

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Área: Bromatologia

Efeito do óleo da amêndoa de pequi (*Caryocar brasiliense*  
Camb.) sobre o perfil lipídico tecidual, enzimas antioxidantes e  
parâmetros bioquímicos e metabólicos de ratos

Projeto de doutorado

Lucillia Rabelo de Oliveira

Orientador: Prof. Tit. Jorge Mancini Filho

São Paulo  
2010

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

## RESUMO

O pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), que na linguagem indígena significa “coco com espinhos”, é um fruto oleaginoso nativo do Cerrado brasileiro, do qual pode ser obtido o óleo extraído de suas diversas partes (polpa, mesocarpo e amêndoa). O óleo, apesar de ser pouco explorado industrialmente, possui inúmeras aplicações nos setores alimentício, farmacêutico e cosmético. A principal parte utilizada da fruta, inclusive para a obtenção do óleo, é a sua polpa. A amêndoa geralmente é considerada como um rejeito, embora a sua composição em ácidos graxos seja semelhante a da polpa, onde há predominância dos ácidos graxos oléico e palmítico, além de elevados teores de substâncias com atividade antioxidante como os carotenóides, compostos fenólicos e as vitaminas A e E. As pesquisas com pequi costumam focar a polpa e seus efeitos, mas pouco se conhece sobre a amêndoa que é um produto residual e também é uma fonte rica de lipídeos e antioxidantes. Dessa forma, o objetivo geral do presente trabalho é estudar o efeito do óleo da amêndoa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) sobre o perfil lipídico tecidual, enzimas antioxidantes, parâmetros bioquímicos e metabólicos de ratos. Com esse fim, o óleo da amêndoa de pequi será fornecido aos animais por meio de gavagem. Após o tempo de experimentação, os animais serão eutanasiados e serão analisados os seguintes parâmetros: participação do óleo no processo de inibição da oxidação tecidual através da medida de produção das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS); influência do óleo sobre as enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) e sobre os parâmetros bioquímicos, utilizando *kits* comerciais (Labtest<sup>®</sup>); índice de incorporação tecidual dos ácidos graxos do óleo, através de cromatografia gasosa. E, além disso, será feito um estudo para avaliação da lipogênese, oxidação e captação de glicose em adipócitos isolados.

**Palavras-chave:** Pequi. Óleo. Ácidos graxos. Antioxidantes.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Pequi

O pequizeiro é uma espécie típica da região do Cerrado, pertencente ao gênero *Caryocar* e à família *Caryocaraceae* (VERA et al., 2007). O fruto é chamado de pequi que se origina do tupi “pyqui”, onde “py” significa casca e “qui”, espinhos referindo-se aos espinhos do endocarpo do fruto (RIBEIRO, 2000). O pequi é um fruto drupáceo, globoso, áspero, verde acinzentado, de aspecto lobulado em função da presença de até quatro amêndoas volumosas, protegidas por endocarpo lenhoso, eriçado de espinhos delgados e agudos, com uma amêndoa grande e carnosa (LIMA et al., 2007b; RAMOS et al., 2001). A parte comestível do fruto é formada pela amêndoa de cor branca rica em óleo envolta por uma camada de polpa geralmente espessa (mesocarpo interno), de coloração variando de alaranjada intensa, amarela e até branca. Esta polpa é a preferida pelos consumidores (SOUZA; SALVIANO, 2002).

A produção de pequi no Brasil atingiu 5.363 toneladas no ano de 2007, gerando uma receita de R\$ 6.035.000,00. O crescimento de produção entre 2006 e 2007 foi de 0,2% (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2007). Além desta tendência de aumento na produção, o fruto demonstrou também tendências e taxas de crescimento positivas nos preços, 4,6%, evidenciando a maior valorização do produto. Em se tratando de amêndoas, embora elas sejam pouco exploradas, com as empresas processadoras utilizando a polpa e se desfazendo do restante (RABÊLO et al., 2008), elas se destacaram em razão do constante aumento na sua produção ao longo dos anos (AFONSO; ÂNGELO, 2009).

Embora o pequizeiro seja uma das árvores brasileiras com um alto grau de aproveitamento, não só pelos seus frutos, mas pela árvore como um todo (SILVA et al., 2001) e apesar das numerosas formas de uso, principalmente da polpa na culinária regional, em pequenas indústrias alimentícias e de cosméticos, além do seu uso como biodiesel, essa espécie ainda é explorada e o seu potencial econômico ainda é pouco conhecido (FERREIRA, 2007; LIMA, et al., 2007a). Tudo isso indica a necessidade de mais estudos em pesquisa, melhoramento genético, siveicultura e demais aspectos direcionados à ênfase de suas características nutricionais, bem como na melhoria de sua produtividade. Segundo Rufino et al. (2010), o Brasil possui um grande número de espécies frutíferas nativas e exóticas subexploradas de potencial interesse para a agroindústria. Esses frutos representam uma oportunidade para produtores locais de ganhar acesso a mercados especiais, onde os consumidores colocam a ênfase sobre o caráter exótico e presença de nutrientes, como os compostos fenólicos capazes de prevenir doenças crônicas não-transmissíveis (DCNT).

A polpa do fruto do pequizeiro constitui-se em fonte de energia, proteínas, fibras, vitaminas, sais minerais (RODRIGUES et al., 2007). Segundo Lima (2008), a amêndoa de pequi também é um alimento rico e altamente energético (598Kcal/100g) contendo 51,51% de lipídeos, 25,27% de proteínas, 8,33% de

carboidratos, 2,2% de fibras e um elevado teor de minerais representado pelas cinzas (4,01%). Tanto a polpa quanto a amêndoa são fontes de compostos antioxidantes, representados pelos compostos fenólicos e carotenóides (LIMA, 2008; MIRANDA-VILELA; RESCK; GRISOLIA, 2008)

A polpa e a amêndoa são ainda fontes consideráveis de Manganês, Zinco, Cobre, Magnésio e Fósforo; contendo também Sódio, Ferro e Cálcio (ALMEIDA; SILVA, 1994) e segundo Roesler et al. (2007), esses materiais fornecem junto com o óleo, riboflavinas, tiamina e carotenóides provitamínicos "A", tendo mérito terapêutico, uma vez que é excelente na prevenção e combate à hipovitaminose A.

### **1.1.1 Oxidação e compostos fenólicos do pequi**

Com a evolução da indústria alimentícia, o processamento e a conseqüente necessidade de preservação dos alimentos estão intimamente relacionados com o incremento da procura de compostos com propriedades antioxidantes, como os compostos fenólicos, que aumentem o tempo de estocagem dos alimentos, reduzam as perdas nutricionais e que permitam um melhor uso de alimentos, como óleos e gorduras, os quais são mais suscetíveis à oxidação. Uma vez que a utilização de antioxidantes sintéticos, como o butil hidroxitolueno (BHT), butil hidroxianisol (BHA) tem sido questionada (devido principalmente às suas propriedades carcinogênicas demonstrada em animais), a investigação da presença de compostos naturais com potencial antioxidante em alimentos desponta como uma alternativa contra os efeitos oxidativos dos radicais livres (RL) sobre os alimentos (GALVÃO et al., 2008).

Sabe-se que a oxidação lipídica é um termo geral utilizado para descrever uma complexa seqüência de alterações químicas que resulta de interações dos lipídeos com o oxigênio. A peça central destas reações é a espécie molecular conhecida como RL, que compreende moléculas ou átomos que têm elétrons não-pareados centrados no átomo de oxigênio (EROs) ou no átomo de nitrogênio (ERNs) e são produtos do metabolismo celular normal de organismos vivos. As etapas da oxidação dos ácidos graxos (AG) podem ser descritas em três passos gerais: Iniciação, onde ocorre o ataque do RL à molécula do AG; Propagação, uma reação em cadeia que tem início com o radical alquila reagindo com o oxigênio e dando origem ao radical peroxila (ROO<sup>•</sup>); e Terminação, caracterizada pelo rearranjo dos radicais formados entre si desenvolvendo produtos não reativos e polímeros (MCCLEMENTS; DECKER, 2008).

