



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO - UFRPE
UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA - UEPB
UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ETNOBIOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA
NATUREZA - PPGEtno

CARLA DE FATIMA ALVES NONATO

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÕES BIOLÓGICAS DA POLPA DOS
FRUTOS DE *Mauritia flexuosa* L. f. (ARECACEAE) DO CARIRI CEARENSE

RECIFE – PE

2018

CARLA DE FATIMA ALVES NONATO

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÕES BIOLÓGICAS DA POLPA DOS
FRUTOS DE *Mauritia flexuosa* L. f. (ARECACEAE) DO CARIRI CEARENSE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza (PPGEtno) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Universidade Estadual da Paraíba e Universidade Regional do Cariri, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Etnobiologia e Conservação da Natureza.

Orientador: Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa.

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues.

RECIFE – PE

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Nome da Biblioteca, Recife-PE, Brasil

N812c Nonato, Carla de Fatima Alves

Caracterização química e avaliações biológicas da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) do Cariri Cearense / Carla de Fatima Alves Nonato. – 2018.

145 f. : il.

Orientador: José Galberto Martins da Costa.

Coorientadora: Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza, Recife, BR-PE, 2018.

Inclui referências e anexo(s).

1. Alimentos funcionais 2. Atividade antimicrobiana 3. Buriti 4. Capacidade antioxidante 5. Modulação de antibióticos I. Costa, José Galberto Martins da, orient. II. Rodrigues, Fabíola Fernandes Galvão, coorient. III. Título

CDD 574

CARLA DE FATIMA ALVES NONATO

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÕES BIOLÓGICAS DA POLPA DOS
FRUTOS DE *Mauritia flexuosa* L. F. (ARECACEAE) DO CARIRI CEARENSE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza (PPGEtno) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Universidade Estadual da Paraíba e Universidade Regional do Cariri, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Etnobiologia e Conservação da Natureza.

Apresentada e defendida em: 23/02/2018

BANCA EXAMINADORA:

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

Orientador/Presidente da Banca

Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes (URCA)

Membro Interno

Prof. Dr. Francisco Assis Bezerra da Cunha (URCA)

Membro Externo

Prof.^a Dr.^a Marta Maria de Almeida Souza (URCA)

Membro Suplente Interno

Prof. Dr. Alexandre Magno Rodrigues Teixeira (URCA)

Membro Suplente Externo

Dedico esta dissertação à meus pais e irmãos,
pelo incentivo, apoio e carinho.

“Tudo o que temos que decidir é o que fazer com o tempo que nos é dado.”

(J. R. R. Tolkien)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e pela sabedoria a mim concedida.

Aos meus pais, Carlos Alberto e Maria de Fátima, por nunca medirem esforços para minha formação e pelo incentivo de sempre buscar um futuro melhor. Aos meus irmãos, Caio Francys e Francisca Maria, pelo apoio, amizade e carinho.

A Seu Ednaldo, Dona Rose e Tainã, pela confiança, receptividade e zelo nesses anos de estadia.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa, pela confiança, paciência, por todos os ensinamentos e pelo exemplo como professor e pesquisador.

A minha coorientadora Prof.^a Dr.^a Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues, por todos os ensinamentos, conselhos, pela atenção e apoio em todos os momentos.

A todos que fazem ou fizeram parte do Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais – LPPN: Janaine, Daiany, Bárbara, Fábio, Sarah, Natalia, Junior e Gerson, por toda a ajuda e companheirismo.

A coordenação do Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza, por todo o apoio.

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

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

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1. Alimentos funcionais e nutracêuticos	16
2.2. Radicais livres e estresse oxidativo	17
2.3. Potencial antioxidante de produtos naturais	18
2.4. Resistência de microrganismos.....	20
2.5. Caracterização botânica e usos locais de <i>Mauritia flexuosa</i> L. f.....	21
3. REFERÊNCIAS	23
CAPITULO 1	
Análise química e avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana de frações da polpa dos frutos de <i>Mauritia flexuosa</i> L. f.	29
Resumo	30
1. Introdução	31
2. Material e Métodos	32
2.1. <i>Material vegetal</i>	33
2.2. <i>Obtenção das frações</i>	33
2.3. <i>Químicos, reagentes e equipamentos</i>	33
2.4. <i>Análises químicas</i>	34
2.4.1. <i>Prospecção química qualitativa</i>	34
2.4.2. <i>Determinação de fenóis e flavonoides totais</i>	34
2.4.3. <i>Quantificação de compostos fenólicos e flavonoides por HPLC-DAD</i>	35
2.5. <i>Ensaio antioxidantes</i>	35
2.5.1. <i>Sequestro do radical livre DPPH</i>	35
2.5.2. <i>Captura do radical livre ABTS^{•+}</i>	36
2.5.3. <i>FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)</i>	36
2.5.4. <i>Atividade quelante do íon Fe²⁺</i>	36

2.6. Ensaio antimicrobianos.....	37
2.6.1. Determinação da concentração inibitória mínima – CIM	37
2.6.2. Avaliação da modulação por contato direto	37
2.7. Análises estatísticas	38
3. Resultados e discussão	38
3.1. Análises químicas	38
3.1.1. Prospecção química qualitativa	38
3.1.2. Determinação de fenóis e flavonoides totais	39
3.1.3. Quantificação de compostos fenólicos e flavonoides por HPLC-DAD	40
3.2. Ensaio antioxidantes	44
3.2.1. Sequestro do radical livre DPPH	44
3.2.2. Captura do radical livre ABTS ^{•+}	46
3.2.3. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	47
3.2.4. Atividade quelante do íon Fe ²⁺	48
3.3. Ensaio antimicrobianos.....	49
3.3.1. Determinação da concentração inibitória mínima – CIM	49
3.3.2. Avaliação da modulação por contato direto	52
4. Conclusão	55
Referências	56

CAPITULO 2

Caracterização química e avaliação das capacidades antioxidante e antimicrobiana do óleo da polpa dos frutos de <i>Mauritia flexuosa</i> L. f.	66
Resumo	67
1. Introdução	68
2. Material e Métodos	69
2.1. Material vegetal e obtenção do óleo.....	69
2.2. Análise dos ácidos graxos.....	69
2.3. Caracterização físico-química.....	69
2.4. Ensaio antioxidantes	70
2.4.1. Sequestro do radical livre DPPH	70
2.4.2. Captura do radical livre ABTS ^{•+}	70
2.4.3. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	70
2.4.4. Atividade quelante do íon Fe ²⁺	71

2.5. Ensaio antimicrobianos.....	71
2.5.1. Determinação da concentração inibitória mínima – CIM	71
2.5.2. Avaliação da modulação por contato direto	71
2.6. Análises estatísticas	72
3. Resultados e discussão.....	72
3.1. Análise dos ácidos graxos.....	72
3.2. Caracterização físico-química.....	74
3.3. Ensaio antioxidantes	75
3.4. Ensaio antimicrobianos.....	78
4. Conclusão	81
Referências	81

CAPITULO 3

Composição bromatológica da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* L. f. do Cariri

Cearense	87
Resumo	88
1. Introdução	89
2. Materiais e métodos.....	90
3. Resultados e discussão	91
4. Conclusão	93
Referências	93

CONSIDERAÇÕES FINAIS	97
-----------------------------------	-----------

ANEXOS	98
---------------------	-----------

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 1

- Figura 1.** Representação do perfil da cromatografia líquida de alto desempenho das frações clorofórmio (A), acetato de etila (B) e etanólica (C) da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa*. Catequina (pico 1), ácido cafeico (pico 2), rutina (pico 3), orientina (pico 4), quercetina (pico 5), apigenina (pico 6), luteolina (pico 7) e kaempferol (pico 8) 41
- Figura 2.** Representações estruturais dos compostos fenólicos detectados nas frações da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* 43
- Figura 3.** Atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH das frações da polpa dos frutos de *M. flexuosa* e dos controles positivos ácido ascórbico e BHT..... 44
- Figura 4.** Efeitos da quelação de ferro para as frações da polpa de *M. flexuosa*. Os valores são expressos como média \pm desvio padrão (n= 3). FCB (a), FAB (b) e FEB (c). Os números 1-4 expressam a significância entre as frações na mesma concentração. 1: p <0,05, 2: p <0,01, 3: p <0,001 e 4:p <0,0001, (ANOVA e teste de Tukey) 48
- Figura 5.** Efeito modulador de FCB (b), FAB (c) e FEB (d) na atividade antibiótica de amicacina, gentamicina, benzilpenicilina e cefotaxima contra cepa de *Bacillus cereus* (INCQS 00303). Controle (a). Os números 1-4 expressam a significância da associação entre fração + antibiótico. Sin: Sinergismo, Ant: Antagonismo, 1: p <0,05, 2: p <0,01, 3: p <0,001 e 4:p <0,0001 (ANOVA e teste de Bonferroni) 52
- Figura 6.** Efeito modulador de FCB (b), FAB (c) e FEB (d) na atividade antibiótica de amicacina, gentamicina, benzilpenicilina e cefotaxima contra cepa de *Salmonella choleraesuis* (INCQS 00038). Controle (a). Os números 1-4 expressam a significância da associação entre fração + antibiótico. Sin: Sinergismo, 1: p <0,05, 2: p <0,01, 3: p <0,001 e 4:p <0,0001, (ANOVA e teste de Bonferroni) 54
- Figura 7.** Efeito modulador de FCB (b), FAB (c) e FEB (d) na atividade antibiótica de fluconazol e cetoconazol contra cepa de *Candida tropicalis* (INCQS 40042). Controle (a). Os números 1-4 expressam significância da associação entre fração + antibiótico. Ant: Antagonismo, 1: p <0,05, 2: p <0,01, 3: p <0,001 e 4:p <0,0001 (ANOVA e teste de Bonferroni) 55

