palmeiras nativas, segundo os respectivos autores

Ácidos graxos	% Bacaba Mambrín e Barrera- Arellano (1997)	% Buriti Vásquez- Ocmín et al. (2010)	% Pupunha Yuyama et al. (2003)	% Tucumã Mambrín e Barrera-Arellano (1997)	% Inajá Autor
Cáprico (10:0)	-	-	-	1,0	0,4
Láurico (C12:0)	-	-	-	0,1	17,4
Mirístico (C14:0)	-	-	-	0,2	20,5
Palmitico (C16:0)	23,4	19,6 – 21,6	24,1 – 42,3	22,6	20,8
Palmitoléico (16:1)	0,8	0,15 – 0,28	-	0,4	0,2
Esteárico (C18:0)	3,2	1,4 – 1,8	0,8 – 3,5	3	3,4
Oléico (C18:1)	57,1	71,6 – 75,6	42,8 – 60,8	64,7	22,3
Linoléico (C18:2)	14	2,1 – 3,7	2,5 – 5,4	4,7	4,7
Linolênico (18:3)	0,6	0,7 – 0,8	-	3,6	3,9
Araquídico (20:0)	0,2	-	-	0,2	0,3

(-) Sem dados

A percentagem de ácido oléico na polpa de Inajá foi de 22,3 %, encontrando-se em concentrações abaixo que o óleo de bacaba, buriti, Pupunha e tucumã. A concentração do ácido linoléico para o inajá foi de 4,7%, encontrando-se por acima dos valores reportados em Buriti e Pupunha.

Por outro lado, o ácido linolênico apresenta um valor de 3,9 % valor que está por acima dos valores de bacaba, buriti e tucumã. Os óleos extraídos da polpa dos frutos de palmeiras podem ser considerados boas fontes de ácidos graxos insaturados. Estudos mostram que o consumo de dietas ricas em ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados reduz a incidência de doenças coronarianas, enquanto que a ingestão de ácidos graxos saturados aumenta a concentração de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) na corrente sanguínea, elevando o risco de doenças cardiovasculares (BINKOSKI et al., 2005; HERRERA, 2006; BRAGA, 2007).

A Respeito aos ácidos graxos saturados, os ácidos mais abundantes presentes na amostra em estudo, são o ácido palmítico (20,76 %), ácido mirístico (20,48 %) e ácido láurico (17,42%). Entre os vários componentes dietéticos, são os ácidos graxos trans que mais aumentam LDL, seguido dos ácidos graxos saturados, que também aumentam as lipoproteínas de alta densidade (HDL) e não alteram a relação Colesterol total/HDL, se comparados ao consumo de carboidratos. O consumo de 1% do valor calórico total de AGS está associado com aumento de 1,3 a 1,7 mg/dL no LDL e 0,4 a 0,5 mg/dL de HDL (SANTOS, 2013).

Diferentes AGS podem ter efeitos diversos no perfil lipídico e fatores de risco cardiovascular. Se comparado aos carboidratos, o ácido graxo láurico (C12:0) é o que contribui para aumento do LDL, seguido do mirístico (C14:0) e do palmítico (C16:0). Já o esteárico pode provocar pequena redução no LDL. Enquanto ao ácido mirístico, também aumenta a concentração total de colesterol embora em menor medida que o ácido palmítico, já que o ácido, é incorporado rapidamente às triglicérides celulares, induzindo a elevação de colesterolamina (BRAGA, 2007; SANTOS, 2013).

As diferenças quantitativas verificadas no presente estudo, podem ser explicados por muitas razões, como os lugares de procedência, as condições edafoclimáticas, variação genética, de cultura, a variação entre anos, o grau de maturação quando são colhidas, dia e hora da colheita, e incluso as condições de armazenamento das amostras antes da chegada ao laboratório (MSAADA, 2009).

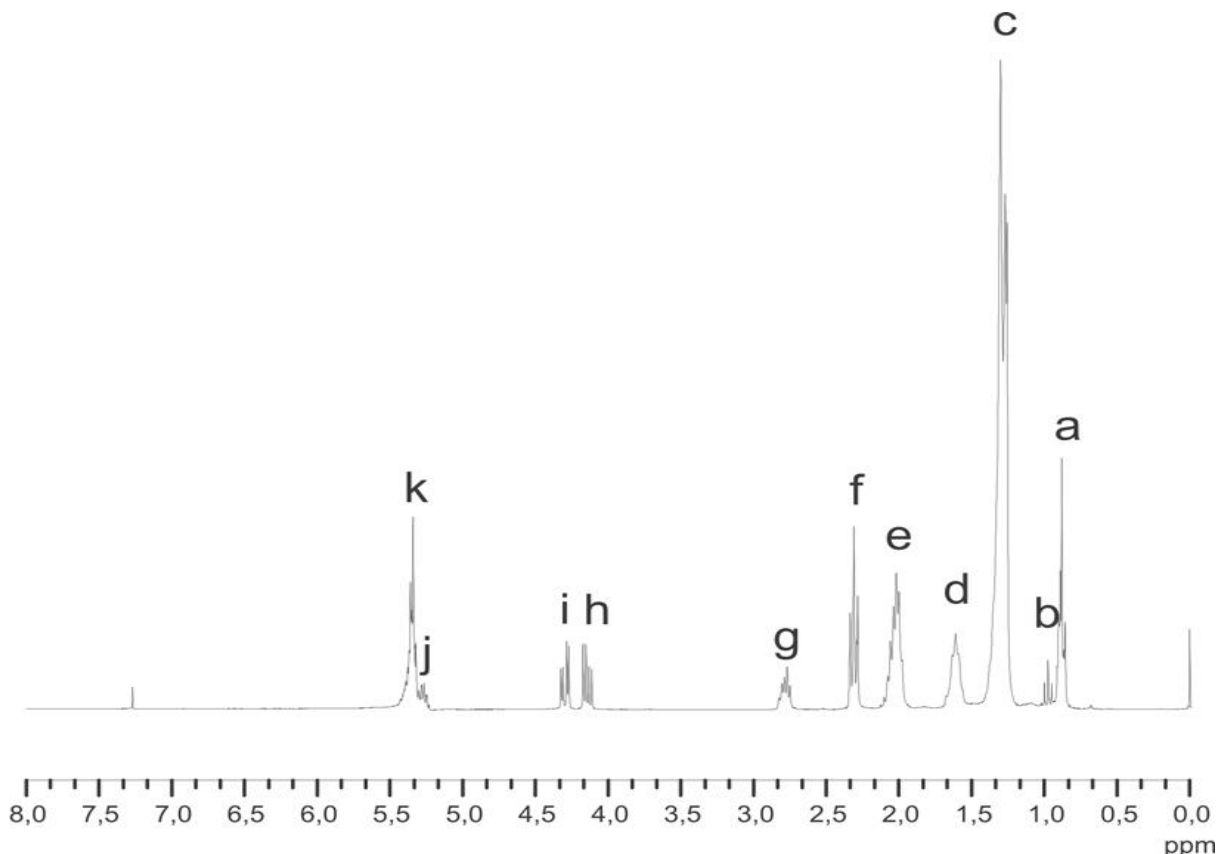
4.4 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS TOTAIS DE ÓLEO DE *M. MARIPA* MEDIANTE CARACTERIZAÇÃO DE RMN-¹H

O espectro integrado do óleo *M. maripa*, é similar ao de outros óleos vegetais, e a partir da intensidade das sinais de este espectro, que pode ser calculada a composição de ácidos graxos insaturados e saturados.

Segundo Reda e Carneiro (2006) o espectro de RMN-¹H, apresenta 11 sinais (A-K) com intensidades significativas, estando estes sinais de acordo com os hidrogênios dos principais componentes nos óleos, ou nos triglicerídeos. Do espectro de RMN-¹H integrado, obtém-se a medida direta do grau de insaturação de modo preciso.