O fruto do pequi é encontrado em regiões que recebem alta exposição solar, o que favorece a geração de RL, além do que, tanto a polpa quanto a amêndoa do pequi são ricas em lipídeos, predominando em ambas os AG insaturados, que são susceptíveis à oxidação, portanto esse vegetal está exposto a condições adversas que podem levar à formação de EROs. Nestas condições, visando à proteção do vegetal, pode ocorrer à biossíntese de compostos secundários com propriedades antioxidantes como os fenólicos, que se depositariam no fruto e na amêndoa (ALMEIDA, 1998; RAMOS et al., 2001; LIMA, 2008).

Os compostos fenólicos (CF), em virtude de sua natureza química, atuam como agentes redutores, interrompendo a cadeia da reação de oxidação através da doação de elétrons ou de H<sup>•</sup> aos RL, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis, ou complexando com metais, componentes iniciadores da oxidação lipídica, agindo, portanto, tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (MELO et al., 2008). Os CF podem possuir, pelo menos, um anel aromático, onde um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (GEOCZE, 2007), o qual é o principal fator estrutural responsável pela atividade antioxidante e seqüestradora de RL dos derivados fenólicos (TORRES DE PINEDO; PEÑALVER; MORALES, 2007).

Segundo Oliveira (2009), praticamente inexistem trabalhos sobre a quantificação de CF na porção comestível (polpa e amêndoa) do pequi. No Laboratório de Lípidos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da Universidade de São Paulo (USP), Lima et al. (2007a) demonstraram que a polpa do pequi possui 209mg/100g de fenólicos totais, valores superiores aos encontrados na maioria das polpas de frutas consumidas no Brasil, como açai (136,8mg/100g), goiaba (83,1mg/100g), morango (132,1mg/100g), abacaxi (21,7mg/100g), graviola (84,3mg/100g) e maracujá (20,2mg/100g), sendo inferior apenas a acerola (580,1mg/100g) e a manga (544mg/100g).

Os mesmos autores avaliaram ainda, os CF presentes no extrato aquoso e nas frações ricas em ácidos fenólicos livres (AFL), ésteres solúveis (AFS) e frações de ésteres insolúveis (AFI) da polpa e da amêndoa de pequi encontrando uma similaridade na composição em ácidos fenólicos desses materiais, de onde foram identificados os ácidos elágico, gálico, 4-hidroxi benzóico e *p*-coumárico. Já o flavonóide procianidina B2 esteve presente somente na amêndoa. O ácido elágico foi encontrado em maior concentração em todos os extratos e frações analisadas. No extrato aquoso da amêndoa o ácido elágico esteve presente na concentração de 38,4µg/g de amostra fresca, seguido pelo ácido *p*-cumárico (34,71µg/g de amostra fresca), ácido gálico (13,81µg/g de amostra fresca) e pela procianidina B2 (1,51µg/g de amostra fresca). Além disso, o extrato aquoso e a fração AFL da polpa de pequi administrados aos animais foram capazes de reduzir a lipoperoxidação nos tecidos cerebral, hepático e no plasma dos animais, observando-se um efeito dose-resposta inversamente proporcional entre a concentração do extrato e/ou fração de ácidos fenólicos e a lipoperoxidação no cérebro dos animais. Estes resultados apontam a polpa do pequi como um alimento com elevada capacidade antioxidante (LIMA, 2008).

### **1.1.2 Óleo de pequi**

Os vegetais ricos em óleo encontrados no Cerrado brasileiro podem oferecer novas perspectivas para o desenvolvimento sustentável da região. Eles têm alto teor de ácido oléico o que os torna úteis para consumo humano (GARCIA et al., 2007). O óleo de pequi representa um dos componentes mais valiosos do fruto. Ele pode ser

extraído das suas diversas partes: polpa, mesocarpo e amêndoa (SEGALL et al., 2006).

O termo óleo refere-se às substâncias insolúveis em água (hidrofóbicas), formadas principalmente por triacilgliceróis. Os óleos são líquidos nas condições ambientes de temperatura e pressão ao nível do mar, e podem ser de origem vegetal, animal e mineral (MORETTO; FETT, 1998). De acordo com a ANVISA (1989), considera-se "Óleo de Pequi" o produto constituído de glicerídeos de AG obtidos, exclusivamente, por expressão dos frutos do pequi, sem qualquer tratamento com solvente.

A grande maioria dos estudos com óleo de pequi se concentra no óleo extraído da polpa, onde, de acordo com Lima (2008), o teor de lipídeos varia de 57% a 61,79% (base seca) e sofre uma variação que depende tanto da espécie do fruto quanto de fatores climáticos e regionais (área de cultivo, altitude, entre outros) (AQUINO et al., 2009). Esse mesmo autor identificando a fração lipídica da polpa encontrou para AG insaturados e saturados valores de 61,35% e 37,97%, respectivamente. Na maioria dos óleos, verifica-se que a variação comumente encontrada na composição de AG reside nos teores de ácido oléico e linoléico. O óleo de pequi apresenta menor grau de insaturação quando comparado com outros óleos comestíveis e, conseqüentemente, uma melhor estabilidade em relação à rancificação oxidativa. Quando se compara o óleo obtido do pequi com outras fontes de óleos considerados comestíveis, observa-se que o mesmo apresenta certa similaridade com o óleo de algodão, cujo total de insaturados é de 71,10% e de saturados é de 24,30% (FIGUEIREDO; MAIA; FIGUEIREDO, 1989; MERCADANTE; AMAYA, 1986).

As diferenças entre as espécies de pequi também provocam variabilidade no teor de AG. Os AG presentes na polpa são predominantemente o oléico (48,7% a 64,21%) seguido pelo palmítico (34,4 a 46,79%), além de outros componentes minoritários como o palmitoléico, mirístico, heptadecenóico, linoléico, linolênico, araquídico e esteárico (AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; FIGUEIREDO; MAIA; FIGUEIREDO, 1989; LIMA, 2008; MARIANO; COURI; FREITAS, 2009; MATA et al., 2009; SENA JR. et al., 2010). Segundo Figueiredo, Maia e Figueiredo (1989), o óleo extraído da polpa apresentou resultado em ácido oléico (64,21%) muito semelhante ao indicado por Mercadante e Amaya (1986) para oliva (68,40%).

Comparando o óleo obtido em laboratório a partir da polpa (extraído com uso de solvente) com aquele obtido artesanalmente, Figueiredo, Maia e Figueiredo (1989) observaram diferenças insignificantes no que diz respeito as suas propriedades físico-químicas. Já no que concerne aos parâmetros sensoriais de aparência, cor e odor, verifica-se certa distinção entre o óleo extraído artesanalmente e o óleo obtido em laboratório. Além disso, não foram encontradas grandes diferenças quando se compara o óleo da polpa com aquele obtido da amêndoa. Este aspecto se torna importante, pois essa amêndoa geralmente é pouco explorada e o seu uso permitiria o aproveitamento como uma fonte alimentar por possuir ótimo sabor e valor nutritivo, contribuindo para um aumento do valor

agregado do pequi, já que a amêndoa é um subproduto descartado no meio ambiente (RABÊLO et al., 2008).

Mariano, Couri e Freitas (2009), também afirmaram que diferentemente de outros frutos de palmeira, a composição de AG do óleo das amêndoas do pequi é semelhante ao óleo da polpa. Lima (2008) trabalhando com os AG da amêndoa encontrou teores de insaturados e saturados de 52,48 e 47,17%, respectivamente. Quanto aos teores dos AG oléico e palmítico alguns autores (LIMA, 2008; MARIANO; COURI; FREITAS, 2009) encontraram valores de 43,59 a 56% para o primeiro e de 32 a 43,76% para o segundo. Além disso, detectaram também a presença dos ácidos linoléico, esteárico, palmitoléico, e ainda traços dos ácidos láurico, mirístico, palmitoléico,  $\alpha$ -linolênico, gadoléico, lignocérico e docosaheptaenóico.