CAPITULO 2

- Figura 1.** Cromatograma dos ésteres metílicos dos ácidos graxos identificados no óleo fixo da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* 74

- Figura 2.** Atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH do óleo da polpa dos frutos de *M. flexuosa* (OFB) e dos controles positivos ácido ascórbico e BHT 76
- Figura 3.** Efeitos da quelação de ferro para o óleo da polpa de *M. flexuosa*. Os valores são expressos como média \pm desvio padrão (n= 3). *:p <0,05, ****:p <0,0001, (ANOVA e teste de Tukey) 78
- Figura 4.** Efeito modulador do óleo da polpa dos fruto de *M. flexuosa* (OFB) na atividade antibiótica de amicacina, gentamicina, benzilpenicilina e cefotaxima contra cepas de *Bacillus cereus* (INCQS 00303) e *Salmonella choleraesuis* (INCQS 00038). Sin.: Sinergismo; Ant.: Antagonismo; *: p <0,0001 (ANOVA e teste de Bonferroni) 80

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 1

Tabela 1. Classes de metabólitos secundários identificados nas frações da polpa dos frutos de <i>M. flexuosa</i>	39
Tabela 2. Valores de fenóis e flavonoides totais obtidos nas frações da polpa dos frutos de <i>M. flexuosa</i>	40
Tabela 3. Componentes das frações da polpa dos frutos de <i>Mauritia flexuosa</i>	42
Tabela 4. Valores de IC ₅₀ das frações da polpa dos frutos de <i>M. flexuosa</i> e dos controles positivos (ácido ascórbico e BHT) para redução do radical livre DPPH	45
Tabela 5. Valores da atividade antioxidante das frações da polpa dos frutos de <i>M. flexuosa</i> pela captura do radical livre ABTS	46
Tabela 6. Valores da atividade antioxidante das frações da polpa dos frutos de <i>M. flexuosa</i> pela redução do ferro (FRAP)	47
Tabela 7. Concentração inibitória mínima das frações da polpa dos frutos de <i>M. flexuosa</i> frente a cepas padrões bacterianas e fúngicas	50

CAPITULO 2

Tabela 1. Perfil de ésteres metílicos dos ácidos graxos identificados no óleo fixo da polpa dos frutos de <i>Mauritia flexuosa</i>	73
Tabela 2. Características físico-químicas do óleo da polpa dos frutos de <i>Mauritia flexuosa</i> (OFB)	74
Tabela 3. Valores de IC ₅₀ do óleo da polpa dos frutos de <i>M. flexuosa</i> e dos controles positivos (ácido ascórbico e BHT) para redução do radical livre DPPH	76
Tabela 4. Concentração inibitória mínima do óleo da polpa dos frutos de <i>M. flexuosa</i> frente a cepas padrões bacterianas e fúngicas	79

CAPITULO 3

Tabela 1. Composição bromatológica da polpa <i>in natura</i> dos frutos de <i>Mauritia flexuosa</i>	91
---	----

Nonato, Carla de Fatima Alves. (Ma.). Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Fevereiro de 2018. Caracterização química e avaliações biológicas da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) do Cariri Cearense. José Galberto Martins da Costa; Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues.

RESUMO

O consumo de frutos é visto além do aspecto nutricional, sendo correlacionado como importante indicativo para a promoção da saúde e prevenção de doenças. Este trabalho teve como objetivo obter o perfil químico do óleo e das frações clorofórmio, acetato de etila e etanólica da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* L. f. e avaliar as capacidades antioxidante e antimicrobiana destes, bem como analisar a composição bromatológica da polpa. A identificação da composição química do óleo e das frações se deu por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector arranjo de diodo (CLAE-DAD), respectivamente. As quantificações de fenóis e flavonoides totais das frações seguiram os métodos Folin-Ciocalteu e complexação com cloreto de alumínio, respectivamente. A capacidade antioxidante foi verificada pelo sequestro dos radicais livres 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) e 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), poder de redução e quelação de ferro. A atividade antimicrobiana foi determinada pela concentração inibitória mínima e pela ação modulatória de antibióticos da classe dos aminoglicosídeos, beta-lactâmicos e azólicos. A acidez, o índice de saponificação e a refração do óleo foram caracterizados. As análises bromatológicas umidade, acidez total, pH, proteínas, carboidratos totais, cinzas, lipídios e teor de vitamina C foram realizadas. Nas análises químicas foi possível quantificar catequina, ácido cafeico, rutina, orientina, quercetina, apigenina, luteolina e kaempferol das frações, bem como os ácidos graxos majoritários do óleo, sendo estes ácido esteárico, ácido palmítico e ácido oleico. As frações exibiram atividade moderada contra bactérias Gram-positivas e cepas de *Candida*, enquanto que o óleo exibiu atividade moderada apenas contra as cepas de *Candida*. Quanto a modulação, as frações e o óleo apresentaram efeitos sinérgicos e antagônicos sobre os antibióticos analisados, onde o efeito sinérgico mais expressivo foi obtido pelo óleo sobre a cefotaxima frente a *Bacillus cereus*. A acidez e o índice de saponificação do óleo estão dentro dos limites estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. A polpa apresentou teores de 21.68% de umidade, 12.29% de acidez total, 3.84 de pH, 38.77% de proteínas, 29.82% de carboidratos totais, bem como valores de 3.82% de cinzas, 5.91% de lipídios e 60.53 mg/100g de vitamina C. Os resultados sugerem o uso potencial dos frutos de *M. flexuosa* como antioxidante e na terapia antimicrobiana, além do seu potencial nutricional.

Palavras-chave: Alimentos funcionais, Atividade antimicrobiana, Buriti, Capacidade antioxidante, Modulação de antibióticos.

Nonato, Carla de Fatima Alves. (MS). Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE). February 2018. Chemical characterization and biological evaluation of fruit pulp of *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) of Cariri Cearense. José Galberto Martins da Costa; Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues.

ABSTRACT

Fruit consumption is seen beyond the nutritional aspect, being correlated as important indicative for health promotion and disease prevention. The objective of this work was to obtain the chemical profile of the oil and the chloroform, ethyl acetate and ethanolic fractions of the fruit pulp of *Mauritia flexuosa* L. f. and to evaluate the antioxidant and antimicrobial capacities of these, as well as to analyze the bromatological composition of the pulp. The chemical composition of the oil and the fractions was determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and high performance liquid chromatography with diode array detector (HPLC-DAD), respectively. The quantifications of total phenols and flavonoids of the fractions followed the methods Folin-Ciocalteu and complexation with aluminum chloride, respectively. The antioxidant capacity was verified by the sequestration of free radicals 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), iron reduction and chelation. The antimicrobial activity was determined by the minimum inhibitory concentration and by the modulatory action of aminoglycoside, beta-lactam and azolic antibiotics. The acidity, the saponification index and the refraction of the oil were characterized. The bromatological analyzes of moisture, total acidity, pH, proteins, total carbohydrates, ashes, lipids and vitamin C content were performed. In the chemical analyzes it was possible to quantify catechin, caffeic acid, rutin, orientin, quercetin, apigenin, luteolin and kaempferol of the fractions, as well as the major fatty acids of the oil, being these stearic acid, palmitic acid and oleic acid. Fractions exhibited moderate activity against Gram-positive bacteria and *Candida* strains, while the oil exhibited moderate activity only against *Candida* strains. As for modulation, fractions and oil presented synergistic and antagonistic effects on the analyzed antibiotics, where the most expressive synergic effect was obtained by the oil on cefotaxime versus *Bacillus cereus*. The acidity and the saponification index of the oil are within the limits established by the Brazilian Health Regulatory Agency. The pulp presented values of 21.68% of moisture, 12.29% of total acidity, 3.84 of pH, 38.77% of proteins, 29.82% of total carbohydrates, as well as values of 3.82% of ash, 5.91% of lipids and 60.53 mg / 100g of Vitamin C. The results suggest the potential use of fruits of *M. flexuosa* as antioxidant and antimicrobial therapy, in addition to their nutritional potential.

Key words: Functional foods, Antimicrobial activity, Buriti, Antioxidant capacity, Modulation of antibiotics.

1. INTRODUÇÃO

A intensificação do consumo de frutos é uma importante tendência da última década. Os hábitos alimentares da população estão em constante mudança devido ao crescente fluxo de informação disponíveis na mídia, a procura por uma dieta saudável e com variedade de sabores e cores que os frutos tropicais dão as refeições (VIEIRA et al., 2006).

Essa mudança de hábitos alimentares permite o consumo de alimentos que além de fornecer a nutrição básica contribui melhorando a saúde e/ou reduzindo o risco de doenças, conhecidos como alimentos funcionais (CARVALHO et al., 2006). Estes combinam produtos comestíveis de alta flexibilidade com moléculas biologicamente ativas, sendo usados como estratégia para corrigir distúrbios metabólicos (WALZEM, 2004).