Os principais sinais que pode-se observar no espectro, encontram-se na Figura 22 e os respectivos deslocamentos químicos, com suas respectivas integrais, aparecem na Tabela 9.

Figura 22 - Espectro de RMN-¹H genérico de óleo vegetal



Fonte: Reda e Carneiro (2006).

Legenda: a = prótons metílicos; b = prótons metílicos do ácido linolênico; c = prótons metilênicos dos ácidos graxos do triacilglicerol; d = prótons β-carboxílicos; e = prótons alílicos externos; f = prótons α-carboxílicos; g = prótons alílicos internos; h + i = prótons metilênicos do glicerol; j = próton H-2 metilênico do glicerol; k = prótons olefinicos. A inserção mostra os sinais dos prótons H1 da metila do ácido linolênico em 0,98 ppm [sinal em b].

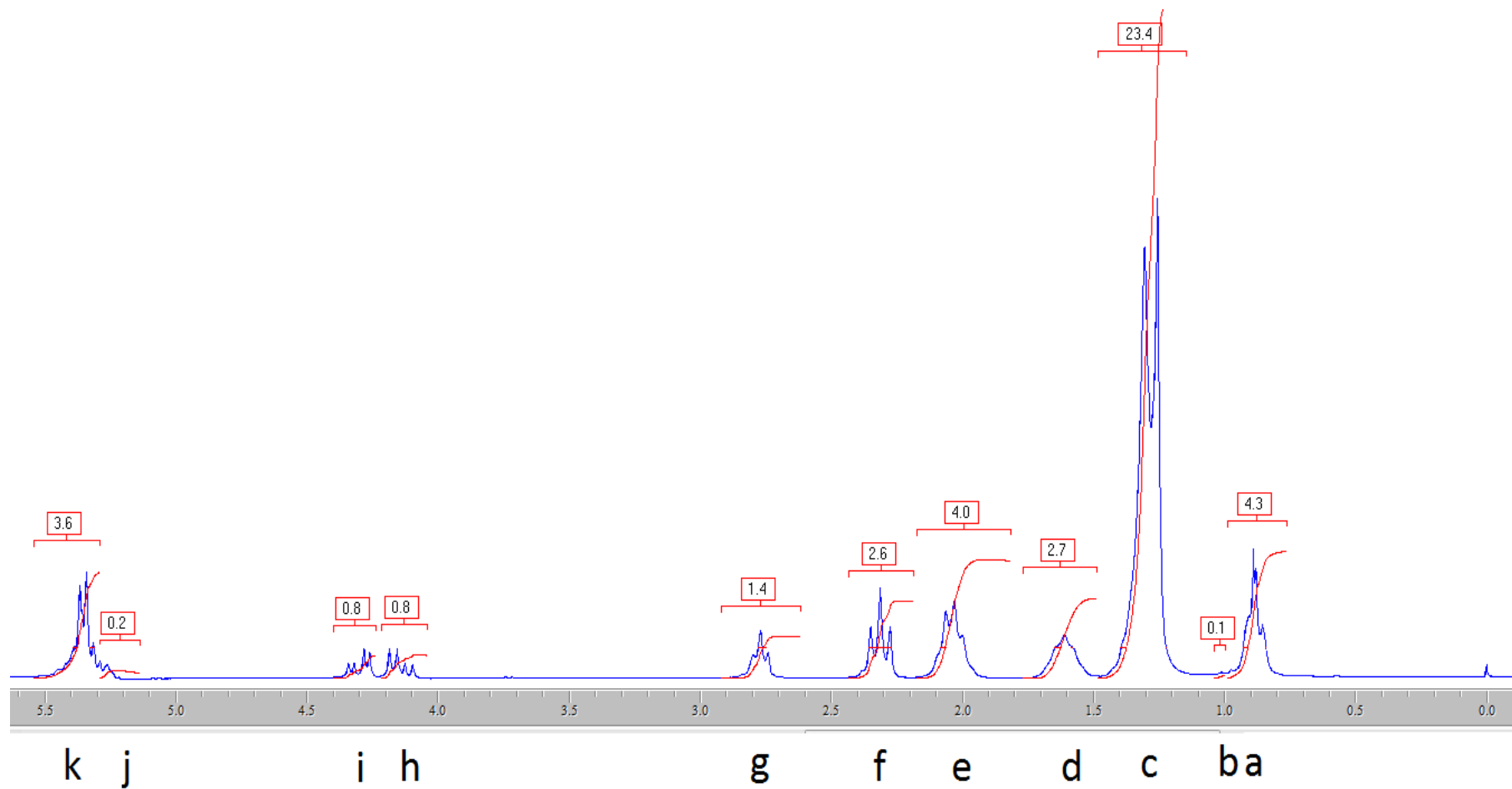
Tabela 9 - Atribuição dos sinais do espectro de RMN-¹H genérico de óleo vegetal conforme a Figura (18)

Picos	Deslocamentos (δ) ppm	Hidrogênio (H)	Grupo Funcional
a	0,83 - 0,93	-CH ₃	Hidrogênios metílicos
b	0,93 - 1,03	-CH ₃	Hidrogênios metílicos do ácido linolênico
c	1,22 - 1,42	-(CH ₂) _n -	Hidrogênios metilênicos dos ácidos graxos do triglicerídeo
d	1,52 - 1,70	-CH ₂ -CH ₂ -COOH	Hidrogênios β -carboxílicos
e	1,94 - 2,14	-CH ₂ -CH=CH-	Hidrogênios alílicos externos
f	2,23 - 2,36	-CH ₂ -COOH	Hidrogênios α -carboxílicos
g	2,70 - 2,84	-CH=CH-CH ₂ -CH=CH-	Hidrogênios alílicos internos
h + i	4,10 - 4,25	-CH ₂ -O-COR	Hidrogênios metilênicos do glicerol
i	4,25 - 4,32	-CH ₂ -O-COR	Hidrogênios metilênicos do glicerol
j	5,20 - 5,26	>CH ₂ OCOR	Hidrogênios H ₂ do glicerol
k	5,26 - 5,40	-CH=CH-	Hidrogênios oleofínicos

Fonte: Carneiro; Reda; Carneiro, 2005.

Os valores de área de um sinal de H¹ encontrados nas amostras de óleos da polpa de Inajá concordam com os valores de deslocamentos químicos descritos na Tabela 9.

Os principais sinais apresentados pelo óleo da polpa de *M. maripa*, foram determinados e registrados, utilizando um programa de integração chamado Mestre-C e podem ser observados na Figura 23.

Figura 23 - Espectro de RMN-¹H do óleo de *M. maripa* a 200 MHz, usando como padrão interno o TMS

Todos os hidrogênios metílicos (parte saturada da molécula) mostram deslocamento químico entre (δ) 0,80 e 1,00 ppm (a + b). Portanto, o número total de insaturação, em número de ligações duplas/mol, é a medida direta da área dos picos normalizados e integrados dos hidrogênios que geraram aqueles sinais, naquelas regiões do espectro de RMN- ^1H (MANNINA et al., 2003). Na Figura 23, os hidrogênios metílicos dos ácidos insaturados, oléico, linoléico e linolêico, aparecem registrados no sinal “a” entre 0.83 e 0.93 ppm.

Os óleos vegetais, apresentam diferentes proporções de ácidos graxos saturados (AGS), ácido oléico (GD-9), ácido linoléico (GD-6) e linolênico (GD-3), sendo os sinais resultantes, a consequência da sobreposição de prótons metílicos de tripletos, formando diferentes deslocamentos químicos e apresentam tamanhos distintos, dependendo da proporção de ácidos graxos.