Firmados no exposto, não se tem dúvida em sugerir o óleo da amêndoa de pequi como um bom óleo comestível, possuidor que é de propriedades físico-químicas, organolépticas e químicas que perfeitamente o credencia merecer a devida atenção dos poderes públicos e dos industriais que poderão encontrar nesse óleo matéria-prima nacional de grande viabilidade econômica.

Aliado a isso, merece ser enfatizada a extração do óleo tanto da polpa quanto da amêndoa de pequi que é, atualmente, realizada em pequena escala, geralmente por um processo artesanal empregando água a temperaturas altas. Este tipo de extração que é feita pelos produtores extrativistas nas comunidades, demanda tempo e resulta em baixo rendimento do óleo, pois a alta viscosidade torna a fase da separação difícil, além de propiciar possíveis contaminações (AQUINO et al., 2009; BARBOSA et al., 2009; RABÊLO et al., 2008). Além disso, as elevadas temperaturas usadas para redução da viscosidade promovem a oxidação química dos AG insaturados, com formação de aldeídos, muitas vezes responsáveis pelos sabores indesejáveis nos óleos e gorduras (RABÊLO et al., 2008).

Para a obtenção artesanal especificamente do óleo da amêndoa, as operações utilizadas são as seguintes: coleta e recepção da matéria-prima; descasca; separação das amêndoas, secagem ao sol; "pilação e preparo da massa"; cozimento da massa e separação do óleo; apuração do óleo; filtração (rendimento de aproximadamente 28,86%); acondicionamento em embalagem e armazenamento.

Apesar do processo utilizado para a extração ser muito rudimentar e com baixa produtividade e qualidade, os óleos da polpa e amêndoas obtidos são vendidos nos centros de comercialização e mercados municipais a preços relativamente baixos. Geralmente é utilizado para consumo doméstico ou adquirido pelas indústrias cosméticas e de licor que, por sua vez, revendem o óleo residual, após processamento do licor, para a produção de sabão (DE DEUS, 2008; OLIVEIRA et al., 2010).

A alta porcentagem de óleo da polpa e da amêndoa do pequi, constituído na sua maior parte pelos ácidos oléico e palmítico, somada a algumas características específicas como a antioxidante, tornam o óleo do pequi uma boa fonte de matéria-prima para a indústria cosmética e alimentícia (DE DEUS, 2008). As famílias

extrativistas além de utilizarem o óleo na alimentação, também o utilizam como medicamento para animais e seres humanos (BARBOSA et al., 2009).

Na medicina popular, a polpa dos frutos e óleos de amêndoas de *Caryocar coriaceum* (outra espécie de pequi) tem sido usados como cicatrizante e anti-inflamatório para o tratamento de doenças do trato respiratório, incluindo tosse, afecções brônquicas e asma (MATOS, 2007). Refere-se também o uso externo de óleo bruto sobre pequenas feridas da pele, na forma de curativos, com a finalidade de cura e na forma de compressas e massagens, para o tratamento de dores reumáticas e musculares (PASSOS et al., 2003).

### 1.1.2.1 Estudos com óleo de pequi

Os óleos essenciais das amêndoas e folhas da espécie *Caryocar brasiliense* foram previamente relatados por terem atividade antifúngica contra *Cryptococcus neoformans* e *Coccidioides brasiliensis* (PASSOS et al., 2003) e por terem muitos compostos com propriedades antioxidantes (ROESLER et al., 2008).

Os efeitos anti-inflamatórios de *C. Coriaceum* e *C. Brasiliense* tem sido demonstrados na literatura e eles estão relacionados com os óleos do fruto (MIRANDA-VILELA et al., 2009). A aplicação tópica de óleo da amêndoa de *Caryocar coriaceum* foi capaz de reduzir a inflamação em edema agudo de orelha e acelerou o reparo de feridas cutâneas de uma maneira dose-dependente (OLIVEIRA et al., 2010). Ele tem sido ainda utilizado para o tratamento de lesões gástricas induzidas experimentalmente (LEITE et al., 2009; DA SILVA QUIRINO et al., 2009). Estes dados validam seu uso generalizado pela população regional (OLIVEIRA et al., 2010). Nenhum efeito secundário derivado da utilização do óleo tem sido relatado.

Miranda-Vilela et al. (2008), avaliando o sangue de corredores que ingeriram o óleo da polpa de pequi imediatamente após o término das corridas, verificaram que o óleo foi eficiente na redução de danos do DNA e na proteção da musculatura contra traumatismos decorrentes da corrida. Em outro estudo, os mesmos autores dizem aceitar a hipótese de que óleo da polpa dos frutos *C. brasiliense* apresenta efeitos anti-inflamatórios semelhantes aos demonstrados pelo *C. coriaceum*, além de reduzir significativamente o colesterol total e a lipoproteína de baixa densidade (colesterol LDL) no grupo etário com mais de 45 anos, principalmente para os homens, apoiando a hipótese de que o óleo de pequi pode modular a lipemia pós-prandial. Seus dados também sugerem que um maior consumo de AG monoinsaturados (MUFA) é inversamente proporcional à pressão arterial e que não só uma dieta com uma alta taxa poliinsaturados/saturados (PUFA/SFA), mas também uma dieta com alta proporção PUFA-MUFA/SFA, pode exercer um efeito hipotensor (MIRANDA-VILELA et al., 2009).

## 1.2 Ácidos graxos e sua ação no organismo

Existem evidências de que não simplesmente a quantidade de gordura consumida, mas também o tipo de gordura (saturada, monoinsaturada e/ou poliinsaturada), além dos AG específicos (trans e conjugados do ácido linoléico - CLAs), são fatores importantes tanto na saúde como no desenvolvimento de certas doenças como a carcinogênese humana (MINIHANE; LOVEGROVE, 2006; ZOCK, 2006), tornando-se importante, portanto, a realização de pesquisas na área a fim de elucidar os mecanismos de ação dos diferentes tipos de AG sobre as células.

Sabe-se que os AG desempenham um importante papel na resposta imune e inflamatória como componentes da membrana celular, contribuindo para sua fluidez e, dessa forma, regulam a atividade das proteínas da membrana, controlam as funções dos neutrófilos, os quais secretam várias citocinas e ainda podem influenciar, benéficamente, o processo de cicatrização, em particular, no controle da angiogênese e proliferação celular (PEREIRA et al., 2008; QUIRINO, 2009).

Como os AG são moléculas dinâmicas que podem ser liberadas da membrana celular, do tecido adiposo ou adquiridas a partir da nutrição, geralmente eles são utilizados como fonte energética, mas alguns tipos de AG provenientes de alimentos permitem ao organismo entender qual o tipo de alimento está disponível. Esta compreensão ocorre molecularmente, e durante a evolução, nossas células aprenderam a utilizar AG como moléculas sinalizadoras entre elas. Os AG liberados da membrana celular pela ação de fosfolipases ou disponíveis no meio extracelular são moléculas de sinalização celular importantes. Eles podem atuar como segundos mensageiros porque suas concentrações são alteradas rapidamente em resposta a ligação de agonistas específicos a receptores de membrana plasmática (GOLDINER et al., 2006).

Em se tratando de sinalizações lipídicas podemos destacar os eicosanóides, que são mediadores lipídicos com 20 átomos de carbono, apresentando oxigênio na estrutura e incluem prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos (denominados prostanóides), bem como os leucotrienos, lipoxinas, ácidos hidroperoxieicosatetraenóico, e ácidos hidroxieicosatetraenóico, produzidos a partir do processamento de certos AG pelas enzimas COX e LOX e do Citocromo P450. Estes eicosanóides derivados do ácido araquidônico (AA) são potentes agentes pró-inflamatórios e pró-agregatórios. O AA induz a adipogênese indiretamente por meio da produção de prostaciclina, induzindo a produção do cAMP (CATALIOTO et al., 1991; DARIMONT et al., 1994; NELSON; COX, 2004).