Os frutos nativos do Brasil se enquadram entre aqueles com maior diversidade de sabor e teor nutricional do mundo, entretanto uma grande parte destes apenas são conhecidos por populações locais ou são encontradas em regiões específicas (FERREIRA et al., 2005). Embora estes apresentem potencial alimentar e econômico ainda há a necessidade de estudos que os caracterizem para que se consolidem na dieta alimentar (CAVALCANTE et al., 2009).

Frutos e hortaliças são indicados para a alimentação devido ao seu valor nutricional e pela presença de compostos que atuam como antioxidantes, onde as vitaminas, os carotenoides e os compostos fenólicos são os principais compostos naturais que apresentam essa atividade (BARCIA et al., 2010; SILVA et al., 2008; SOUSA et al., 2007). Os frutos são considerados as principais fontes dietéticas de polifenóis, onde, em termos quantitativos e qualitativos, apresentam composição variada desses compostos em função de fatores intrínsecos e extrínsecos, sendo sua eficácia antioxidante dependente da estrutura química e da concentração destes fitoquímicos (MELO et al., 2008).

A atividade antimicrobiana dos compostos fenólicos presentes em alimentos vegetais tem sido amplamente estudada, onde os flavonoides e os taninos, recebem maior atenção por poder suprimir vários fatores de virulência microbiana, como a inibição da formação de biofilmes, a redução da adesão com o hospedeiro e a neutralização de toxinas bacterianas, além de mostrarem sinergismo com antibióticos e serem alternativa uso como conservantes naturais contra bactérias patogênicas transmitidas por alimentos (DAGLIA, 2012; VAQUERO et al., 2010).

Dentre os frutos brasileiros, a espécie *Mauritia flexuosa* L. f. (buriti) ganha destaque devido à grande variedade de usos em que é aplicada nas regiões onde se distribui, sendo estes alimentício, artesanal, ornamental, madeireiro e medicinal. O uso do seu fruto, que possui

aroma e sabor peculiar, como fonte alimentar é bastante difundido e gerador de renda para a população, seja *in natura* ou processado nas formas de sucos, doces, óleo, picolés, sorvetes, cremes, dentre outros (LORENZI et al., 2004; SAMPAIO, 2011; SANDER, 2014).

A polpa dos frutos de buriti possui rico valor nutricional apresentando teores consideráveis de carotenoides, polifenóis e ácido ascórbico, com uma fração lipídica constituída predominantemente por ácidos graxos monoinsaturados, principalmente por ácido oleico e ácido palmítico, demonstrando potencial antioxidante e preventivo de doenças cardiovasculares (MANHÃES; SABAA-SRUR, 2011; VIEIRA et al., 2006).

Avaliando a riqueza dessa espécie no encosta da Chapada do Araripe, esse estudo vem acrescentar a compreensão do potencial funcional da espécie supracitada. A busca do conhecimento sobre as características químicas e compostos bioativos de frutos é importante para que agregue-se valor nutricional e funcional, além da avaliação do consumo para a população que os utilizam (CANUTO et al., 2010; SILVA et al., 2008). Assim, este trabalho teve como objetivo determinar a capacidade antioxidante, avaliar a atividade antimicrobiana e as características bromatológicas da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* L. f.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Alimentos funcionais e nutracêuticos

O termo “alimentos funcionais” foi inicialmente introduzido pelo governo do Japão em meados dos anos 80, como resultado da preocupação com a redução dos gastos com saúde pública, considerando a elevada expectativa de vida naquele país (BASHO; BIN, 2010).

Alimento funcional é aquele que além de possuir aplicações nutricionais efetivas pode afetar positivamente uma ou mais funções no corpo, de maneira a ser tanto significativo para o bem estar e a saúde quanto para a redução de riscos de doenças (ROBERFROID, 2002).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), desde a resolução nº 18 de 30 de abril de 1999, define alimento funcional como todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido numa dieta usual, produz efeitos metabólicos, fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica (BRASIL, 1999).

Os alimentos funcionais podem ser classificados de dois modos: quanto à sua origem (vegetal ou animal) ou quanto aos benefícios que oferecem ao organismo (no sistema gastrointestinal, no sistema cardiovascular, no metabolismo de substratos, no crescimento, no desenvolvimento e diferenciação celular, no comportamento das funções fisiológicas e como antioxidantes) (SOUZA; SOUZA NETO; MAIA, 2003).

De acordo com Roberfroid (2002), para que alimentos sejam considerados funcionais estes devem, do ponto de vista prático:

- Ser alimentos convencionais e consumidos na dieta normal/usual;
- Ser compostos por componentes naturais, algumas vezes, em elevada concentração ou presentes em alimentos que normalmente não os supririam;
- Ter efeitos positivos além do valor básico nutritivo, que pode aumentar o bem-estar e a saúde e/ou reduzir o risco de ocorrência de doenças, promovendo benefícios à saúde além de aumentar a qualidade de vida, incluindo os desempenhos físico, psicológico e comportamental;
- Ter embasamento científico da sua propriedade funcional;
- Ser um alimento natural ou um alimento no qual um componente tenha sido removido;
- Ser um alimento onde a natureza de um ou mais componentes tenha sido modificada;
- Ser um alimento no qual a bioatividade de um ou mais componentes tenha sido modificada.

Por sua vez, nutracêuticos são alimentos ou parte destes que promovem benefícios à saúde, incluindo a prevenção e/ou tratamento de doenças. Estes englobam desde nutrientes isolados, suplementos dietéticos encapsulados e dietas, como também produtos herbais, projetados e alimentos processados (ANDLAUER; FÜRST, 2002).

Enquanto a prevenção e tratamento de doenças estão relacionados aos nutracêuticos, somente a redução do risco da doença está ligado com os alimentos funcionais (KWAK; JUKES, 2001). Sendo assim, precisa ser mantida a diferença essencial, que faz com que os alimentos funcionais se relacionem ao consumo como alimentos, enquanto que os nutracêuticos são ingredientes funcionais isolados consumidos sob diversas formas oferecidas pela indústria farmacêutica (MORAES; COLLA, 2006).

A ANVISA determina que para lançar um alimento que se alegue propriedades funcionais, deve-se seguir a legislação do Ministério da saúde e apresentar relatório técnico-científico que comprove sua ação e segurança de consumo (VIDAL et al., 2012). Porém, não existe orientação oficial sobre o processo de controle de qualidade de nutracêuticos, demonstrando que o fomento a estudos, bem como a prova da eficácia, segurança e qualidade são pontos chaves na construção do conhecimento que sustentem o uso racional desses produtos no gerenciamento da saúde e tratamento das doenças (LIRA et al., 2009).

2.2. Radicais livres e estresse oxidativo

Reações oxidativas e o processo de respiração celular promovem a formação de radicais livres, que são espécies químicas que possuem um ou mais elétrons não pareados na última camada eletrônica (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; SILVA et al., 2010). Processos patológicos também atuam na geração intracelular. As fontes exógenas compreendem as radiações ultravioleta e ionizante, como também agentes químicos (BERRA; MENCK; DI MASCIO, 2006).

Em torno de 95% do oxigênio utilizado pela célula segue a cadeia do citocromo mitocondrial, formando água e energia. Os 5% remanescentes são metabolizados como espécies reativas, como $^1\text{O}_2$ (oxigênio singlete), O^{-2} (radical superóxido), H_2O_2 (peróxido de hidrogênio), NO (óxido nítrico) e OH (radical hidroxila) (BIANCHI; ANTUNES, 1999; RODRIGUES, 1998).

Nos organismos superiores, a capacidade de provocar danos celulares dos radicais livres primários, como O^{-2} e NO, é baixa, assim ocorre a conversão destes para espécies secundárias

mais reativas que promovem o comprometimento celular, o que pode envolver metais de transição ou reações significativamente rápidas (GEBICKI, 2016).

As espécies reativas de oxigênio também são geradas em outras reações bioquímicas celulares, como em processos inflamatórios, no catabolismo de ácidos graxos, na degradação da xantina a ácido úrico e na auto-oxidação de catecolaminas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). O dano oxidativo causado por essas espécies pode acarretar a inativação enzimática, mutação, ruptura de membrana, bem como ao avanço na aterogenicidade de lipoproteínas plasmáticas e a morte celular (CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007).

Várias estratégias antioxidantes evoluíram para a célula lidar com os radicais livres, entre estas estão enzimas que catalisam radicais e espécies reativas (superóxido dismutase, glutatona redutase, glutatona peroxidase e catalases), proteínas limitantes de pró-oxidantes (transferrinas, ferritinas, metalotioneínas e haptoglobinas), proteínas que protegem de danos oxidativos por mecanismos não-enzimáticos (*stress proteins*) e moléculas de baixo peso molecular que capturam radicais livres por auto oxidação (glutatona e as que possuem grupo tiol – SH) (BERRA; MENCK; DI MASCIO, 2006).