Pode-se observar deslocamento químico (δ) entre 5,40-5,26 ppm (k), correspondente aos hidrogênios olefínicos. Como o espectro de RMN- ^1H dos triacilgliceróis é bem resolvido, observando-se sinais distintos e característicos para os prótons olefínicos, do glicerol e alquílicos, que mostram absorção em regiões diferentes do espectro. Os prótons metilênicos do glicerol em (δ) 4,10 – 4,32 ppm (i + h) [H-1 e H-3]; H-2 o próton metilênico em (δ) 5,25 ppm (j). Prótons alílicos internos são observados em (δ) 2,80 – 2,70 ppm (g). Os prótons alílicos externos são observados em (δ) 2,10 – 1,90 ppm (e). Prótons α -carboxílicos são observados em (δ) 2,34 – 2,22 ppm (f). Os prótons β -carboxílicos são observados em (δ) 1,70 – 1,50 ppm (d). Um cluster de picos sobrepostos em (δ) 1,40 – 1,15 e centrado em 1,2 ppm (c) corresponde aos demais prótons metilênicos dos ácidos graxos presentes no triacilglicerol (VIGLI et al., 2003).

4.5 ANÁLISE DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS POR RMN- ^1H

Utilizando os valores das integrais do espectro de RMN- ^1H , obtemos a medida direta índice de iodo, índice de acidez, índice de saponificação, peso molecular médio, relação de hidrogênios oleofínicos/alifáticos, número médio de instauração por triglicerídeo, estimativa percentual de derivados dos ácidos graxos insaturados totais e grau de insaturação de qualquer óleo vegetal. Na Tabela 10 pode-se apreciar os resultados obtidos para as propriedades físico-químicas do óleo de *M. maripa*, comparados com os dados obtidos da literatura.

Tabela 10 – Caracterização físico-química do óleo de *M. maripa* comparado com dados da literatura

Características	Características físico-químicas dos óleos da polpa de <i>M. maripa</i>			
	Autor (Mucajáí)	Mota e França 2007 (Belém)	Duarte, 2008 (Iracema)	Cardoso et al., 2007 (Manaus)
IA (mg KOH/g)	2,54	5,56	4,93	8,35
IS (mg KOH /g)	176,12	215,14	210	173,4
II (mg I ₂ / 100 g)	114,42	69,37	74,86	81,37
PMM (g/Mol)	942,76	-	951,05	-
Ro,a	1,93	-	1,05	-
INS	4,25	-	4,06	-
GI	0,15	-	-	-

(-) Sem dados. Legenda: II = índice de iodo; A = índice de acidez; IS = índice de saponificação; PMM = peso molecular média, g/mol; Ro,a = relação de hidrogênios oleofínicos/alinfáticos; INS = número médio de ligações duplas por triglicerídeo; GI = estimativa do grau de instauração.

Os dois primeiros parâmetros analisados são importantes (índice de acidez e índice de saponificação), principalmente o índice de acidez que informa a quantidade de ácidos graxos livres presentes na matriz vegetal, influenciando em seu provável uso potencial com valor econômico (CORRÊA et al., 2006; MOTA e FRANÇA, 2007; PEREIRA et al., 2012).

4.5.1 Índice de Iodo

Na Tabela 10, podemos observar que o óleo da polpa de Inajá, apresentou índice de iodo 114,42 mg I₂/g valor superior aos encontrados pelos autores citados. Ao comparar, observa-se que o valor encontrado para o óleo extraído estudado por Duarte (2008), o valor da amostra em estudo foi superior, sendo quase o dobro. Um alto valor de índice de iodo indica que o óleo possui um alto valor de insaturação, portanto maior será sua capacidade de absorver Iodo. De acordo com Angenoli (2011) os índices de iodo de óleos vegetais podem ser classificados como: secos >130, semi-seco entre 130-90 e não-seco < 90. O óleo da polpa de Inajá é classificado como semi-seco, sendo um óleo resistente à oxidações.

4.5.2 Índice de Acidez

O valor encontrado para o óleo da polpa de Inajá foi de 2,54 (mg KOH/g), conforme observado na Tabela 10, sendo este valor, inferior aos valores encontrados pelos autores citados. Segunda a resolução RDC nº 270 da ANVISA (2006) óleos e gorduras refinados devem no máximo absorver 0,6 mg KOH/g. Este valor apresentado no óleo da polpa de Inajá é um valor de acidez superior ao estipulado para óleos e gorduras refinados segundo a ANVISA.

4.5.3 Relação de Hidrogênios Oleofínicos/Alifático

A $R_{o,a}$ é um parâmetro que indica o grau de insaturação e o estado de oxidação de óleos, sendo mais preciso que o índice de peróxido. Um valor de $R_{o,a} \geq 0,66$ indica que o óleo pode ser considerado apropriado para consumo humano (CARNEIRO; REDA; CARNEIRO, 2005). O valor encontrado para o óleo da polpa de Inajá foi de 1,93, indicando que é apropriado para o consumo humano.

4.5.4 Índice de Saponificação e Massa Molecular Média

Podemos observar na Tabela 10 que o óleo da polpa de Inajá apresentou índice de saponificação de 176,12 mgKOH/g. O valor encontrado é inferior ao encontrado por Mota e França (2007) e Duarte (2008), e superior ao valor encontrado por Cardoso et al., (2007). O índice de Saponificação está intimamente ligado à massa molecular média de triglicerídeos, quanto menor for o índice de saponificação maior será sua massa molecular.

O valor encontrado para a massa molecular média do óleo da polpa de Inajá foi de 942,76 g.mol. Quando comparado ao peso molecular médio estudado por Duarte (2008), encontra-se no mesmo intervalo, corroborando o valor encontrado para o índice de saponificação.

4.5.5 Estimativa do teor de derivados de ácidos graxos insaturados totais

O grau de insaturação está diretamente ligada ao índice de iodo, sendo que quanto maior for o valor de GI maior será seu índice de iodo (ANDRADE, 2011). O óleo da polpa de Inajá apresentou GI (0,15) e I.I (114,42). Não houve comparação com os autores, porque não terem calculado esse parâmetro.

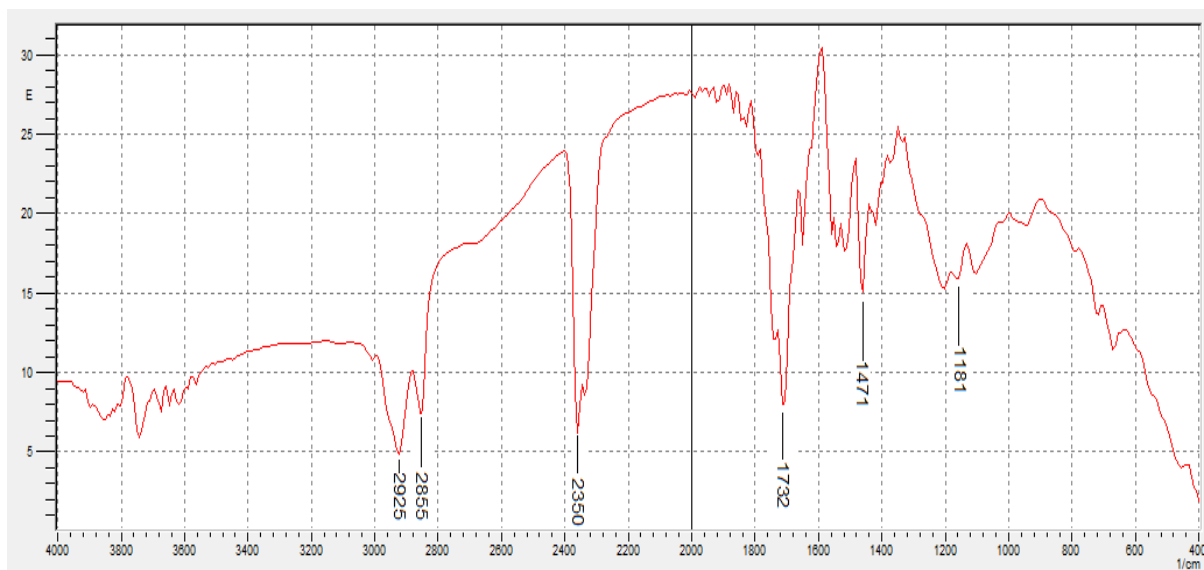
4.5.6 Número médio de ligações duplas por triglicerídeo

O INS é a avaliação da insaturação de um óleo vegetal de acordo com a presença de ácidos graxos insaturados, onde a cada dois hidrogênios oleofínicos terá uma ligação dupla por triglicerídeo (LIMA, 2011). O óleo da polpa de Inajá apresentou INS de 4,25. Comparado com o valor encontrado por Duarte (2008) que apresenta de INS de 4,06.