A composição de lipídios dietéticos pode influenciar não somente os componentes das membranas celulares e a mobilização dos triacilgliceróis presentes nas lipoproteínas séricas, mas também a deposição e a mobilização dos lipídios teciduais, sendo importante ressaltar a reversibilidade deste processo quando é alterado o perfil de AG dietéticos. Os AG armazenados nos tecidos exercem efeitos importantes no metabolismo celular, podendo atuar desde a modulação enzimática até a regulação da expressão gênica. Quanto à mobilização dos AG, tem sido demonstrado que este processo é dependente do tamanho da

cadeia, do grau de saturação, da distribuição posicional e da polaridade das moléculas de AG esterificados ao glicerol (ALMEIDA et al., 2009).

Uma relação importante quanto à análise da influência dos lipídios dietéticos sobre o metabolismo lipídico é a razão de PUFA/SFA. A elevação desta razão traz benefícios à saúde, visto que grandes quantidades de AG poliinsaturados reduzem os lipídios séricos. Estudos dizem que alimentos que possuem elevada razão PUFA/SFA têm demonstrado efeitos benéficos sobre a glicemia e o metabolismo lipídico, promovendo até mesmo a redução da gordura corporal total e da termogênese em modelos animais e no homem. Entretanto, o consumo exarcebado destas fontes alimentícias poderá trazer graves conseqüências, visto que os AG insaturados são altamente suscetíveis à peroxidação lipídica, podendo contribuir para a formação das placas ateroscleróticas, induzir a carcinogênese, bem como promover a inibição de dessaturases, que atuam no metabolismo das moléculas de ácido linolênico e de ácido linoléico (ALMEIDA et al., 2009). Entretanto, o potencial dos PUFAs em aumentar a peroxidação lipídica no organismo pode ser contrabalanceado pelo impacto positivo destes AG sobre a atividade da enzima glutatona peroxidase (GPx) e/ou da expressão gênica (MINIHANE; LOVEGROVE, 2006).

Os MUFA também possuem efeito de redução dos níveis lipídêmicos. E a razão PUFA+MUFA/SFA tem sido considerada, por vezes, como melhor indicador do efeito dos lipídios dietéticos sobre os lipídios séricos (ALMEIDA et al., 2009).

Observou-se que o ácido oléico, comparativamente à gordura saturada, reduz a concentração plasmática de colesterol LDL e não provoca oxidação das LDL. Uma das possíveis razões pelas quais o ácido oléico não eleva o colesterol LDL é o fato de ser um melhor substrato para a acil CoA: colesterol aciltransferase (ACAT) no fígado. Portanto, o excesso de colesterol na forma livre é rapidamente esterificado, não induzindo a supressão de receptores de LDL. Além disso, o oléico induz menor síntese endógena de colesterol, quando comparado a AG poliinsaturados (LOTTENBERG, 2009). Em contraposição, estudos metabólicos e epidemiológicos demonstraram que o ácido palmítico eleva a concentração plasmática de colesterol e do colesterol LDL, quando comparado à gordura poliinsaturada (LOTTENBERG, 2009).

Há muitos pontos a serem esclarecidos quanto ao efeito dos AG no controle da glicemia e na maquinaria bioquímica responsável pela extrusão de grânulos de insulina. Esses efeitos são dependentes principalmente do tamanho da cadeia, do grau de insaturação, do tempo de exposição e da concentração de AG no meio. Os mecanismos envolvidos no processo de estímulo-secreção de insulina, induzidos pelos nutrientes secretagogos (glicose, aminoácidos e AG) são complexos. As alterações da composição lipídica da dieta modificam a secreção de insulina e a resposta à glicose. É nítido que alguns AG pioram e outros parecem melhorar a secreção desse hormônio. Esses achados devem motivar estudos detalhados visando ao possível emprego de AG específicos no tratamento e prevenção de patologias como o *diabetes mellitus* (CURI et al., 2002).

Dietas ricas em AG saturados (banha de porco) reduzem a responsividade das ilhotas pancreáticas à glicose, enquanto que dietas ricas em AG monoinsaturados (óleo de oliva) e poliinsaturados (óleo de soja) aumentam esta resposta (CURI et al., 2002).

Além dos AG, os compostos fenólicos também parecem exercer efeito sobre as respostas glicêmicas. Singh, Kamath e Rajini (2005), estudando diabetes em modelo experimental induzido por STZ, observaram a atenuação da hiperglicemia e dos parâmetros bioquímicos associados ao estresse oxidativo em ratos diabéticos suplementados com uma dieta rica em compostos polifenólicos.

## JUSTIFICATIVA

A comunidade científica vem, ao longo do tempo, dedicando-se à compreensão do efeito dos diferentes ácidos graxos e compostos fenólicos sobre os sistemas biológicos e, para tal, diversas metodologias e ferramentas têm sido empregadas no sentido de contribuir para o progresso da ciência. Nesse contexto, pouco se conhece sobre os efeitos do óleo da amêndoa de pequi na atividade das enzimas antioxidantes, incorporação de seus ácidos graxos constituintes nos tecidos e nos parâmetros bioquímicos e metabólicos de ratos.

Sabe-se que o óleo de pequi apresenta majoritariamente a presença dos ácidos graxos oléico e palmítico e, de acordo com a literatura, o ácido oléico apresenta efeitos na melhora do perfil lipídico e na secreção de insulina, aperfeiçoando ainda a captação de glicose, enquanto que os ácidos graxos saturados possuem efeito contrário. Além disso, estudos destacam melhora no perfil antioxidante e glicêmico após o consumo de compostos fenólicos.

Nesse sentido, não se conhece os efeitos que o óleo da amêndoa de pequi pode exercer como agente terapêutico ou não no auxílio e na redução das disfunções metabólicas associadas ao metabolismo glicídico, bem como nos parâmetros antioxidantes e lipídicos, tornando fundamental seu entendimento.

Diante da necessidade de maiores esclarecimentos sobre o papel deste óleo nos sistemas biológicos, optaremos, neste projeto, por uma intervenção nutricional (suplementação com o óleo da amêndoa de pequi) que possivelmente modula alguns pontos-chave desses processos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

- ✓ Estudar o efeito do óleo da amêndoa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) sobre o perfil lipídico tecidual, enzimas antioxidantes e sua influência sobre os parâmetros bioquímicos e metabólicos de animais.

### 2.2 Objetivos específicos

- ✓ Caracterizar as amostras a serem estudadas, identificando seus ácidos graxos constituintes e compostos fenólicos.
- ✓ Avaliar *in vitro* a atividade antioxidante das amostras pelo sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico e Rancimat.
- ✓ Comparar os tipos de extração do óleo com relação ao seu perfil lipídico, teor de compostos fenólicos, estabilidade e atividade antioxidante.
- ✓ Verificar o índice de incorporação tecidual dos ácidos graxos predominantes no óleo de pequi em ratos.
- ✓ Avaliar a atividade antioxidante do óleo na proteção contra a lipoperoxidação tecidual e sérica na atividade das enzimas antioxidantes em ratos.
- ✓ Investigar o efeito do óleo sobre os parâmetros bioquímicos séricos de ratos.
- ✓ Avaliar o efeito do óleo sobre a lipogênese, oxidação e captação de glicose em adipócitos isolados.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Material

#### 3.1.1 Amostras

Serão utilizados óleos das amêndoas de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) extraídos artesanalmente e à frio fornecidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA- Cerrados) a partir de amêndoas provenientes do Grupo Produtivo de Mulheres da Comunidade Vereda Funda, localizada na cidade de Rio Pardo, Norte de Minas Gerais.

#### 3.1.2 Animais

Para avaliar o efeito do óleo da amêndoa de pequi *in vivo* serão utilizados ratos (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*) machos da linhagem “Wistar”, com 45 dias de vida, pesando entre 220 e 240g, provenientes do Biotério de Produção e Experimentação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas e do Instituto de Química/USP.

Os animais serão mantidos em caixas coletivas (3 animais/caixa), sob condições de temperatura ambiental controlada de 23°C, ciclo de iluminação claro/escuro de 12/12 horas durante todo o período experimental. Os animais terão acesso livre à água e à ração comercial peletizada Nuvilab CR-1 irradiada.

O estudo utilizando animais de laboratório será previamente aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP.