O estresse oxidativo se dá quando a produção de radicais livres supera a capacidade antioxidante celular, ocasionando a geração de doenças crônicas degenerativas como o câncer, doenças cardíacas, Alzheimer, aterosclerose e o envelhecimento precoce (BERRA; MENCK; DI MASCIO, 2006; MORAIS et al., 2013). Este ocorre por diferentes situações, como a elevação do nível de compostos endógenos e exógenos que entram na auto-oxidação em conjunto com a produção de espécies reativas de oxigênio, insuficiência de reservas de antioxidantes de baixa massa molecular, inativação ou redução na produção de enzimas antioxidantes e de antioxidantes de baixa massa molecular, e pela combinação desses fatores (LUSHCHAK, 2014).

2.3. Potencial antioxidante de produtos naturais

Antioxidante é qualquer substância com capacidade de desacelerar ou inibir danos ocasionados pela oxidação estando presente em pequenas concentrações, quando em comparação com o agente oxidante (SILVA et al., 2010). Na indústria alimentícia, as reações oxidativas são inibidas por antioxidantes sintéticos, porém estudos mostram que estes apresentam efeitos tóxicos. Assim, pesquisas voltam-se no sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, permitindo substituir os sintéticos ou fazer associação entre eles (SOUSA et al., 2007).

Estudos clínicos e epidemiológicos mostram que a ingestão de cereais, frutas e vegetais consiste nos principais fatores que contribuem para uma significativa redução da ocorrência de doenças crônico-degenerativas (ROESLER et al., 2007). Estes efeitos são atribuídos principalmente aos compostos alimentares que possuem atividade antioxidante, onde os principais antioxidantes vegetais são as vitaminas C e E, os carotenoides e os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides (SILVA et al., 2010).

O ácido ascórbico, conhecido como vitamina C, é considerado um antioxidante primário por reagir com o oxigênio antes do início do processo oxidativo e participar do sistema de regeneração da vitamina E, sendo de grande importância para manutenção do potencial antioxidante do plasma (CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009). Este possui 4 grupos -OH que podem doar hidrogênio para um sistema oxidante, assim como os grupos -OH em pares estão dispostos em átomos de carbono adjacentes sendo capazes de quelar íons metálicos (Fe^{2+}) (BREWER, 2011).

Vitamina E é a principal vitamina lipossolúvel presente no plasma e na partícula de LDL, sendo este um termo genérico que se refere a tocoferóis (α , β , δ , γ tocoferol) e tocotrienóis (α , β , δ , γ tocotrienol) (CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009; CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007). Em geral, é aceito que este possui dois mecanismos primários antioxidante, como doador de elétrons de quebra de cadeia e como receptor de quebra de cadeia (OROIAN; ESCRICHE, 2015). Esta vitamina atua neutralizando oxigênio singlete e peróxidos, bem como capturando radicais livres e ânions superóxido, convertendo em formas menos reativas (DABROWSKA; MIR, 2009).

Os carotenoides são pigmentos lipossolúveis, amarelos, laranjas e vermelhos, presentes em diversas frutas e vegetais. Alguns desses apresentam estrutura cíclica β -ionona em suas moléculas, como α , β e γ -caroteno e β -criptoxantina, sendo precursores de vitamina A (SILVA et al., 2010). A estrutura geral dos carotenoides é responsável por sua ação antioxidante, sendo estes capazes de reagir com o oxigênio singlete e eliminar radicais, encerrando reações em cadeia (MCNULTY; JACOB; MASON, 2008).

Os compostos fenólicos possuem estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, que os confere o poder antioxidante (ANGELO; JORGE, 2007). A molécula de polifenol inativa os radicais livres de acordo com a transferência de átomos de hidrogênio e mecanismos de transferência de elétrons simples ou pela transferência de um único elétron (OROIAN; ESCRICHE, 2015). Estes são capazes de captar radicais alcóxila (RO^{\bullet}), alquilperóxila (ROO^{\bullet}), superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroxila (HO^{\bullet}),

óxido nítrico (NO^{*}), além do oxidante peroxinitrito (ONOO⁻/ONOOH) (CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007).

Dentre os compostos fenólicos, um grupo que ganha destaque por sua atividade antioxidante são os flavonoides. Estes encontram-se presentes em frutas, folhas, sementes e em outras partes da planta na forma de glicosídeos ou agliconas (ANGELO; JORGE, 2007). A atividade antioxidante desses compostos resulta de uma associação de suas propriedades quelante de ferro e eliminadora de radicais livres, bem como pela inibição das oxidases, evitando, assim, a formação de espécies reativas de oxigênio e hidropéroxidos orgânicos (JIMÉNEZ; MARTÍNEZ; FONSECA, 2009).

2.4. Resistência de microrganismos

Na última década, o desenvolvimento de antibióticos eficientes contra infecções ocasionou redução drástica na mortalidade provocada por doenças microbianas. Todavia, a disseminação do uso destes medicamentos ocasionou o desenvolvimento de defesas nos microrganismos e, assim, o surgimento da resistência (SILVEIRA et al., 2006). A associação entre consumo antimicrobiano e resistência tem sido conhecida desde os primeiros dias de uso da penicilina e, com a introdução de antimicrobianos das diversas classes farmacológicas isso pode ser confirmado (GOTTESMAN et al., 2009).

Existem quatro mecanismos diferentes que explicam a resistência adquirida aos antibióticos, sendo estas: alteração na permeabilidade celular, enzimas ou componentes celulares modificados, rotas bioquímicas alternativas desviando da rota alvo do antibiótico e produção de enzimas que destroem ou modificam a estrutura do fármaco (BAPTISTA, 2013).

A resistência microbiana é considerada um problema mundial de saúde pública, chamando a atenção de órgãos governamentais nacionais e internacionais devido as suas consequências, como o aumento da mortalidade e morbidade entre pacientes e uma redução no número de drogas úteis para pacientes das futuras gerações (MCGOWAN, 2004; OLIVEIRA; SILVA, 2008).

Como o uso indiscriminado de antimicrobianos é o principal fator de aumento das taxas de resistência, admitir que a redução no consumo desses fármacos deveria trazer impacto positivo sobre a regressão do fenômeno, mas, em ambiente ambulatorial, essa hipótese é extremamente difícil de ser testada, pois demanda grandes modificações nos perfis de prescrições (ZIMERMAN, 2010).

O uso de plantas medicinais como alternativa de tratamento tem aumentado em todas as classes sociais nas diversas regiões do mundo, sendo as propriedades antimicrobianas de diferentes espécies vegetais reconhecidas empiricamente a séculos, porém apenas cientificamente comprovadas nas últimas décadas (HAIDA et al., 2007).

Os produtos naturais antimicrobianos constituem fontes ricas para a bioprospecção de novas moléculas de potencial aplicabilidade na medicina, agricultura e nos estudos de processos biológicos (CONTI; GUIMARÃES; PUPO, 2012). Antibióticos naturais comumente exibem estruturas químicas complexas importantes para as interações específicas e reconhecimento pelos alvos macromoleculares em microrganismos patogênicos (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

2.5. Caracterização botânica e usos locais de *Mauritia flexuosa* L. f.

A família Arecaceae, conhecida como Palmae, é uma das duas famílias pertencentes a ordem Arecales (THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP, 2016). Esta é dividida em 5 subfamílias: Arecoideae (112 gêneros), Calamoideae (21 gêneros), Ceroxyloideae (8 gêneros), Coryphoideae (45 gêneros) e Nypoideae (um gênero) (ASMUSSEN et al., 2006).

Esta família apresenta distribuição pantropical, com maior ocorrência de espécies na Ásia Tropical, Ilhas do Pacífico, Indonésia e Américas. Sendo conhecido na América do Sul 50 gêneros e 437 espécies (DRANSFIELD et al., 2008; LOPES, 2007; LORENZI et al., 2004) e no Brasil apresenta cerca de 37 gêneros e de 270 espécies nativas (LORENZI et al., 2010).

O buriti, termo mais difundido para a espécie *M. flexuosa*, vem do tupi-guarani “dembyriti” que significa palmeira que emite líquido, devido ser reconhecida pelos índios como indicativo de presença de água, bem como é conhecida como a árvore da vida, por servir, até os dias atuais, como sustento para tribos indígenas antigas (VIEIRA et al., 2006).

M. flexuosa possui ampla distribuição na região amazônica, ocorrendo na Colômbia, Venezuela, Trinidad, Guianas, Equador, Peru, Bolívia (Santa Cruz) e no Brasil, sendo apontada a palmeira mais abundante, aparecendo nos estados do Amazonas, Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Pará, Piauí, Roraima, São Paulo e Tocantins, sendo encontrada em margens de rios, córregos, lagos e margeando nascentes, compondo grandes populações em áreas inundadas, veredas e matas de galeria (FERREIRA, 2005; LORENZI et al., 2004).

Essa espécie é uma palmeira do tipo dioica, com 2,8 a 35 m de altura e caule liso medindo de 23 a 50 cm de diâmetro. Suas folhas caracterizam-se como costapalmadas variando em número de 8 a 25 por indivíduo, estas apresentam bainha com 1 a 2,56 m de comprimento

e pecíolo com 1,6 a 4 m de comprimento, onde o tamanho total de sua folha pode chegar até 5,83 m de comprimento com 120 a 236 segmentos. Possui inflorescência ramificada em primeira ordem (27-35 ramificações), interfoliar, com 2,5 a 3,7m comprimento (FERREIRA, 2005; VIEIRA et al., 2006).