4.6 GRUPOS FUNCIONAIS PRESENTES NO ÓLEO DE *M. MARIPA*

A Figura 24 apresenta o espectro de absorção na região do infravermelho para a amostra de óleo Inajá hexano.

Figura 24 - Espectro de absorção na região do infravermelho do óleo de *M. maripa*



Analisando o espectro da Figura anterior, é possível atribuir absorções de bandas características dos triacilglicerídios, como uma banda forte e intensa, aproximadamente em 1732 cm^{-1} , referente ao grupo carbonila (C=O) de ácidos carboxílicos. As absorções entre 2925 a 2855 cm^{-1} referem-se à deformação axial da ligação C–H (sp^3 -s), na qual a absorção forte em 2925 cm^{-1} refere-se ao grupo metila (CH_3), seguida de uma absorção de intensidade média em 2855 cm^{-1} , atribuída aos grupos metilênicos CH_2 . Observa-se também uma banda em 1471 cm^{-1} atribuída a uma deformação axial do grupo metileno e, por fim, em 1181 cm^{-1} observa-se uma banda de intensidade média característica de deformação axial do grupo funcional (C–O). É possível atribuir absorções de bandas de 2350 cm^{-1} , referente ao CO_2 do ar.

Na Tabela 11, pode-se observar as principais atribuições de absorção de bandas na região do infravermelho para o óleo estudado neste trabalho comparados com a literatura.

Tabela 11 – Atribuição das principais bandas de absorção na região do infravermelho para amostras de óleos

Inajá (Autor, Mucajai) cm ⁻¹	Melancia Ávila, 2012 cm ⁻¹	Maracujá Silva, 2011 cm ⁻¹	Soja Vasconcelos, 2009 cm ⁻¹	Possíveis Atribuições
2925	3008	3008	3005	v = C-H ₃
2855	2925	2924	2930	v = C-H ₃
1732	1744	1745	1745	v = C=O
1471	1465	1465	1465	v = C-H ₂
1181	1165	1163	1150	v = -O-H

Bandas em cm⁻¹; v - Deformação Axial.

As bandas de absorção encontradas para o óleo de Inajá hexano nesta pesquisa foram muito semelhantes aos obtidos por Ávila (2012), Silva (2011) e Vasconcelos (2009) por serem óleos de origem vegetal.

4.7 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Ensaio biológico segundo a ANVISA (1988), “são procedimentos destinados a avaliar o potencial de princípios ativos contidos nas matérias-primas e preparações farmacopéias, através do uso de reagentes biológicos tais como: Micro-organismos, Animais, Fluidos e órgãos isolados de animais”.

4.7.1 Teste de sensibilidade antibacteriana

Os extratos do óleo da polpa de *M. maripa*, foram avaliados quanto a sua capacidade em inibir o desenvolvimento bacteriano “*in vitro*”. Foi utilizada o teste de sensibilidade antibacteriana. Os valores obtidos encontram-se na Tabela 12.

Tabela 12 – Resultados de sensibilidade antibacteriana para *P. aeruginosa*, *C. freundii*, *B. cereus* e *L. monocytogenes*

Inibição da Concentração de 250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	
Micoorganismos	Óleo da polpa de <i>M. maripa</i> (%)
<i>P. aeruginosa</i> (-)	23,87 \pm 2,83
<i>C. freundii</i> (-)	25,87 \pm 3,02
<i>B. cereus</i> (+)	35,90 \pm 3,72
<i>L. monocytogenes</i> (+)	39,02 \pm 4,80

Para classificar a atividade antibacteriana dos óleos, utilizou-se os seguintes parâmetros: os óleos que apresentam MIC até 0,5 mg.mL^{-1} foram considerados de forte inibição, os que apresentam MIC entre 0,6 a 1,5 mg.mL^{-1} , moderadamente ativos, quando apresentaram atividade acima de 1,6 mg.mL^{-1} inibidores fracos (HOUGHTON et al., 2007; DUARTE et al., 2005 e ALIGIANIS et al., 2001).

O emprego do critério anteriormente descrito não é consenso entre os pesquisadores, pois não existe um nível de inibição aceitável definido para produtos naturais quando comparados com antibióticos padrões, alguns consideram somente resultados similares aos antibióticos padrões, enquanto outros consideram como bom potencial, mesmo aquele com níveis de inibição superiores.

Comparando os dados obtidos no teste com a classificação de Houghton et al., 2007, Duarte et al. (2005) e Aligianis et al. (2001) o óleo de *M. maripa*, apresentou-se uma inibição moderada para as bactérias testadas com valores entre 0,02 a 0,25 mg.mL^{-1} .

Os óleos de *M. maripa* foram mais ativos contra as bactérias *B. cereus* (35,90% de inibição) e *L. monocytogenes* (39,02% de inibição) ambas Gram (+), quando comparados com as bactérias Gram (-) respectivamente. Quando comparados com o padrão apresentaram uma inibição menor.

4.7.2 Teste de atividade anticolinesterásica

O óleo da polpa de Inajá apresentou um 63,76 \pm 4,67 % de inibição frente à enzima acetilcolinesterase. Quanto à droga padrão utilizada, a Eserina apresentou um 91,77 \pm 2,7 % de inibição. Os extratos superiores ao 50% de inibição enzimática são indicados ao isolamento como substâncias potencialmente inibitórias da enzima, extratos que variam entre 30-50% são considerados inibidores moderados, por debaixo de 30% são inibidores fracos (TREVISAN,

2003; VINUTHA, 2007). A inibição da enzima de acetilcolinesterase, têm um papel importante nas pesquisas feitas até a presente data, pois demonstraram a maior eficiência no tratamento clínico na doença de Alzheimer, que está associada com “déficits” dos diversos neurotransmissores cerebrais, como a acetilcolina, a noradrenalina e a serotonina. O tratamento sintomático da doença, envolve primariamente a restauração da função colinérgica. Sugere-se, portanto, que uma elevação no nível da acetilcolina poderia ser útil para melhorar um os sinais da doença. (TREVISAN, 2003; VINUTHA, 2007).

O óleo de *M. maripa* apresentou uma inibição de 63,76%, sendo considerada potente, podendo ser feito em uma etapa posterior, estudos bioguiados para isolar e caracterizar princípios ativos anticolinesterásicos.