### 3.2 Métodos

#### 3.2.1 Preparação dos ésteres metílicos de ácidos graxos

Para a identificação do perfil lipídico por cromatografia gasosa, a fração lipídica dos AG será submetida a uma esterificação alcalina com metóxido de sódio ( $\text{NaOCH}_3$ ) metanólico seguindo-se o método descrito por Kramer et al. (1997).

#### 3.2.2 Análise do perfil de ácidos graxos no óleo da amêndoa de pequi

A identificação e quantificação dos AG presentes na fração lipídica das amêndoas do pequi será realizada por cromatografia a gás (MANCINI-FILHO et al., 2007), utilizando um cromatógrafo da marca Shimadzu GC, modelo 17A, com detector de ionização de chama conectado a um integrador.

As condições cromatográficas serão as seguintes: Coluna de sílica fundida, de 30m e 0,25mm de diâmetro interno; Temperatura da coluna: isotérmica a 140°C por 5min, e então aquecimento a 4°C/min até 240°C, permanecendo nesta

temperatura por 20min; Temperatura do vaporizador: 250°C; Temperatura do detector: 270°C; Gás de arraste: Hélio (1mL/min.); Razão de divisão da amostra no injetor = 1/50.

A identificação dos AG será realizada com base na área cromatográfica do padrão interno metil éster de ácido heptadecanoato (C17:0) e comparada aos tempos de retenção relativos à mistura de padrões de metil-ésteres C 4:0 a C 24:0.

### **3.2.3 Determinação dos fenólicos totais**

Os fenólicos totais serão determinados, espectrofotometricamente, segundo método descrito por Swain e Hills (1959).

### **3.2.4 Identificação dos ácidos fenólicos**

Os ácidos fenólicos serão identificados por cromatografia a gás, empregando-se a metodologia descrita por Dabrowski e Sosulski (1984), com modificações descritas por Moreira e Mancini-Filho (2003).

### **3.2.5 Determinação da atividade antioxidante *in vitro***

#### **3.2.5.1 Sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoléico**

A atividade antioxidante no sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico será determinada pelo método descrito por Schubert et al. (1999) que se baseia na oxidação (descoloração) do  $\beta$ -caroteno em uma determinada emulsão.

#### **3.2.5.1 Método do Rancimat**

A atividade antioxidante por condutimetria será realizada em aparelho Rancimat<sup>®</sup> (modelo 743, Metrohm Ltd., Herisau, Suíça) com o software PC 743 Rancimat 1.0, a 110°C com fluxo de ar de 10h/L, no qual amostras de 5g de óleo de pequi serão utilizadas, além de óleo de soja (padrão) na mesma quantidade.

### **3.2.6 Avaliação biológica (*in vivo*)**

#### **3.2.6.1 Efeito do óleo da amêndoa de pequi em animais**

Será realizada uma avaliação de diferentes doses do óleo em animais, onde o grupo controle receberá água e os outros três grupos experimentais receberão o óleo da amêndoa de pequi nas concentrações de 1%, 2% e 4% em relação ao consumo médio diário da dieta. O experimento terá duração de 45 dias, adotando-se um período de adaptação inicial de sete dias. Em todos os animais a suplementação será realizada por gavagem durante todos os dias de tratamento.

Semanalmente os animais serão pesados para que seja possível calcular o ganho de peso. E durante todo o período experimental a alimentação será pesada diariamente para que seja ajustada a quantidade de óleo a ser suplementada de acordo com o consumo dos animais. O coeficiente de eficácia alimentar (CEA) será obtido de acordo com a seguinte relação: Ganho de peso do animal (g)/Consumo de ração (g).

Ao final do período estabelecido os animais serão eutanaziados por meio de analgesia utilizando Xilazina (10mg/Kg) e Cloridrato de Cetamina (90mg/Kg), via intraperitoneal. Dose esta recomendada pelo Biotério de Produção e Experimentação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas e do Instituto de Química/USP. Em seguida, será realizada a coleta de sangue pela artéria abdominal para a determinação da hemoglobina glicada pelo método de troca iônica utilizando kit comercial (Labtest<sup>®</sup>) e, em seguida, o fígado será perfundido pela veia porta com solução NaCl 0,9%. O fígado, o músculo solear e o tecido adiposo epididimal serão coletados, pesados e armazenados em nitrogênio líquido para futuras análises.

### **3.2.6.2 Preparo dos homogeneizados dos tecidos hepático, muscular e adiposo**

Os fragmentos do fígado perfundidos serão homogeneizados em aparelho homogeneizador tipo Potter-Elvehjem, com um volume de tampão fosfato de potássio 0,1M pH 7,0 igual a três vezes o valor absoluto da massa da amostra. O homogeneizado será centrifugado a 1.010 x g por 20min à temperatura de 4°C. Em seguida, será tomado 1mL do sobrenadante e, novamente, centrifugado a 11.200 x g por 20min a 4°C.

O músculo e o tecido adiposo serão homogeneizados em homogeneizador tipo Potter-Elvehjem, com um volume de tampão fosfato de potássio 0,1 M pH 7,0 igual a quatro vezes o valor absoluto da massa da amostra. O homogeneizado será centrifugado a 1.010 x g por 20 min à temperatura de 4 °C. Logo após, 1 mL do sobrenadante será novamente centrifugado a 11.000 x g por 20 min a 4 °C, empregando-se o novo sobrenadante para a determinação da atividade das enzimas antioxidantes. No caso do tecido adiposo será utilizada a fração intermediária da primeira centrifugação.

Além disso, o restante do primeiro centrifugado desses tecidos serão coletados e armazenados em tubos *ependorf* para a determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

### **3.2.6.3 Determinação das enzimas antioxidantes**

#### **➤ Determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD)**

A atividade da SOD citoplasmática será avaliada de acordo com a metodologia de McCord e Fridovich (1969) que verifica a produção dos ânions superóxidos produzidos pela xantina oxidase em presença da xantina. O ânion

superóxido produzido reduzirá o citocromo C e esta redução será medida pelo aumento da densidade ótica a 550nm numa temperatura de 25°C. Os resultados serão expressos em U/mg de proteína.

➤ **Determinação da atividade da catalase (CAT)**

A CAT propicia a oxidação do peróxido de hidrogênio a H<sub>2</sub>O e O<sub>2</sub>. A metodologia a ser empregada foi descrita por Beutler (1975), quantificando a velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio pela enzima mediante o decréscimo da densidade ótica a 230nm (coeficiente de extensão molar 0,0071nM<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>) a 37°C. Os resultados serão expressos U/mg de proteína.

➤ **Determinação da glutatona peroxidase (GPx)**

A atividade da GPx na fração citosólica será determinada pela metodologia descrita por Sies (1979). Este método fundamenta-se na medição do decaimento da densidade ótica, a 340nm, promovido pela oxidação do NADPH a 30°C (coeficiente de extinção molar igual a 6,22nM<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>) durante a redução da glutatona oxidada (GSSG) catalisada pela glutatona redutase. Os resultados serão expressos em U/mg de proteína. Utiliza-se amostra de sangue para este ensaio.

#### **3.2.6.4 Quantificação de proteínas nos tecidos**

A determinação do conteúdo de proteínas presente nos tecidos hepático, cardíaco e renal será realizada segundo o método de Bradford (1985). Será feita uma curva padrão de proteína com solução padrão de albumina.

#### **3.2.6.5 Determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico**

Os homogenatos do fígado, músculo e tecido adiposo, assim como o plasma dos animais experimentais serão preparados de acordo com a metodologia descrita por Winterbourn, Gutteridge e Halliwell (1985) para a avaliação da peroxidação lipídica através da medida da concentração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Os resultados serão expressos em nMol de MDA/mg de proteína.

#### **3.2.6.6 Análises bioquímicas no soro**

Para investigar os efeitos do óleo da amêndoa de pequi sobre o metabolismo dos animais diabéticos, serão realizadas as seguintes análises bioquímicas no soro desses animais: determinação de triacilgliceróis, colesterol total, colesterol HDL (High Density Lipoprotein) e LDL (Low Density Lipoprotein) e das enzimas hepáticas

amino transferases (AST e ALT). Todas as determinações serão feitas utilizando kits comerciais (Labtest<sup>®</sup>).