Os frutos do buriti são elipsóide-oblongos, cobertos por escamas córneas, medindo 5,0 x 4,2 cm de diâmetro e pesando de 40 a 85 g, de coloração marrom-avermelhado quando maduros, com mesocarpo carnoso e endocarpo não diferenciado (FERREIRA, 2005; SANTOS, 2005; VIEIRA et al., 2006). O seu desenvolvimento, desde o aparecimento do cacho, até o amadurecimento dos frutos dura aproximadamente um ano. No Cerrado, os frutos amadurecem comumente de setembro a fevereiro e na Amazônia a colheita em geral é entre março e agosto. Cada buriti fêmea chega a produzir entre 1 e 10 cachos com frutos maduros em uma safra, onde cada cacho pode ter entre 450 e 2.000 frutos (SAMPAIO; CARAZZA, 2012).

Levantamentos etnobotânicos em comunidades locais demonstraram uma grande variedade de usos nos quais essa espécie é empregada. Apresenta propriedades medicinais como antiofídica, cicatrizante, bem como contra diarreia, doenças cardiovasculares, respiratórias, do aparelho reprodutor, musculoesqueléticas e reumatológicas. Como fonte alimentar é usada *in natura* ou na forma de sucos (sembereba), picolés, vinhos fermentados ou não-fermentados, doce, bolos, geleias, dentre outros, sendo também usada para alimentação animal e, seus produtos, na indústria química e alimentícia. Para uso artesanal é utilizada na fabricação de apás, peneiras, baquités, cestaria, jacás, brinquedos, rolhas, dentre outros, tanto para uso doméstico como para atividade econômica. E como madeireiro foi apontado na construção para a sustentação e telhado de casas e na fabricação de canoas (BRAGA, 2013; FERNANDES, 2009; MARTINS, 2012; RIBEIRO, 2010; RIBEIRO et al., 2014; SAMPAIO; CARAZZA, 2012; SANDER, 2014; SANTOS; COELHO-FERREIRA, 2012).

3. REFERÊNCIAS

- ANDLAUER, W.; FÜRST, P. Nutraceuticals: A piece of history, present status and outlook. **Food Research International**, v. 35, p. 171–176, 2002.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- ASMUSSEN, C. B.; DRANSFIELD, J.; DEICKMANN, V.; BARFOD, A. S.; PINTAUD, J. C.; BAKER, W. J. A new subfamily classification of the palm family (Arecaceae): Evidence from plastid DNA phylogeny. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 151, n. 1, p. 15–38, 2006.
- BAPTISTA, M. G. F. M. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa, 2013.
- BARCIA, M. T.; JACQUES, A. C.; PERTUZATTI, P. B.; ZAMBIAZI, R. C. Determinação de ácido ascórbico e tocoferóis em frutas por CLAE. **Semina**, v. 31, n. 2, p. 381–390, 2010.
- BASHO, S. M.; BIN, M. C. Propriedades dos alimentos funcionais e seu papel na prevenção e controle da hipertensão e diabetes. **Interbio**, v. 4, n. 1, p. 48–58, 2010.
- BERRA, C. M.; MENCK, C. F. M.; DI MASCIO, P. Estresse oxidativo, lesões no genoma e processos de sinalização no controle do ciclo celular. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1340–1344, 2006.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais Livres e os Principais Antioxidantes da Dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123–130, 1999.
- BRAGA, J. **Etnobotânica e ecofisiologia de vegetações em cenários indígenas na região do Tapajós como indicadores de estudos de interação biosfera- atmosfera na Amazônia**. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Oeste do Pará, Santaém, 2013.
- BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999**. Brasília: Diário Oficial da União Poder Executivo, 1999.
- BREWER, M. S. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n. 4, p. 221–247, 2011.

- CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196–1205, 2010.
- CARVALHO, P. G. B.; MACHADO, C. M. M.; MORETTI, C. L.; FONSECA, M. E. N. Hortaliças como alimentos funcionais. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 397–404, 2006.
- CATANIA, A. S.; BARROS, C. R.; FERREIRA, S. R. G. Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 550–559, 2009.
- CAVALCANTE, T. R. M.; NAVES, R. V.; FRANCESCHINELLI, E. V.; SILVA, R. P. Polinização e formação de frutos em *Araticum*. **Bragantia**, v. 68, n. 1, p. 13–21, 2009.
- CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: Controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441–449, 2007.
- CONTI, R.; GUIMARÃES, D. O.; PUPO, M. T. Aprendendo com as interações da natureza: microrganismos simbiotes como fontes de produtos naturais bioativos. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 3, p. 43–47, 2012.
- DABROWSKA, C. C.; MIR, M. S. M. **Vitaminas y antioxidantes**. Madrid: Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid, 2009.
- DAGLIA, M. Polyphenols as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 174–181, 2012.
- DRANSFIELD, J.; UHL, N. W.; ASMUSSEN, C. B.; BAKER, W. J.; HARLEY, M. M.; LEWIS, C. E. **Genera Palmarum: The Evolution and Classification of Palms**. Kew: Kew Publishing Royal Botanic Gardens, 2008.
- FERNANDES, M. R. **Refazendo o sertão: o lugar do buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) na cultura sertaneja de Terra Ronca - GO**. 194 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Sustentável) – Universidade de Brasília, Brasília, 2009.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Defesa e Estresse Oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61–68, 1997.
- FERREIRA, E. G.; LEMOS, E. E. P.; SOUZA, F. X.; LOURENÇO, I. P.; LEDERMAN, I. E.; BEZERRA, J. E. F.; SILVA-JÚNIOR, J. F.; BARROS, L. M.; RUFINO, M. S. M.; OLIVEIRA,

M. E. B.; MENDONÇA, R. M. N.; ALVES, R. E.; ARAÚJO, R. R.; SILVA, S. M.; SOUZA, V. A. B. Frutíferas. In: SAMPAIO, E. V. S. B. (Ed.). **Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial**. Recife - PE: Associação Plantas do Nordeste, 2005. p. 49–100.

FERREIRA, M. G. R. **Buriti (*Mauritia flexuosa* L.)**. Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia. Porto Velho, RO.

GEBICKI, J. M. Oxidative stress, free radicals and protein peroxides. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 595, p. 33–39, 2016.

GOTTESMAN, B. S.; CARMELI, Y.; SHITRIT, P.; CHOWERS, M. Impact of quinolone restriction on resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from urine by culture in a community setting. **Clinical infectious diseases**, v. 49, n. 6, p. 869–875, 2009.

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

HAIDA, K. S.; PARZIANELLO, L.; WERNER, S.; GARCIA, D. R.; INÁCIO, C. V. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. **Arquivos de Ciências da Saúde**, v. 11, n. 3, p. 185–192, 2007.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 4 ed. ed. Oxford: University Press, 2007.

JIMÉNEZ, C. I. E.; MARTÍNEZ, E. Y. C.; FONSECA, J. G. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. **Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM**, v. 52, n. 2, p. 73–75, 2009.

KWAK, N. S.; JUKES, D. J. Functional foods. Part 2: The impact on current regulatory terminology. **Food Control**, v. 12, n. 2, p. 109–117, 2001.

LIRA, C. R. G.; ZUCCO, F.; NEGRÃO, A. N.; SILVA, M. A. S.; MURAKAMI, F. S. Nutracêuticos: aspectos sobre segurança, controle de qualidade e legislação. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 90, n. 1, p. 45–49, 2009.

LOPES, V. S. **Morfologia e fenologia reprodutiva do ariri (*Syagrus vagans* (Bondar) Hawkes)- Arecaceae- numa área de caatinga do município de Senhor do Bonfim-BA**. 87 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2007.

LORENZI, H.; NOBLICK, L. R.; KAHN, F.; FERREIRA, E. **Flora Brasileira: Arecaceae (Palmeiras)**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2010.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; MEDEIROS-COSTA, J. T.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2004.

LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. **Chemico-Biological Interactions**, v. 224, p. 164–175, 2014.

MANHÃES, L. R. T.; SABAA-SRUR, A. U. O. Centesimal composition and bioactive compounds in fruits of buriti collected in Pará. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 4, p. 856–863, 2011.

MARTINS, R. C. **A Família Arecaceae (Palmae) no Estado de Goiás: Florística e Etnobotânica**. 316 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

MCGOWAN, J. E. Editorial Commentary: Minimizing Antimicrobial Resistance: The Key Role of the Infectious Diseases Physician. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 7, p. 939–942, 2004.

MCNULTY, H.; JACOB, R. F.; MASON, R. P. Biologic Activity of Carotenoids Related to Distinct Membrane Physicochemical Interactions. **American Journal of Cardiology**, v. 101, n. 10 SUPPL., p. 20–29, 2008.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 193–201, 2008.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios a saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 14, 2006.

MORAIS, M. L.; SILVA, A. C. R.; ARAÚJO, C. R. R.; ESTEVES, E. A.; DESSIMONI-PINTO, N. A. V. Determinação do potencial antioxidante *in vitro* de frutos do Cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 355–360, 2013.

OLIVEIRA, A. C.; SILVA, R. S. Desafios do cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 10, n. 1, p. 189–197, 2008.

OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: characterization, natural sources, extraction and

analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10–36, 2015.