4.7.3 Teste de toxicidade geral frente à *Artemia salina*.

Por se tratar de um micro crustáceo de fácil manutenção em condições de laboratório e de ampla distribuição, *Artemia salina* tem sido largamente utilizada em testes de toxicidade (PIMENTEL, 2010). A amostra foi testada nas concentrações de 1000; 500; 250 e 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ em volume de 10 mL, e utilizou-se o branco chamado de controle. A contagem dos sobreviventes foi realizada após 24 horas com auxílio de uma lupa. Obtendo o seguinte resultado:

Tabela 13 - Número de nauplios mortos

Análises	1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$		500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$		250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$		125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$		Controle
	*V	*M	*V	*M	*V	*M	*V	*M	*V
A*	2	8	3	7	4	6	4	6	10
D*	2	8	4	6	4	6	5	5	10
T*	2	8	4	6	5	5	5	5	10
X*	2	8	3,67	6,33	4,33	5,67	4,67	5,33	10

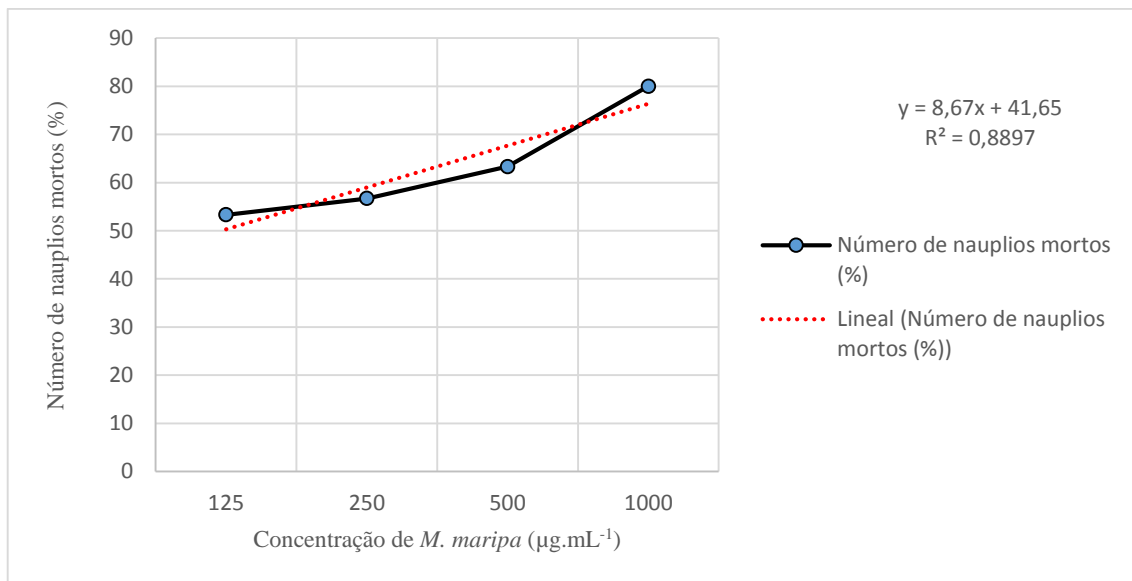
*A = amostra; *D = Duplicata; *T = triplicata; *X = media; *V = vivos; *M = mortos

Pode-se observar os valores das quatro concentrações diferentes, as quais são comparadas com o controle, e representados em porcentagem de mortalidade, Tabela 14:

Tabela 14 – Dados de atividade frente à *Artemia salina* para *M. maripa*

Concentração	Atividade para <i>A. salina</i> (% de Mortalidade)
1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	80,00%
500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	63,30%
250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	56,70%
125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	53,30%
Controle	0%

Como não houve mortalidade nos tubos controle não foi necessário aplicar a fórmula Abbott (fórmula 2), pois os resultados não são alterados. Calculando a média entre os valores obtidos do extrato, foram encontrados os resultados de 80% de mortalidade para a concentração de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 63,30% para a concentração de 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 56,70% para a concentração de 250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 53,30% e para a concentração de 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, Figura 25.

Figura 25 – Curva de atividade frente à *Artemia salina*

Utilizando a fórmula da regressão linear $Y = A + BX$ (Figura 25), podemos calcular a DL_{50} ($Y = 50$), onde 41,65 e 8,67 são os valores de A e B, respectivamente, encontrando X igual a 0,96 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Pela análise dos dados, pode-se verificar que o óleo de *M. maripa*, apresentou letalidade frente à *Artemia salina*, sendo considerado tóxico (DL_{50} inferior a 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) tendo sido encontrado o valor de DL_{50} de 0,96 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Os controles feitos com o solvente DMSO não apresentou influência sobre os resultados, pois nenhuma larva morreu na presença do mesmo, do mesmo modo que o controle realizado com água salgada.

5 CONCLUSÕES

A polpa de Inajá apresentou um rendimento de extração de óleo vegetal de 44,20%.

Quanto à avaliação do DPPH, o óleo da polpa de Inajá não apresentou percentagem de inibição significativa que lhe confere atividade antioxidante.

As análises cromatográficas da composição em ácidos graxos do óleo de *M. maripa*, apresentaram em sua composição um total de 10 ácidos graxos diferentes. Os ácidos graxos insaturados predominantes nas amostras estudadas são os ácidos oleico, linolêico e linolênico.

A utilização da técnica de RMN-¹H é importante e considerada uma ferramenta precisa e rápida usada na determinação de ácidos graxos insaturados e propriedades físico-químicas de óleos vegetais.

O óleo da polpa de inajá apresentou características físico-químicas que possibilitam o seu aproveitamento na alimentação tanto humana quanto animal, representando um alimento energético, assim como matéria-prima de caráter oleífero.

A espectroscopia de infravermelho mostrou absorções de bandas características dos triglicerídeos, como uma banda forte e intensa, referente ao grupo C=O dos ácidos carboxílicos.

A determinação do Teste de sensibilidade antibacteriana, revelou que o óleo apresentou um moderado espectro de ação, uma vez que foram capazes de inibir o crescimento antibacteriano, apresentando inibição abaixo de 0,5 mg.mL⁻¹.

O óleo de Inajá apresenta uma inibição potente da enzima acetilcolinesterase, considerando-se como um resultado promissório na busca de novos compostos.

No teste de toxicidade de *M. maripa*, foi verificado uma grande quantidade de óbitos de *Artemia salina*, sendo considerado de alta toxicidade (DL 50% inferior a 100 µg.mL⁻¹), tendo sido encontrado o valor de DL₅₀ de 0,96 µg.mL⁻¹.

Os resultados obtidos do perfil de ácidos graxos e dos bioensaios, sugerem estudos futuros de prospecção química e biológica de esta espécie vegetal com a finalidade de desenvolver bioproductos para a saúde humana.

REFERÊNCIAS

ABDULLAH, A.R. et al. Ecotoxicology of pesticides in the tropical paddy field ecosystem. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 16, n. 1, p. 59-70, 1997.

AMARANTE, C. B. et al. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **Acta Amazonica**, v. 41, n. 3, p. 431 – 434, may./set. 2010.

ANDRADE, C. A., et al. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae e mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.2, p.231-235, 2007.

ANDRADE, D. F. **Caracterização de Biodiesel através da Separação dos Constituintes por Cromatografia Líquida**. 2011. 144 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

ANGENOLI, L. M. **Polímeros obtidos a partir do biodiesel epoxidado dos óleos de oliva e soja: preparação e caracterização química e físico-química**. 2011. 65 p. Dissertação (Mestrado em Ciências de Materiais) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

ALIGIANNIS, N. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *origanum* species, **J. Agric. Food Chem.** Athens, v. 49, n. 9, p.4168-4170, ago. 2001.

ALVES, C. Q. et al. Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. **Dialogos & Ciencia**, v. 5, n. 12, p. 1-8, 2007.

_____. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**. v.33, n.10, p. 2202-2210. ISSN 0100-4042, 2010.

ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radical: a practical case. **Trends in Food Science & Technology**, v.11, p. 419-421, 2000.

ARENCEBIA, G.; TIZOL R. Determinación de metales pesados en quistes de Artemia”, **Rev. Cub. Invest. Pesq**, La Habana, p. 69-72, 1996.