### **3.2.7 Análise do perfil lipídico dos tecidos**

Para a análise do perfil de AG nos tecidos será primeiramente realizada extração da fração lipídica de acordo com o método descrito por Folch et al. (1957). Em seguida será realizada a preparação dos ésteres metílicos de AG, conforme descrito no item 3.2.1, para a identificação e quantificação dos AG por cromatografia gasosa, nas condições relatadas no item 3.2.2.

### **3.2.8 Avaliação metabólica sistêmica**

A função metabólica sistêmica será avaliada mediante teste de tolerância à glicose (GTT oral), curva de tolerância à insulina (ITT), determinação da glicemia e insulinemia. Esses testes, bem como o estudo com adipócitos isolados serão realizados no Laboratório de Fisiologia do Tecido Adiposo no Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

#### **3.2.8.1 Teste oral de tolerância à glicose (G.T.T. oral)**

Para a determinação da curva glicêmica após sobrecarga de glicose oral, os animais em jejum prévio de 12 horas receberão uma dose de glicose (75 mg/100g de peso corporal) por gavagem. Realizar-se-á a medida da glicemia capilar coletado na veia da cauda através de glicosímetro Accu-Check Go (Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany) em diferentes momentos: 0 (pré-injeção), 5, 15, 30, 60 e 90 minutos após a administração de glicose.

#### **3.2.8.2 Curva de tolerância à insulina (I.T.T.)**

Injetar-se-á uma dose de insulina (75mU/100g de peso corporal) através da veia peniana nos animais anestesiados. A curva glicêmica será determinada através de glicosímetro.

#### **3.2.8.3 Determinação das concentrações de insulina**

A insulina plasmática será determinada através do método de radioimunoensaio (kit Linco Research Inc., St. Charles, MO).

### **3.2.9 Estudos com adipócitos isolados**

#### **3.2.9.1 Obtenção e incubação dos adipócitos**

Após laparotomia com exposição do depósito adiposo visceral (periepídídimo), este será retirado, pesado e uma pequena fração será colocada em tampão de digestão. Os adipócitos serão isolados mediante a técnica da digestão do tecido pela colagenase, descrita por Rodbell (1964), com algumas adaptações (Alonso-Vale et al. 2005). Para análise morfológica, alíquotas de suspensão celular serão avaliadas em microscópio óptico com ocular graduada para a medição do diâmetro celular. Em cada preparação serão medidas 100 células. A partir do diâmetro celular médio, admitindo-se que o adipócito é esférico, a superfície e o volume celular médio serão calculados segundo DiGirolamo et al. (1971).

#### **3.2.9.2 Avaliação da função metabólica do depósito adiposo**

A função metabólica do depósito adiposo epididimal será avaliada mediante teste de captação de glicose, lipogênese e oxidação de substratos a CO<sub>2</sub>.

##### **3.2.9.2.1 Teste de captação de glicose**

As taxas de captação de glicose marcada ([<sup>3</sup>H]-2DG) serão mensuradas sob condições basais e maximamente estimuladas por insulina, de acordo com protocolo descrito em Alonso-Vale et al. (2004a,b).

##### **3.2.9.2.2 Lipogênese e oxidação de substratos a CO<sub>2</sub>.**

Estas técnicas serão realizadas de acordo com protocolos descritos em Alonso-Vale et al. (2004a,b) e Lima et al. (1994).

### **3.2.10 Extração do RNA e RT-PCR das enzimas antioxidantes SOD e CAT**

O estudo da expressão das enzimas antioxidantes (SOD e CAT) será realizado em parceria com o laboratório de Virologia do Instituto Butantã.

O RNA total dos fígados de ratos diabéticos será isolado utilizando o Trizol®. Em seguida, o cDNA será sintetizado a partir de primers usando o sistema de transcrição reversa (RT). A SOD Cu/Zn será amplificada a 94°C por 45s, 56°C por 30s e 72°C por 45s, num total de 23 ciclos seguido por um tempo de 10min de extensão a 72°C usando os seguintes primers: 5'-TCT AAG AAA CAT GGC GGT CC-3' e 5'-CAG TTA GCA GGC CAG CAG AT-3'. A catalase será amplificada a 94°C por 30s, 58°C por 30s, e 72°C por 1min num total de 30 ciclos por um tempo de 10min de extensão a 72°C usando os seguintes primers: 5'-GCG AAT GGA GAG GCA GTG TAC-3' e 5'-GAG TGA CGT TGT CTT CAT TAG CAC TG-3'. A gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH) será amplificada a 94°C por 45s, 55°C por 45s, e

72°C por 45s num total de 28 ciclos seguidos por um tempo de extensão de 10min a 72°C usando os seguintes primers: 5'-CCA TCA CCA TCT TCC AGG AG-3' e 5'-CCT GCT TCA CCA CCT TCT TG-3'.

Os produtos amplificados serão determinados por eletroforese num gel de agarose a 1.8% contendo 0.06 mg/L de brometo de etídio. O gel será fotografado sobre transiluminação UV. A intensidade das bandas do PCR será normalizada pelos valores de GAPDH.

### **3.3 Análise estatística**

Os resultados das análises serão avaliados pela ANOVA univariada, seguido do teste de Tukey *Honest Significant Difference* (HSD) a 5% de significância, aplicado para comparação das médias. Todas as análises serão realizadas em triplicata, sendo os resultados expressos pelo valor médio  $\pm$  desvio-padrão (DP), utilizando-se os programas Statistica 7.1 (Statsoft, Tulsa, Oklahoma, EUA) e software *Prism* 5.0 (GraphPad).

#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFONSO, S.R.; ÂNGELO, H. Mercado dos produtos florestais não-madeireiros do cerrado brasileiro. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.19, n.3, p.315-326, jul./set., 2009.

ALMEIDA, S.P.; SILVA, J.A. **Piqui e buriti**: Importância alimentar para a população dos cerrados. Planaltina: EMBRAPA, CPAC, 1994.

ALMEIDA, S.P. Frutas nativas do cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P. **Cerrado**: ambiente e flora. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, p.247-285, 1998.

ALMEIDA, M.E.F.; QUEIROZ, J.H.; QUEIROZ, M.E.L.R.; COSTA, N.M.B.; MATTA, S.L.P. Perfil lipídico tecidual de ratos alimentados com diferentes fontes lipídicas. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.22, n.1, p.51-60, jan./fev., 2009.

ALONSO-VALE, M.I.C.; ANDREOTTI, S.; PERES, S.B.; FORATO-ANHÊ, G.; BORGES-SILVA, C.N.; CIPOLLA-NETO, J.; LIMA, F. Melatonin enhances leptin expression and release by rat adipocytes in the presence of insulin. **Am. J. Physiol.** v.288; p.805-812, 2005.

ALONSO-VALE, M.I.C.; BORGES-SILVA, C.N.; FORATO-ANHÊ, G.; ANDREOTTI, S.; MACHADO, M.A.; CIPOLLA-NETO, J.; LIMA, F.B. Light/Dark cycle-dependent metabolic changes in adipose tissue of pinealectomized rats. **Horm. Metab. Res.** v.36; p.474-479, 2004a.

ALONSO-VALE, M.I.C.; FORATO-ANHÊ, G.; BORGES-SILVA, C.N.; ANDREOTTI, S.; PERES, S.B.; CIPOLLA-NETO, J.; LIMA, F.B. Pinealectomy alters adipose tissue adaptability to fasting in rats. **Metabolism**; v.53; p.500-506, 2004b.

ANVISA. Definição óleo de pequi. **Portaria DINAL/MS nº 04, de 29 de maio de 1989**. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/04\\_89.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/04_89.htm). Acesso em: 04/09/2010.

AQUINO, L.P.; FERRUA, F.Q.; BORGES, S.V.; CIRILLO, M.A.; VIEIRA, A.P. Influência do pré-tratamento da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) no rendimento do extrato lipídico. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.20, n.2, p.289-294, abr./jun., 2009.