RIBEIRO, A. H. **O Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f .) na Terra Indígena Araçá , Roraima: usos tradicionais , manejo e potencial produtivo**. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Florestas Tropicais) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2010.

RIBEIRO, E. M. G. A.; BAPTISTEL, A. C.; LINS NETO, E. M. F.; MONTEIRO, J. M. Conhecimento etnobotânico sobre o buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) em comunidades rurais do município de Currais, Sul do Piauí, Brasil. **Gaia Scientia**, v. 8, n. 2, p. 28–35, 2014.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, v. 34, n. SUPPL. 2, p. 105–110, 2002.

RODRIGUES, F. P. M. Importância dos radicais livres de oxigênio no período neonatal. **Jornal de Pediatria**, v. 74, p. 91–98, 1998.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53–60, 2007.

SAMPAIO, M. B. **Boas Práticas de Manejo para o Extrativismo Sustentável do Buriti**. Brasília-DF: Instituto Sociedade, População e Natureza, 2011.

SAMPAIO, M. B.; CARAZZA, L. R. **Aproveitamento Integral do Fruto e da Folha do Buriti (*Maurita flexuosa*)**. 1ª ed. Brasília-DF: Instituto Sociedade, População e Natureza, 2012.

SANDER, N. L. **Estrutura, composição florística e etnobiologia de um buritizal na fronteira biológica Amazônia- cerrado**. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade do Estado de Mato Grosso, Cáceres, 2014

SANTOS, L. M. P. Nutritional and ecological aspects of buriti or aguaje (*Mauritia flexuosa* Linnaeus filius): A carotene-rich palm fruit from Latin America. **Ecology of Food and Nutrition**, v. 44, n. 5, p. 345–358, 2005.

SANTOS, R. S.; COELHO-FERREIRA, M. Estudo etnobotânico de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) em comunidades ribeirinhas do Município de Abaetetuba, Pará, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 42, n. 1, p. 1–10, 2012.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos,

carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 31, n. 3, p. 669–682, 2010.

SILVA, M. R.; LACERDA, D. B. C. L.; SANTOS, G. G.; MARTINS, D. M. O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1790–1793, 2008.

SILVEIRA, G. P.; NOME, F.; GESSER, J. C.; SÁ, M. M.; TERENCEZI, H. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 844-855, 2006.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351–355, 2007.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**, v. 37, n. 2, p. 127–135, 2003.

THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 1, p. 1–20, 2016.

VAQUERO, M. J. R.; FERNÁNDEZ, P. A. A.; NADRA, M. C. M.; SAAD, A. M. S. Phenolic compound combinations on *Escherichia coli* viability in a meat system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 10, p. 6048–6052, 2010.

VIDAL, A. M.; DIAS, D. O.; MARTINS, E. S. M.; OLIVEIRA, R. S.; NASCIMENTO, R. M. S.; CORREIA, M. G. S. A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 15, p. 43–52, 2012.

VIEIRA, R. F.; COSTA, T. S. A.; SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M. **Frutas Nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. 1^a. ed. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006.

WALZEM, R. L. Functional Foods. **Food Science and Technology**, v. 15, p. 518, 2004.

ZIMERMAN, R. A. Uso Indiscriminado de Antimicrobianos e Resistência Microbiana. **HÓRUS – Sistema Nacional de Gestão da Assistência Farmacêutica**, v. 3, p. 1–15, 2010.

CAPITULO 1

Análise química e avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana de frações da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* L. f.

Manuscrito submetido para publicação no periódico: Industrial Crops and Products.

1 **Análise química e avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana de frações da**
2 **polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* L. f.**

3

4 Carla de Fatima Alves Nonato^{a,b}, Debora Odília Duarte Leite^b, Rafael Caldas Pereira^b, Henrique
5 Douglas Melo Coutinho^{a,c}, Cícero Roberto Nascimento Saraiva^b, Aline Augusti Boligon^d,
6 Jaime Ribeiro-Filho^e, Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues^{b,d}, José Galberto Martins da
7 Costa^{1,2}.

8

9 ^aPrograma de Pós-graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza, Universidade
10 Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

11 ^bDepartamento de Química Biológica, Laboratório de Pesquisas em Produtos Naturais,
12 Universidade Regional do Cariri, 63105-000, Crato, CE, Brasil.

13 ^cLaboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Regional de Cariri, 63105-
14 000, Crato, CE, Brasil.

15 ^dPrograma de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria,
16 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

17 ^eCentro Universitário UniLeão, 63040-005, Juazeiro do Norte, CE, Brasil.

18

19 *Autor correspondente: galberto.martins@gmail.com

20

21 **Resumo:** O consumo de frutos, atualmente, é considerado além do aspecto nutricional, sendo
22 correlacionado como importante indicativo para a promoção da saúde e prevenção de doenças.
23 Este estudo teve como objetivo obter o perfil químico das frações clorofórmio, acetato de etila
24 e etanólica da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa*, bem como quantificar seus compostos
25 fenólicos e avaliar as capacidades antioxidante e antimicrobiana. As quantificações de fenóis e

26 flavonoides totais seguiram os métodos Folin-Ciocalteu e complexação com cloreto de
27 alumínio, respectivamente. Ainda, com uso de amostras padrões foi possível identificar e
28 quantificar ácidos fenólicos e flavonoides por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com
29 detector arranjo de diodo (HPLC-DAD). A capacidade antioxidante foi verificada pelo
30 sequestro dos radicais livres 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) e 2,2'-azinobis (3-
31 etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), poder de redução e quelação de ferro. A
32 atividade antimicrobiana foi determinada pela concentração inibitória mínima e pela ação
33 modulatória de antibióticos. Nas análises químicas foi possível quantificar catequina, ácido
34 cafeico, rutina, orientina, quercetina, apigenina, luteolina e kaempferol. As frações exibiram
35 atividade moderada contra bactérias Gram-positivas e cepas de *Candida*, e apresentaram efeitos
36 sinérgicos e antagônicos sobre os antibióticos analisados, onde o efeito sinérgico mais
37 expressivo foi obtido pela fração clorofórmio sobre a cefotaxima frente a *Bacillus cereus* com
38 redução da concentração inibitória mínima de 1024 µg/mL para 256 µg/mL. Os resultados
39 sugerem o uso potencial dos frutos de *M. flexuosa* como antioxidante e na terapia
40 antimicrobiana, justificada pela presença de compostos com essas atividades reconhecidas.

41

42 **Palavras-chave:** *Mauritia flexuosa*, HPLC, compostos fenólicos, capacidade antioxidante,
43 atividade antimicrobiana, modulação de antibióticos.

44

45 **1. Introdução**

46

47 Ao longo da última década, estudos epidemiológicos têm indicado a importância do
48 consumo de frutas e hortaliças na promoção da saúde e prevenção de doenças crônicas não
49 transmissíveis (Costa et al., 2012). Os chamados alimentos funcionais proporcionam a junção

50 da dieta convencional com a ação dietoterápica funcional, levando em consideração os seus
51 efeitos metabólicos e fisiológicos no organismo (Braga and Barleta, 2017).

52 A proteção exercida pelas frutas e vegetais contra as doenças crônicas-degenerativas
53 tem sido atribuída à presença de várias substâncias antioxidantes, sobretudo para vitaminas,
54 como ácido ascórbico, α -tocoferol e β -caroteno. Todavia, os compostos fenólicos são os
55 principais fitoquímicos presentes nesses alimentos com ação antioxidante (Garcia-Salas et al.,
56 2010; Sucupira et al., 2014). Além da atividade antioxidante, os polifenóis também são
57 reconhecidos por sua atividade antimicrobiana, devido suas estruturas facilitarem a
58 aproximação e absorção destes para dentro da célula, provocando sua ruptura, atuando em
59 vários alvos celulares e não apenas em um sitio de ação específico (Cushnie and Lamb, 2005;
60 Davidson et al., 2005).

61 Dentre os frutos brasileiros, a espécie *Mauritia flexuosa* L. f., conhecida como “buriti”,
62 se destaca devido à variedade de usos, que vão desde o alimentício até o medicinal. O uso dos
63 seus frutos, típicos pelo aroma e sabor peculiar, como fonte alimentar é bastante difundido e
64 gerador de renda, seja *in natura* ou processado nas formas de sucos, doces, óleo, sorvetes, dentre
65 outros (Lorenzi et al., 2004; Sampaio, 2011). Estudos comprovam atividades desta espécie,
66 como quimiopreventiva, fotoprotetora contra radiação UVA e UVB, antitrombótica, bem como
67 hipolipemiante, hipoglicemiante e cicatrizante (Freire et al., 2016).

68 Diante do exposto e visto a importância da compreensão do seu potencial funcional, este
69 estudo teve como objetivo obter o perfil químico, quantificar fenóis e flavonoides totais, bem
70 como avaliar as capacidades antioxidante e antimicrobiana da polpa dos frutos de *Mauritia*
71 *flexuosa* L. f.

72

73 **2. Materiais e métodos**

74

75 2.1. *Material vegetal*

76

77 Os frutos de *Mauritia flexuosa* L. f. foram coletados na Área de Proteção Ambiental -
78 APA da Chapada do Araripe (7°15'33.37"S 39°28'6.95"O) em outubro de 2016, no município
79 de Crato, Ceará, Brazil. Uma exsicata foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de
80 Andrade-Lima – HCDAL da Universidade Regional do Cariri – URCA sob o número de
81 registro #12.620.