BAPTISTA, M. G. F. M. Mecanismos de Resistência aos Antibióticos. 2013. 51p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa, 2013.

BARISON, A.; SILVA, C. W. P.; CAMPOS, F. R. **A simple methodology for the determination of fatty acid composition in edible oils through ¹H-NMR spectroscopy.** **Magn. Reson. Chem.**, n.48, p. 642–650, 2010.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BERG, J. M. T. E LUBERT, J. **Bioquímica**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 545 p.

BEZERRA, Saldanha. **O Inajá (*Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude) como fonte alimentar e oleaginosa**. [S. 1.]: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), 2011. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 09 abr. 2015.

BEZERRA, V. S. et al. **O Inajá (*Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude) como potencial alimentar e oleaginoso**. 3º Congresso brasileiro de plantas oleaginosas, óleos, gorduras e biodiesel, 2006. [S. 1.] Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/70777/1/AP-2006-inaja.pdf>>. Acesso em: 02 mar. 2015.

BINKOSKI, A. E. et al. Balance of unsaturated fatty acids is important to a cholesterol-lowering diet: comparison of mild-oleic sunflower oil and olive oil on cardiovascular disease risk factors. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 105, n. 7, p. 1080-1086, 2005.

BONAMONE A.; GRUNDY S. Effects of Dietary Stearic acid on Plasma Cholesterol and lipoprotein levels. **The New England Journal of Medicine**, v. 318, p. 1244-1248, may. 1988.

BRAGA A. A. D.; BARLETA V. C. N. Alimento funcional: uma nova abordagem terapêutica

das dislipidemias como prevenção da doença aterosclerótica. **UniFOA**, v.3, p. 100-120, 2007. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Textos básicos de saúde: Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Série B. Brasília – DF, 2006. 147 p.**

CALIXTO, J. B. Fitofármacos no Brasil: agora ou nunca!. **Ciência hoje**. v. 21, n. 1.234, p. 26-30, 1997.

_____. Biological activity of plant extracts: novem analgesic drugs. **Expert Opinion Emerging Drugs**. v. 2, p. 261-279, 2001.

CARDOSO, C. E. J.; QUEIROZ R. D.; SILVA, C. J.; **Biodiesel de Inajá (*Maximiliana maripa* Drude) obtido pela via metanólica e etanólica**. 4º Congresso brasileiro de plantas oleaginosas, óleos, gorduras e biodiesel, 2007. [S. 1.] Disponível em: <http://oleo.ufla.br/anais_04/artigos/anais_completos.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2015.

CARNEIRO, P. I. B.; REDA, S. Y.; CARNEIRO, E. B. B. ¹H NMR Characterization of Seed Oils from Rangpuer Lime (*Citrus limonia*) and “Sicilian” Lemon (*Citrus limon*). **Ann. Magn. Reson**, v. 4, n. 3, p. 64-68, 2005.

CARNEIRO, P. I. B.; REDA, S. Y. **Óleos e Gorduras: Aplicações e implicações**. [S. 1.]: Ponta Grossa. Revista Analytica, 2007. Disponível em: <http://www.revistaanalytica.com.br/ed_antiores/27/art07.pdf>. Acessado em: 20 abr. 2015.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 533 p.

CHARLES, C.; CLAY, J.; SAMPAIO, P.; Biodiversidade Amazônica: exemplos e estratégias de utilização. SEBRAE: Manaus, 1999.

CHESTER, T. L.; PINKSTONE J. D.; Supercritical fluid and unified chromatography. **Anal Chem.**, v. 74, p. 2801-2812, 2002.

CHIA, L., RICKETTS, S., 1988. **Basic Techniques and Experiments in Infrared and FT-IR**

Spectroscopy. 2 ed. Perkin: Elmer Corp, Norwalk, 1988.

CHRISTIE, W.W. Gas Chromatography and Lipids: a Practical Guide. **Pergamon Press**. p. 307, 1989.

COLLINS, C.H; BRAGA, L. G; BONATO, S. P. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2006. 452 p.

CORDERO, J. et al. Características del fruto de la palma yagua (*Attalea burtyraceae*) y su potencial para producción de aceites. **Bioagro**, Barquisimeto, v. 21, n. 1, p. 49-55, abr. 2009.

CORRÊA A. B. et al. **Estudo do potencial oleaginoso de *Maximiliana maripa* (Correa) Drode como fonte de biodiesel**. 28 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química 2006. [S. 1.]: Disponível em: <<http://sec.sbq.org.br/cd29ra/-resumos/T1423-1.pdf>>. Acesso em: 03 abr. 2015.

CORREIA, I. M. S. **Extração e Pirólise do óleo de Girassol (*Helianthus annus L.*) Visando a Produção de Biocombustíveis**. 2009, 94p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

COSTA, N. P. R.; ROSSI, L.F.S. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. **Revista Química Nova**, Curitiba - PR, v. 23, n. 4, p.531- 537, 2000.

COSTA P. A. et al. Fatty acids profile of pulp and nuts of brazilian fruits. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 31, n. 4, p. 950-954, out. / dez. 2011.

DAMASCENO G. T. et al. **Análise do óleo da polpa do fruto do Inajá (*Maximiliana maripa*) investigando a presença de ácidos graxos essenciais**. 49º Congresso Brasileiro de Química, 2009. [S. 1.] Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2009/trabalhos/1/1-288-6413.htm>>. Acesso em: 15 abr. 2015.

DOUGLAS, C.D.; KRUKOFF, B.A.; SILVEIRA, M. Floristics and Economic Botany of Acre, Brazil. *Amazônia Botany: The New York Botanical Garden*. 2002.

DUARTE, M.; C. et al. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants, **Journal of Ethnopharmacology**, Campinas, v. 97, n. 2, p. 305–311, 2005.

DUARTE, O. R. **Avaliação quantitativa e análise dos parâmetros biológicos, químicos e físico-químicos de frutos de Maximiliana maripa (Aubl.) Drude (inajá) como subsídio ao estudo do potencial oleífero de populações promissoras para o estado de Roraima. 2008.** Tese de Doutorado (Doutorado em Agronomia) - Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia - Universidade federal do Amazonas, Manaus, 2008.

_____. Pesquisa avalia potencial oleaginoso da Palmeira Inajá. **Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)**. 2009. Disponível em: <http://www.inpa.gov.br/labpalm/arq_pdf/Pesquisa_avalua_potencial_oleagenoso_da_Palmeira_Inaja.pdf>. Acesso em: 3 abril 2015. Entrevista concedida a Janaina Karla.

_____. Pesquisa aposta no Inajá como fonte de biocombustível. **Embrapa**. 2012. Disponível em: <http://www.cpafr.embrapa.br/Embrapa>>. Acesso em: 26 julho 2015. Entrevista concedida a Clarice Monteiro.

DZIEZAK, J. Fats, oils, and fat substitutes. **Food Technology**, Chicago, v.43, n.7, p. 66 -74. 1989.

ELOY, L. Valorização da produção dos óleos fixos no Bailique, Mazagão e Maruanum. 1a. ed., Instituto Nacional de Agronomia de Paris-Grignon: Macapá-Amapá, 2001.

FAHY, E. et al. A comprehensive classification system for lipids. **Journal of Lipid Research**. v. 46, p. 839-861, fev. 2005.

FAIRCHILD, W. L. et al. Toxicidad aguda y crónica de dos formulaciones del plaguicida Piretroide Deltametrina ante anfípodos, camarones y larvas de langosta. Los océanos y Subdivisión de Ciencia Pesca y Océanos de Canadá. Informe Técnico Pesca y Ciencias Acuáticas 2876. 2010.