AZEVEDO-MELEIRO, C.H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, US, v.17, p.385-396, 2004.

BARBOSA, E.A.; ANTUNES, R.A.; FARIAS, T.M.; LOPES, N.P.S. Análise da qualidade do óleo de pequi produzido e comercializado no município de Januária-MG, Brasil. **Rev. Bras. De Agroecologia**; Resumos do VI CBA e II CLAA; v.4; n.2; nov., 2009.

BEUTLER, E. Red cell metabolism. In: **Manual of Biochemical Methods**. 2ed. New York: Grune & Stratton, p.89-90, 1975.

- BRADFORD, M.M.A. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.72, p.677-685, 1985.
- CATALIOTO, R.M.; GAILLARD, D.; MACLOUF, J.; AILHAUD, G.; NEGREL, R. Autocrine control of adipose cell differentiation by prostacyclin and PGF2 alpha. **Biochim. Biophys. Acta.** v.9, p.1091-364, 1991.
- CURI, R.; POMPEIA, C.; MIYASAKA, C.K.; PROCÓPIO, J. **Entendendo a gordura: os ácidos graxos.** 1ed. Barueri, SP: Manole, 2002. cap.21.
- DA SILVA QUIRINO, G.; LEITE, G.O.; REBELO, L.M.; TOMÉ, A.R.; COSTA, J.G.M.; CARDOSO, A.H.; CAMPOS, A.R. Healing potential of pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm.) fruit pulp oil. **Phytochemistry Letters**, v.2, p.179-183, 2009.
- DABROWSKI, K.J.; SOSULSKI, F.W. Quantification of free in the hydrolyzable phenolic acids in seeds by capillary gas-liquid chromatography. **J. Agric. Food. Chem.**, v.32, p.123-127, 1984.
- DARIMONT, C.; VASSAUX, G.; AILHAUD, G.; NEGREL, R. Differentiation of preadipose cells: paracrine role of prostacyclin upon stimulation of adipose cells by angiotensin-II. **Endocrinology**, v.135, p.2030-2036, 1994.
- DE DEUS, T.N. **Extração e caracterização de óleo do pequi (*Caryocar brasiliensis* Camb.) para o uso sustentável em formulações cosméticas óleo/água (O/A).** 2008. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Produção Sustentável) - Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2008.
- DIGIROLAMO, M.; MEDLINGER, S.; FERTIG, J.W. A simple method to determine cell size and number in four mammalian species. **Am J Physiol**; v.221; p.850-858, 1971.
- FERREIRA, L.C. **Aspectos microbiológicos da conservação de polpas de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.):** qualidade, higiene, adaptação de bactérias ao estresse ácido e isolamento de microorganismos com potencial para bioconservação. 2007. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.
- FIGUEIREDO, R.W.; MAIA, G.A.; FIGUEIREDO, E.A.T. Propriedades físico-químicas e composição dos ácidos graxos da fração lipídica da polpa e amêndoa do pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm.). **Ciênc. Agron.**, Fortaleza, v.20, n.1/2, p.135-139, jun./dez., 1989.
- FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids. **The Journal of Biological Chemistry**, v.226, p.497-509, 1957.
- GALVÃO, E.L.; SILVA, D.C.F.; SILVA, J.O.; MOREIRA, A.V.B.; SOUSA, E.M.B.D. Avaliação do potencial antioxidante e extração subcrítica do óleo de linhaça. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.28, n.3, p.551-557, jul./set., 2008.
- GARCIA, C.C.; FRANCO, P.I.M.; ZUPPA, T.O.; ANTONIOSI-FILHO, N.R.; LELES, M.I.G. Thermal stability studies of some cerrado plant oils. **J. Therm. Anal. Cal.**, v.87, 2007.

GEOCZE, A.C. **Influência da preparação do licor de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg.) no teor de compostos fenólicos.** 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

GOLDINER, A.E. et al. ABCA1-dependent but apoA-I-independent cholesterol efflux mediated by fatty acid–bile acid conjugates (FABACs). **J. Biochem.**, v.396, p.529-536, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Diretoria de pesquisas, coordenação de agropecuária, produção da extração vegetal e da Silvicultura.** Rio de Janeiro, v.22, p.1-47, 2007.

KRAMER, J. K. G.; FELLNER, V.; DUGAN, M. E. R.; SAUER, F. D.; MOSSOBA, M. M.; YURAWECZ, M. P. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Lipids**, v.32, p.1219-1228, 1997.

LEITE, G.O.; PENHA, A.R.S.; DA SILVA QUIRINO, G.; COLARES, A.V.; RODRIGUES, F.F.G.; COSTA, J.G.M.; CARDOSO, A.L.H.; CAMPOS, A.R. Gastroprotective effect of medicinal plants from Chapada do Araripe, Brazil. **Journal of Young Pharmacists**, v.1, p.54-56, 2009.

LIMA, A.; SILVA, A.M.O.; TRINDADE, R.A.; TORRES, R.P.; MANCINI-FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v.29, n.3, p.665-668, dez., 2007a.

LIMA, A.; SANABRIA, G.G.R.; ANDRADE-WARTA, E.R.A.; BEHRENS, J.H.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da aceitação de arroz com pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Publ. UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.** Ponta Grossa, v.13, n.3, p.45-51, dez., 2007b.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.).** 2008. 182 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

LOTTENBERG, A.M.P. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arq. Brás. Endocrinol. Metab.** v.53, n.5, p.595-607, 2009.

MANCINI-FILHO, J.; MANCINI, D.A.P. Prevenção de reações oxidativas: antioxidantes nos vegetais de consumo humano. *In*: DE ANGELIS, R.C. **A importância dos alimentos vegetais na proteção da saúde humana.** 2ed. São Paulo, SP: Atheneu, 2005. cap.36.

MANCINI-FILHO, J.; TAKEMOTO, E.; AUED-PIMENTEL, S. Parâmetros de identidade e qualidade de óleos e gorduras. *In*: ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PENTEADO, M.D.V. C. **Vigilância Sanitária: tópicos sobre legislação de alimentos.** Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2007. cap.6, p.81-107.

MARIANO, R.G.B.; COURI, S.; FREITAS, S.P. Enzymatic technology to improve oil extraction from *Caryocar brasiliense* Camb. (pequi) pulp. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v.31, n.3, p.637-643, set., 2009.

MATA, S.J.R.; CASTRO, E.L.M.; VIEIRA, L.T.; MARTINS, S.S.; DEUS, T.N.; SILVA, A.M.L. Extração e caracterização do óleo da amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) para uso em cosméticos. In: 49º congresso brasileiro de química. A química e a sustentabilidade, 2009, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2009/trabalhos/13/13-554-6734.htm>. Acesso em: 12/07/2010.

MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil**. 3ed. Fortaleza: Imprensa Universitária, Brazil, p.394, 2007.

MCCLEMENTS, D.J.; DECKER, E.A. Lipids. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Fennema's: Food Chemistry**, 4 ed. Boca Raton: CRC Press, 2008. cap. 4, p. 155-216.

MCCORD, J.M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase, an enzyme function for erythrocuprein (hemocuprein). **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.244, p.6049-6055, 1969.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; ARAÚJO, C.R. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.19, n.1, p.67-72, jan./mar. 2008.

MERCADANTE, A.Z.; AMAVA, D.B.R. Avaliação da composição de ácidos graxos de óleos comestíveis. **Bol. SBCTA**, Campinas, v.20(1/2), p.29-40, jan./jun., 1986.

MINIHANE, A.M.; LOVEGROVE, J.A. Health benefits of polyunsaturated fatty acids (PUFAs). In: WILLIAMS, C.; BUTTRISS, J. **Improving the fat content of foods**. Boca Raton: CRC Press, 2006. cap.5, p.107-140.

MIRANDA-VILELA, A.L.; AKIMOTO, A.K.; ALVES, P.C.Z.; PEREIRA, L.C.S.; GONÇALVES, C.A.; KLAUTAU-GUIMARÃES, M.N.; GRISOLIA, C.K. Avaliação do efeito antioxidante do óleo da polpa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) contra danos oxidativos no DNA e em células musculares e hepáticas de corredores do Distrito Federal. In: 54º Congresso Brasileiro de Genética, 2008, Salvador, BA.