82

83 2.2. *Obtenção das frações*

84

85 As frações clorofórmio (FCB), acetato de etila (FAB) e etanólica (FEB) foram obtidas
86 em aparelho Soxhlet. Cerca de 800 g da amostra foi submetida a extrações de 6 a 8 h em cada
87 solvente. A troca de solventes ocorreu em ordem crescente de polaridade e após evaporação
88 completa do anterior. Em seguida as soluções foram concentradas em evaporador rotativo a 50
89 °C e sob pressão reduzida, fornecendo rendimentos de 1,34%, 0,87% e 2,9% (w/w) de FCB,
90 FAB e FEB, respectivamente.

91

92 2.3. *Drogas, reagentes e equipamentos*

93

94 Todos os produtos químicos eram de grau analítico. Acetonitrila, álcool etílico, ácido
95 fórmico, catequina, Folin-Ciocalteu e ácido gálico foram adquiridos da Merck (Darmstadt,
96 Alemanha). Apigenina, rutina, orientina, luteolina, kaempferol, quercetina, DPPH, ácido
97 ascórbico, BHT, ABTS, Trolox, TPTZ e fenantrolina foram adquiridos da Sigma Chemical Co.
98 (St. Louis, MO, EUA). Amicanina, gentamicina, benzilpenicilina, cefotaxima, fluconazol e
99 cetoconazol foram obtidos da Sigma Chemical Co., dissolvidos em água estéril para utilização.

100 A cromatografia líquida de alta performance (HPLC-DAD) foi realizada com um sistema de
101 HPLC Shimadzu Prominence Auto Sampler (SIL-20A) (Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado
102 com bombas alternadas Shimadzu LC-20AT conectadas a um degenerador DGU 20A5 com um
103 integrador CBM 20A, detector de matriz de diodo SPD-M20A e software de solução LC 1.22
104 SP1. As medidas de absorvância em função das concentrações foram realizadas em um
105 espectrofotômetro UV-visível (Thermo Fisher mod. G10S UV-Vis).

106

107 *2.4. Análises químicas*

108

109 *2.4.1. Prospecção química qualitativa*

110 Os testes para a identificação das classes dos metabólitos secundários foram realizados
111 conforme a metodologia de Matos (1997), observando-se mudança de coloração e/ou formação
112 de precipitado após acréscimo de reagentes específicos.

113

114 *2.4.2. Determinação de fenóis e flavonoides totais*

115 A determinação de fenóis seguiu o método de Singleton et al. (1999), onde diluições das
116 frações foram oxidadas pelo reagente Folin–Ciocalteu e neutralizadas com Na₂CO₃. As
117 concentrações usadas variaram de 0,05 a 5,0 µg/mL. A leitura se deu a 765 nm em
118 espectrofotômetro e a análise foi realizada em triplicata. O teor de compostos foi calculado a
119 partir da curva de calibração utilizando Ácido gálico em µg eq. AG/g.

120 A quantificação de flavonoides foi realizada de acordo com a metodologia de Kosalec
121 et al. (2004). Foram utilizadas concentrações que variaram de 1 a 20 µg/mL. Nos tubos
122 contendo as amostras foram adicionados 750 µL de metanol, 40 µL de cloreto de alumínio a 10
123 %, 40 µL de acetato de potássio e 1120 µL de água. A leitura foi realizada em espectrofotômetro
124 a comprimento de onda de 415 nm e o teste em triplicata.

125

126 *2.4.3. Quantificação de compostos fenólicos e flavonoides por HPLC-DAD*

127 As frações de *M. flexuosa* a uma concentração de 12 mg/mL foram injetadas por meio
128 de um modelo automático SIL-20A Shimadzu. As separações foram realizadas utilizando a
129 coluna Phenomenex C18 (tamanho de partícula de 4,6 mm x 250 mm x 5 µm). A fase móvel
130 compreendeu o solvente A [água: ácido fórmico (98:2, v/v)] e solvente B (acetonitrilo), a uma
131 taxa de fluxo de 0.6 mL/min e volume de injeção de 40 µL. O programa de gradiente foi iniciado
132 com 95% de A e 5% de B até 2 min e mudou para obter 25%, 40%, 50%, 70% e 80% B a 10,
133 20, 30, 50 e 70 min, respectivamente, seguindo o método descrito por Irondi et al. (2017), com
134 pequenas modificações. A amostra e a fase móvel foram filtradas através de filtro de membrana
135 de 0.45 µm (Millipore) e depois desgaseificadas por banho ultra-sônico antes da utilização. As
136 soluções de estoque de referências de padrões foram preparadas em uma faixa de concentração
137 de 0,030 a 0,500 mg/mL. As quantificações foram realizadas pela integração dos picos
138 utilizando o método padrão externo, a 280 nm para a catequina; 327 nm para o ácido cafeico; e
139 366 nm para apigenina, luteolina, rutina, quercetina, orientina e kaempferol. Os picos de
140 cromatografia foram confirmados comparando o tempo de retenção com os padrões de
141 referência e os espectros DAD (200 a 600 nm). Todas as operações de cromatografia foram
142 realizadas a temperatura ambiente e em triplicata.

143

144 *2.5. Ensaaios antioxidantes*

145

146 *2.5.1. Sequestro do radical livre DPPH*

147 Foram avaliadas concentrações das frações que variaram de 14 a 1400 µg/mL. Em
148 ambiente escuro, foi transferida uma alíquota de 0,1 mL de cada concentração das frações para
149 tubos de ensaio com 3,9 mL da solução do radical DPPH (0,06 mM). Como controle positivo

150 foi utilizado BHT e ácido ascórbico. As soluções foram incubadas por 30 min ao abrigo da luz
151 e as leituras realizadas em espectrofotômetro a 515 nm (Rufino et al. (2007)). Os resultados
152 foram analisados através de regressão linear e a partir desta se obteve a CI_{50} .

153

154 2.5.2. *Captura do radical livre ABTS*

155 As concentrações avaliadas variaram de 14 a 1400 $\mu\text{g/mL}$. Ao abrigo da luz, transferiu-
156 se uma alíquota de 30 μL de cada concentração para tubos de ensaio com 3,0 mL do radical
157 $ABTS^{*\cdot}$. A leitura ocorreu em espectrofotômetro a 734 nm, após 6 min de reação. Trolox foi
158 usado como controle positivo e metanol como branco (Rufino et al., 2007b). Para se obter a
159 atividade antioxidante total, foi substituído na equação da reta do gráfico das absorbâncias
160 aquela equivalente a 1000 μM do padrão Trolox.

161

162 2.5.3. *FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)*

163 O reagente FRAP foi obtido pela mistura de 25 mL de tampão acetato (0,3 M), 2,5 mL
164 de uma solução de TPTZ (10 mM) e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico (20 mM).
165 Foi transferida uma alíquota de 90 μL de cada concentração (14-1400 $\mu\text{g/mL}$) para tubos de
166 ensaio, assim como 270 μL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP, mantendo em banho
167 de aquecimento a 37 °C. A leitura se deu após 30 min de reação a 595 nm em espectrofotômetro.
168 O reagente FRAP foi usado como branco e sulfato ferroso como controle positivo (Rufino et
169 al., 2006). Obteve-se a atividade antioxidante total substituído na equação da reta das
170 absorbâncias aquela equivalente a 1000 μM do padrão sulfato ferroso.

171

172 2.5.4. *Atividade quelante do íon Fe^{2+}*

173 A capacidade de quelação foi medida pelo método proposto por Puntel et al. (2005),
174 com adaptações. Foram adicionadas 100 μL de cada concentração (14-1400 $\mu\text{g/mL}$) com 300

175 μL da solução de FeSO_4 (2 mM) e 336 μL TRIS-HCl 1,0 M (pH 7,4). As soluções teste foram
176 incubadas ao abrigo da luz por 5 min. Após esse período, adicionou-se 26 μL de Fenantrolina
177 (0,25 %). A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 510 nm. O branco foi preparado sem
178 a adição da amostra e pela ausência de incubação.

179

180 2.6. Ensaaios antimicrobianos

181

182 2.6.1. Determinação da concentração inibitória mínima – CIM

183 A atividade antimicrobiana foi testada pelo método de microdiluição com base no
184 documento M7-A10 (CLSI, 2015). O ensaio foi realizado com quatro linhagens bacterianas:
185 *Bacillus cereus* INCQS 00303, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC
186 25922 e *Salmonella choleraesuis* INCQS 00038, e três linhagens fúngicas: *Candida albicans*
187 INCQS 40006, *Candida krusei* INCQS 40095 e *Candida tropicalis* INCQS 40042.

188 As frações foram diluídas com água destilada estéril e dimetilsulfóxido (1024 $\mu\text{g}/\text{mL}$).
189 Seguiram-se diluições seriadas através da adição aos poços contendo a suspensão, atingindo
190 concentrações no intervalo de 512 a 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$. O teste foi realizado em triplicata e a placa
191 incubada a 35 ± 2 °C por 24 h. A leitura foi realizada por colorimetria pela adição de 25 μL de
192 solução de resazurina (0,01%) a cada poço após a incubação. A concentração inibitória mínima
193 (CIM) foi definida como a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento dos
194 microrganismos.