FERREIRA, L. Manual das Palmeiras do Acre, Brasil. [S. 1.]: Instituto Nacional de Pesquisas 2005. Disponível em: <http://www.nybg.org/bsci/acre/www1/manual_palmeiras.html>. Acesso em: 10 abr. 2015.

FERREIRA L. L. Alzheimer: tratamento, medicamentos e mecanismo de ação. 2013. Disponível em: <<http://www.alzheimer-unb.blogspot.com.br/>>. Acesso em: 05 nov. 2015.

FERREIRA, S. H. et al. **Medicamentos a partir de Plantas Medicinais no Brasil**. 1. ed. [S.l.]: Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1998. 131 p.

GARCIA, C. M. **Transesterificação de óleos vegetais**. 2006. 105p. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2006.

GARCÍA-OCÓN, B.; DÍAZ-TORRES R.; ESPINOZA J. A. M. Universidad Autónoma de la Ciudad de México, Plantel Casa Libertad México. 2015.

GENESTRA, M. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. **Celullar Signalling**, v. 19, n. 9, p. 1807-1819, 2007.

GILMAN, A. G.; As bases farmacológicas da Terapêutica. 10. ed. McGraw-Hill, 2005.

GOMES, J. C. et al. Efeito do dessecante paraquat na qualidade da fração lipídica da soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 1, p. 178-184. Jan-fev. 2003.

GÓMEZ, M. E. D. B. **Modulação da composição de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta. I. Estabilidade oxidativa**. 2003. 149 p. Dissertação (Doutorado em Ciência dos Alimentos/ Bromatologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. 2003.

GONZÁLEZ-LOZANO, M. C. et al. Evaluation of toxicity of polluted marine sediments from Bahía Salina Cruz, México. **Journal of Environmental Science and Health Part A**, n. 45, p. 121-127, 2010.

GOODMAN & GILMAN. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 9. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana editores, 2008. 1436 p.

GUILLÉN, M. D.; RUIZ, A. Rapid simultaneous determination by proton NMR of unsaturation and composition of acyl group in vegetable oils. **Eur. J. Lipid. Sci. Technol.** V. 105, p. 688-696, 2003.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova, São Paulo**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

GUNSTONE, F.D. An Introduction to the Chemistry and Biochemistry of Fatty Acids and their Glycerides. **Chapman & Hall**, v. 73, n. 12, p. 736, 1971.

HAMBURGER M.; HOSTETTMANN K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry**. v.30, n.2, p. 3864-3874, 1991.

HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. (ED.). **Goodman e Gilman as bases farmacológicas da terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana editores, 2003. 1647p.

HENDERSON, A., G. GALEANO & R. BERNAL. **Field Guide to the Palms of the Americas**. Princeton, New Jersey: Princeton University Press 1995.

HERRERA M. H. et al. Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: nutrición, bioquímica y salud. **Rev. Educ. Bioquím.**, v. 25, p. 72-79, 2006.

HEYWOOD V. H. et al., **Flowering Plant Families of the World**. New York: Kew Publishing, 2007, 424 p.

HOUGHTON, P. J. et al. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: Visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 3, p. 391-400, abr. 2007.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4ª edição, São Paulo. Instituto Adolfo Lutz, versão eletrônica, p.595, 2008.

KAAL E.; JASSEN H. Extending the molecular application range of gas chromatography. **J. Chromatogr. A**. v. 14, n. 1184, p. 43-60, 2008.

KATZUNG, B. **Farmacologia Básica e Clínica**. 10. ed. Brasil: McGraw Hill. 2007.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de Bioquímica. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 1995, 839 p.

LEITE, J. P. V. Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2008, 344 p.

LEITMAN, P. et al. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro 2015**. [S. 1.] Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15675>>. Acesso em: 15 mai. 2015.

LIMA, P. S. **METÁTASE DE OLEOFÍNICAS COM ÓLEOS VEGETAIS: UMA ESTRATÉGIA PARA O DESENVOLVIMENTO DE BIOREFINARIAS**. 2011. 63 p. Dissertação (Mestrado em Química)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 670-673, jul/agos. 2004.

LOPEZ, A. L. et al. Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades. **Anacem**, v. 6, n. 1, p. 48-53, 2012.

LOPES C. et al. Action of *Davilla elliptica* St. Hill. (Malpighiaceae) methanolic and ethanolic extracts in the immune response. **Brazilian J Pharmacognosy**. v. 1, n. 15, p. 44-50, 2005.

LUCENA, H. F. S. **Uma nova lignana e outros constituintes químicos de *Hypenia salzmanni* (Benth.) Harley (Lamiaceae)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba/UFPB – João Pessoa, 2012.

LUZANIN K.; ABRANTES M. Ressonância Magnética Nuclear – Ferramenta versátil em Química Farmacêutica e Imagiologia Médica. **Sociedade Portuguesa de Química**, Lisboa, p. 25-30, abr. / jun. 2010.

MAMBRIN, M. C. T. y BARRERA-ARELLANO. Caracterización de aceites de frutos de palmeras de la región amazónica del Brasil. **Grasas y Aceites**, v.48, n.3: 154-158, 1997.

MEYER, B. N. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta médica**, New York, v. 45, p. 31 – 34, 1982.

MING, L. C.; Plantas medicinais na reserva extrativista Chico Mendes – uma visão etnobotânica; Editora UNESP: São Paulo, 2006.

MINISTERIO DA SAÚDE. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília, 2006. 61 p.

MIRANDA, I. P. de A. et al. **Frutos de palmeiras da Amazônia**. Manaus: INPA, 2001. p. 118

MOORE CB & DENNING DW. In vitro activity of HMR3270 against *Candida* spp. In: Abstracts of the 41st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC). Chicago, IL. Washington, DC: ASM Press. dec. 2001, n. F-2147. 2001.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** v. 2, n. 26, p. 211 – 219, jun./dez. 2004.

MORA-URPÍ J., WEBER J.C., CLEMENT C.R. **Peach Palm (*Bactris gasipaes* Kunth): Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops**. 1 ed. Rome, IT: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, 1997. 83p.

MORETTO E., et al., **Introdução à ciência de alimentos**. 2 ed, ampliada e revisada. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2008. 255p.

MORGAN, R. **Enciclopédia das ervas e plantas medicinais**. 1 ed. São Paulo: Hemus, 1994. 555 p.

MOTA, R. V.; DE FRANÇA, L. F. **Estudo das características da Ucuuba (*Virola surinamensis*) e do Inajá (*Maximiliana regia*) com vistas à produção de biodiesel**. Revista

Científica da UFPA 2007. [S. 1.] Disponível em: <<http://www.cultura.ufpa.br/rcientifica>>. Acesso em: 16 abr. 2015.

MOTTA, V. T. Lipídeos e Membranas [S. 1.]: Bioquímica Básica. Disponível em: <http://www.gilvan.pro.br/lipidios.pdf>. Acesso em: 01 jul. 2015.

MSAADA K. et al. Changes in fatty acid composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruit during maturation. **Industrial Crops and Products**, v. 29, p. 269-274, 2009.

OXILIA, R. M. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. **Instituto de Medicina Tropical**, v. 5, n. 2, p. 23-29, 2010.

PHAM-HUY, L. A. et al. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. **International journal of Biomedical science**, v. 4, n. 2, p. 89-96, 2008.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, nov. 2012.

PEREIRA, S. A. et al. **Prospecção sobre o conhecimento de espécies Amazônicas – Inajá (*Maximiliana maripa* Aublt.) e Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.)**, São Cristóvão, v. 3, n. 2, p. 110 – 122, 2013.

PINTAUD, J-C. An overview of the taxonomy of *Attalea* (Arecaceae). **Rev. Peru biol.** v. 15, n. 1, p. 55 – 63, nov. 2008.