MIRANDA-VILELA, A.L.; RESCK, I.S.; GRISOLIA, C.K. Antigenotoxic activity and antioxidant properties of organic and aqueous extracts of pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp. **Genetics and Molecular Biology**, v.31, n.4, p.956-963, 2008.

MIRANDA-VILELA, A.L.; PEREIRA, L.C.S.; GONÇALVES, C.A.; GRISOLIA, C.K. Pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp oil reduces exercise-induced inflammatory markers and blood pressure of male and female runners. **Nutrition Research**, v.29, p.850-858, 2009.

MOREIRA, A.V.B.; MANCINI-FILHO, J. Atividade antioxidante das especiarias mostarda, canela e erva-doce em sistemas aquoso e lipídico. **Nutrire**, São Paulo, v.25, p.31-60, 2003.

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

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger: Principles of Biochemistry Student CD-ROM**. Versão para Windows. 2004. 1 CD-ROM.

OLIVEIRA, W.L. Ecologia populacional e extrativismo de frutos de *Caryocar brasiliense* Camb. no cerrado do norte de Minas Gerais. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2009.

OLIVEIRA, M.L.M.; NUNES-PINHEIRO, D.C.S.; TOMÉ, A.R.; MOTA, E.F.; LIMA-VERDE, I.A.; PINHEIRO, F.G.M.; CAMPELLO, C.C.; MORAIS, S.M. *In vivo* topical anti-inflammatory and wound healing activities of the fixed oil of *Caryocar coriaceum* Wittm. Seeds. **Journal of Ethnopharmacology**, v.129, p.214-219, 2010.

PASSOS, X.S.; CASTRO, A.C.M.; PIRES, J.S.; GARCIA, A.C.F.; CAMPOS, F.C.; FERNANDES, O.F.L.; PAULA, J.R.; FERREIRA, H.D.; SANTOS, S.C.; FERRI, P.H.; SILVA, M.R.R. Composition and antifungal activity of the essential oils of *Caryocar brasiliensis*. **Pharmaceutical Biology**, v.41, p.319-324, 2003.

PEREIRA, L.M.; HATANAKA, E.; MARTINS, E.F.; OLIVEIRA, F.; LIBERTI, E.A.; FARSKY, S.H.; CURI, R.; PITHON-CURI, T.C. Effect of oleic and linoleic acids on the inflammatory phase of wound healing in rats. **Cell Biochem Funct.**, v.26, n.2, p.197-204, mar./abr., 2008.

QUIRINO, G.S. Atividade cicatrizante e gastroprotetora de *Caryocar coriaceum* Wittm. 2009. 118p. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular) - Universidade Regional do Cariri (URCA), Crato, 2009.

RABÊLO, A.M.S.; TORRES, M.C.L.; GERALDINE, R.M.; SILVEIRA, M.F.A. Extração, secagem e torrefação da amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.28, n.4, p.868-871, out./dez., 2008.

RAMOS, M.I.L.; UMAKI, M.C.S.; HIANE, P.A.; RAMOS FILHO, M.M. Efeito do cozimento convencional sobre os carotenóides pró-vitamínicos "A" da polpa do piqui (*Caryocar brasiliense* Camb.). **B.CEPPA**, Curitiba, v.19, n.1, jan./jun., 2001.

RIBEIRO, R.F. **Pequi, o rei do cerrado: roendo o fruto sertanejo por todos os lados**. Belo Horizonte: Rede Cerrado/REDE/CAANM/Campo Vale, p.62, 2000.

RODBELL, M. Metabolism of isolated fat cells. Effects of hormones on glucose metabolism and lipids. **J. Biol. Chem.**; v.239; p.357-80, 1964.

RODRIGUES, L.J.; VILAS BOAS, E.V.B.; PICCOLI, R.H.; PAULA, N.R.F.; PINTO, D.M.; VILAS BOAS, B.M. Efeito do tipo de corte e sanificantes no amaciamento de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) minimamente processado. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v.31, n.6, p.1793-1799, nov./dez., 2007

ROESLER, R.; MALTA, L.; CARRASCO, L.C.; HOLANDA, R.B.; SOUSA, C.A.S.; PASTORE, G.M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.27, n.1, p.53-60, jan./mar., 2007.

ROESLER, R.; CATHARINO, R.R.; MALTA, L.G.; EBERLIN, M.N.; PASTORE, G. Antioxidant activity of *Caryocar brasiliense* (pequi) and characterisation of

components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, v.110, p.711-717, 2008.

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

SCHUBERT, S.Y.; LANSKY, E.P.; NEEMAN, I. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. **Journal of Ethnopharmacology**, v.66, p.11-17, 1999.

SEGALL, S.D.; ARTZ, W.E.; RASLAN, D.S.; FERRAZ, V.P.; TAKAHASHI, J.A. Triacylglycerol analysis of pequi (*Caryocar brasiliensis* Camb.) oil by electrospray and tandem mass spectrometry. **J. Sci. Food Agric.**, v.86, p.445-452, 2006.

SENA JR., D.M.; RODRIGUES, F.F.G.; FREIRE, P.T.C.; DE LIMA, S.G.; COUTINHO, H.D.M.; CARVAJAL, J.C.L.; DA COSTA, J.G.M. Physicochemical and spectroscopical investigation of Pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm.) pulp oil. **Grasas y Aceites**, v.61, n.2, p.191-196, abr./jun., 2010.

SIES, H.; KOCH, O.R.; MARTINO E.; BOVERIS, A. Increased biliary glutathione disulfide release in chronically ethanol treated rats. **FEBS Letters**, v.103, p.287-290, 1979.

SILVA, D.B.; JUNQUEIRA, N.T.V.; SILVA, J.A.; PEREIRA, A.V.; SALVIANO, A.; JUNQUEIRA, G.D. Avaliação do potencial de produção do "pequizeiro-anão" sob condições naturais na região sul do estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.3, dez., 2001.

SINGH, N., KAMATH, V., RAJINI, P. S. Attenuation of hyperglycemia and associated biochemical parameters in STZ-induced diabetic rats by dietary supplementation of potato peel powder. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v.353, p.165-175, 2005.

SOUZA, I.; SALVIANO, A. **Fruticultura - A Cultura do Pequi (Caryocar brasiliense)**. EMATER-MG. Informação Tecnológica, Mai, 2002. Disponível em: [http://www.emater.mg.gov.br/site\\_emater/Serv\\_Prod/Livraria/Fruticul](http://www.emater.mg.gov.br/site_emater/Serv_Prod/Livraria/Fruticul). Acesso em: 25/01/2008.

SWAIN, T., HILLS, W.E. The phenolic constituents of *Punus domestica*. I-quantitative analysis of phenolic constituents. **J. Sci. Food Agric.**, v.19, p.63-68, 1959.

TORRES DE PINEDO, A.; PEÑALVER, P.; MORALES, J.C. Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: structure–activity relationship. **Food Chemistry**, v.103, Issue 1, p.55-61, 2007.

WINTERBOURN, C.; GUTTERIDGE, J.M.; HALLIWELL, B. Doxorubicin-dependent lipid peroxidation at low partial pressures of O<sub>2</sub>. **J. Free Radical Biol. Med.**, New York, p.43-49, 1985.

VERA, R.; SOUZA, E.R.B.; FERNANDES, E.P.; NAVES, R.V.; SOARES JÚNIOR, M.; CALIARI, M.; XIMENES, P.A. Caracterização física e química de frutos do

pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) oriundos de duas regiões no estado de Goiás, Brasil. **Pesq. Agropec. Trop.**, v.37, n.2, p.93-99, jun., 2007.

ZOCK, P. L. Health problems associated with saturated and *trans* fatty acids intake. *In*: WILLIAMS, C.; BUTTRISS, J. **Improving the fat content of foods**. Boca Raton: CRC Press, cap.1, p.3-24, 2006.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)