RAMALHO H. F.; SUAREZ P. A. Z. A Química dos Óleos e Gorduras e seus Processos de Extração e Refino. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 1, p. 2 – 15, nov. 2012.

RAMAWAT, K. G. The Chemical Diversity of Bioactive Molecules and Therapeutic Potential of Medicinal Plants. In: RAMAWAT, K. G. **Herbal Drugs: Ethnomedicine to Modern Medicine**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009. Cap. 2, p. 402.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. Drogas que Inibem a Cholinesterase. 4 ed. Guanabara Koogan, 2001, 115 p.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon**. v. 39, n. 5, p. 603-613, 2001.

REDA, S. Y. **Estudo comparativo de óleos vegetais submetidos a estresse térmico**. Dissertação (Mestrado em Tecnológica de Matérias-Primas). Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2004.

REDA S. Y.; CARNEIRO P. I. B. Parâmetros físico-químicos do óleo de milho *in natura* e sob aquecimento calculado pelo programa proteus RMN H1. **UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.**, Ponta Grossa, v. **12**, n. 2, p. 31-36, ago 2006.

RENGIFO, E. S. Ramas Floridas del Bosque: Experiencias en el manejo de plantas Medicinales Amazónicas. 1 ed. Iquitos: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, 2007. 191 p.

RIBEIRO, E. P., SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, Instituto Mauá de Tecnologia, 2004. 184 p.

RIBEIRO, C. M. R.; SOUZA, N. A. Esquema geral para elucidação de substâncias orgânicas usando métodos espectroscópicos e espectrométricos. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v.30, n.4, p. 1026-1031, jul./ago. 2007.

RODRIGUES A. M.; DARNET S.; SILVA L. H. Fatty Acid Profiles and Tocopherol Contents of Buriti (*Mauritia flexuosa*), Patawa (*Oenocarpus bataua*), Tucuma (*Astrocaryum vulgare*), Mari (*Poraqueiba paraensis*) and Inaja (*Maximiliana maripa*) Fruits. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, n. 10, p. 2000-2004, 2010.

RODRÍGUEZ, R. El uso de nauplios de *Artemia franciscana* en pruebas de toxicidad. Universidad de La Habana, Facultad de Biología, 37 p, 1998.

SÁNCHEZ DE RIVAS C. Bacteriófagos: su importancia en los inicios de la biología molecular. Buenos Aires. Disponível em: <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v14n3/sanchez-rivas.html>. Acesso em: 11 nov. 2015.

SANTOS J. E. P.; GRECO L. F. Recentes avanços em suplementação de ácidos graxos de cadeia longa para vacas leiteiras. In: IV CONGRESSO LATINO AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL. **Resumo**, São Pedro, Brasil, 26 de novembro de 2010, p. 375-386.

SANTOS M. F. G. et al., Major components in oils obtained from Amazonian palm fruits. **Grasas y Aceites**, v. 64, n. 3, p. 328-334, 2013.

SANTOS, M. Qualidade e potencial funcional da porção comestível e do óleo de frutos de palmeiras nativas oriundas do Amapá. 2012. 170p. Dissertação (Doutorado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Paraíba, Areia, 2012.

SANTOS M. F. G. et al. Amazonian Native Palm Fruits as Sources of Antioxidant Bioactive Compounds. **Antioxidants**, v. 4, p. 591 – 602, ago./set. 2015.

SANTOS R. D. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arq Bras Cardiol.**, v. 100, n. 3, p. 1 – 40, 2013.

SATYAJIT D. e SARKER, L. N. **Chemistry for Pharmacy Students: general, organic, and natural product chemistry**. 1. ed. New York: John Wiley & Sons Ltd, 2007. 540p.

SHANLEY, P.; SERRA M.; MEDINA, G. (Ed.) **Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica**. Belém, PA: CIFOR: Embrapa Amazônia Oriental: IMAZON, 2010. 304 p.

SHARMA, O. P.; BHAT, T. K. DPPH antioxidant assay revisited. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 1202-1205, 2009.

SILVEIRA, A. J. A. et al. **Investigação da presença de ômega 3, 6 e 9 do óleo da polpa do fruto do Inajá (*Maximiliana maripa*) e de Patauá (*Oenocarpus batauá*)**. Disponível em: <<http://www.annq.org/congresso2009/trabalhos/pdf/T65.pdf>>. Acesso em: 11 abr. 2015.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRILL, T.C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 5. ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A., 1994. 387 p.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; Petrovick, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Florianópolis: Editora da UFSC, 1102 p. 2007.

SIMOPOULOS, A. P. Essential fatty acids in health and chronic disease. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 70, n. 3, p. 560-569, sep. 1999.

SORGELOOS, P.; C. R. DER WIELEN Y G. PERSOONE. El uso de nauplios de Artemia para pruebas de toxicidad, un análisis crítico. **Ecotoxicología y Seguridad Ambiental**, v. 2, n. 4, p. 249-255, 1978.

SORGELOOS, P. et al. Manual para el cultivo y uso de Artemia en acuicultura, Documento de campo No. 10, Univ Gent, Bélgica, p. 301. 1986.

SOUZA F. E.; LUCIEN V.G.; SILVEIRA K. S. **Caracterização física do fruto, análise físico-química do óleo extraído do mesocarpo do tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.) e inajá (*Maximiliana regia* Aubl.).** 2º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel, 2005. [S. 1.] Disponível em: <<http://www.uepa.br/paginas/.../simposio/-anaisartigosvol2simposio2013.pdf>>. Acesso em: 18 abr. 2015.

STEIN, G.; WEISS, J. Chemical effects of ionizing radiations. **NATURE**, v. 161, p. 650-650, 1948.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 4 ed. Artmed, Porto Alegre. 2009.

TENOVER, F. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. **The American Journal of medicine.** v. 119, n. 6, p. 3-9. 2006.

TREVISAN, M. T. S.; MACEDO, F. V. V. Seleção de Plantas com Atividade Antiacetilcolinesterase para Tratamento da Doença de Alzheimer. **Química Nova**, Fortaleza, v. 26, n. 3, p. 301-304, dez./nov. 2003.

VÁSQUEZ-OCMÍN, P. G. et al. Chemical characterization and oxidative stability of the oils from three morphotypes of *Mauritia flexuosa* L. f, from the Peruvian Amazon. **Grasas y Aceites**, v. 61, n. 4, p. 390-397, oct. /dez. 2010.

VIGLI, G. et al. Classification of Edible Oils by Employing ^{31}P and ^1H NMR Spectroscopy in Combination with Multivariate Statistical Analysis. A proposal for the Detection of Seed Oil Adulteration in Virginian Olive Oils. **J. Agric. Food. Chem.**, v. 51, p. 5715-5722, 2003.

VINUTHA, B. et al. Screening of Selected Indian Medicinal Plants for Acetylcholinesterase Inhibitory Activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, n. 2, p. 359-363, jan. 2007.

VISENTAINER, J.V.; FRANCO, M.R.B. **Ácidos graxos em óleos e gorduras: identificação e quantificação**. Editora Varela. São Paulo. 2006.

WADE L.G. **Química Orgánica**. 7. ed. México: Pearson Educación, 2011. 744 p.

YÚFERA E. P. **Química Agrícola III Alimentos**, 1th ed. Granada: Editorial Alhambra, 1979.

YUYAMA, L. K. O. et al. Chemical composition of the fruit mesocarp of three peach palm (*Bactris gasipaes*) populations grown in central amazonia, Brasil. **International Journal of food Sciences and Nutrition**, v. 54, n.1, p. 49 - 56, jul. 2009.

ZAMORA, D. J. Antioxidants: micronutrients fighting for health. **Revista Chilena de Nutricion**, v. 34, p. 1-11, 2007.