195

196 2.6.2. Avaliação da modulação por contato direto

197 Para analisar a ação do extrato como potencializador de antibióticos da classe dos
198 aminoglicosídeos (amicacina e gentamicina) e dos beta-lactâmicos (benzilpenicilina e
199 cefotaxima) para bactérias, e dos azólicos (fluconazol e cetoconazol) para fungos, seguiu-se a

200 metodologia proposta por Coutinho et al. (2008). Foram usadas as linhagens bacterianas
201 *Bacillus cereus* INCQS 00303 e *Salmonella choleraesuis* INCQS 00038, e as cepas fúngicas
202 *Candida albicans* INCQS 40006, *Candida krusei* INCQS 40095 e *Candida tropicalis* INCQS
203 40042. O teste foi realizado na presença e ausência das frações dos frutos de *M. flexuosa*.

204 Os inóculos (CIM/8) em meio de cultura específico a 10% foram distribuídos em placas
205 de microdiluição seguidos da adição de concentrações das soluções de antibióticos (1024
206 µg/mL) através de diluição seriada. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 h e a leitura
207 realizada por colorimetria pela adição de 25 µL de solução de resazurina (0,01%).

208

209 2.7. *Análise estatística*

210

211 As diferenças entre os grupos de HPLC e os resultados dos ensaios antioxidantes foram
212 avaliadas através de um modelo de análise de variância e teste de Tukey. Os resultados
213 microbiológicos foram analisados através de ANOVA bidirecional seguido pelo teste de
214 Bonferroni utilizando o software GraphPad Prism 6.0. Os resultados com $P < 0,05$ foram
215 considerados como estatisticamente significativos.

216

217 3. Resultados e discussão

218

219 3.1. *Análises químicas*

220

221 3.1.1. *Prospecção química qualitativa*

222 A prospecção química permitiu identificar várias classes de metabólitos secundários
223 (Tabela 1), como, por exemplo, os flavonoides que proporcionam efeitos benéficos a saúde,
224 sendo encontrados em frutas, vegetais e bebidas, como chás e vinhos (Nijveldt et al., 2001).

225 Estes apresentam atividades biológicas reconhecidas, como antiateroscleróticos,
 226 antiinflamatórios, antitrombogênicos, antiosteoporóticos, assim como antidiabetogênicos,
 227 antivirais, hepatoprotetores, antiulcerosos e vasorelaxantes (Agrawal, 2011; Tapas et al., 2008).

228

229 **Tabela 1.** Classes de metabólitos secundários identificados nas frações da polpa dos frutos de
 230 *M. flexuosa*.

Frações	Classe de metabólitos secundários														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
FCB	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
FAB	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
FEB	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

231 1: Fenóis; 2: Taninos pirogálicos; 3: Taninos condensados; 4: Antocianinas; 5: Antocianidinas;
 232 6: Flavonas; 7: Flavonóis; 8: Xantona; 9: Chalconas; 10: Auronas; 11: Flavononóis; 12:
 233 Leucoantocianidinas; 13: Catequinas; 14: Flavononas; 15: Alcaloides. (+) presente; (-) ausente.

234

235 3.1.2. Determinação de fenóis e flavonoides totais

236 A composição flavonoídica mostrou-se significativamente diferente entre a fração
 237 clorofórmio e as demais frações, onde esta foi aproximadamente duas vezes menor que as
 238 frações acetato de etila e etanólica, que se mantiveram correlatas. Já para o teor de fenóis, as
 239 concentrações apresentadas foram pouco variáveis entre frações, tendo a acetato de etila exibido
 240 uma taxa maior desses compostos quando comparado com as restantes. O conteúdo de fenóis e
 241 flavonoides está mostrado na Tabela 2.

242 As quantificações dos teores de compostos fenólicos e flavonoides são relevantes devido
 243 à atividade antioxidante de vários extratos vegetais serem atribuídas à presença desses
 244 compostos, especialmente os flavonoides (Sousa et al., 2015). Além disso, as estruturas desses

245 compostos permitem sua ação contra microrganismos através de complexação com proteínas
 246 extracelulares e solúveis, podendo romper as membranas microbianas, bem como por inibição
 247 enzimática (Cowan, 1999; Cushnie and Lamb, 2005).

248

249 **Tabela 2.** Valores de fenóis e flavonoides totais obtidos nas frações da polpa dos frutos de *M.*
 250 *flexuosa*.

Frações	Fenóis ($\mu\text{g eq. AG/g}$)	Flavonoides ($\mu\text{g eq. Q/g}$)
FCB	22,51 \pm 0,31a	5,99 \pm 0,07a
FAB	26,84 \pm 0,09b	11,82 \pm 0,02b
FEB	22,69 \pm 0,04a	12,47 \pm 0,00b

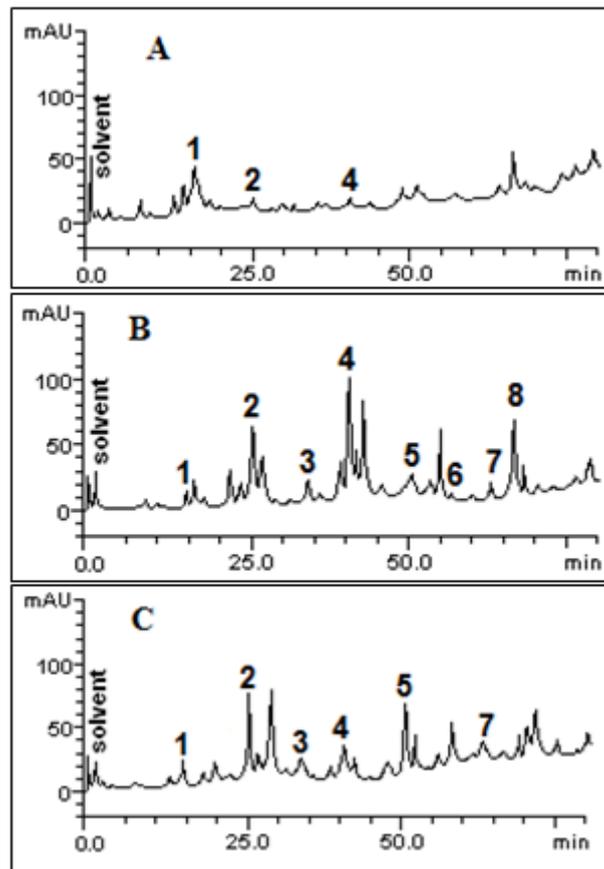
251 Os resultados são expressos como média \pm desvios-padrão (n=3). As médias seguidas por
 252 diferentes letras diferem pelo teste de Tukey com $p < 0,05$.

253

254 3.1.3. Quantificação de compostos fenólicos e flavonoides por HPLC-DAD

255 Os perfis cromatográficos das frações nas análises em HPLC estão representados na
 256 Figura 1. As amostras contêm outros compostos, além da catequina (tempo de retenção -tR =
 257 14,27 min, pico 1), ácido cafeico (tR = 24,93 min, pico 2), rutina (tR = 33,81 min, pico 3),
 258 orientina (tR = 41,07 min, pico 4), quercetina (tR = 52,09 min, pico 5), apigenina (tR = 56,38
 259 min, pico 6), luteolina (tR = 64,11 min, pico 7) e kaempferol (tR = 67,02 min, pico 8).

260



261

262 **Figura 1.** Representação do perfil da cromatografia líquida de alto desempenho das frações
263 clorofórmio (A), acetato de etila (B) e etanólica (C) da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa*.
264 Catequina (pico 1), ácido cafeico (pico 2), rutina (pico 3), orientina (pico 4), quercetina (pico
265 5), apigenina (pico 6), luteolina (pico 7) e kaempferol (pico 8).

266

267 A análise revelou variabilidade entre os valores totais e individuais de cada composto,
268 analisado de acordo com cada fração. Estruturalmente, os polifenóis são determinados como
269 compostos que possuem anel benzênico com um ou mais substituintes hidroxílicos (Angelo and
270 Jorge, 2007). Tomando como base as estruturas químicas dos padrões fenólicos utilizados neste
271 estudo (Figura 2), justifica-se de o fato de que estas substâncias estão relacionadas diretamente
272 com a complexação de íons metálicos, proteínas e polissacarídeos, bem como ao sequestro de
273 radicais livres (Pereira and Cardoso, 2012).

274 As análises cromatográficas realizadas permitem informar que os principais compostos
 275 fenólicos identificados nas amostras foram orientina ($5,29 \pm 0,01 - 0,13 \pm 0,02$ mg/g), ácido
 276 cafeico ($3,96 \pm 0,03 - 0,16 \pm 0,01$ mg/g) e quercetina ($3,87 \pm 0,05 - 1,84 \pm 0,05$ mg/g). Na
 277 fração acetato de etila foi possível quantificar todos os padrões utilizados na análise, enquanto
 278 que na fração etanólica não houve quantificação de apigenina e kaempferol e, na fração
 279 clorofórmio apresentou apenas catequina, ácido cafeico e orientina (Tabela 3).

280

281 **Tabela 3.** Componentes das frações da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa*.

Compostos	FCB (mg/g)	FAB (mg/g)	FEB (mg/g)
Catequina	$2,27 \pm 0,04a$	$0,35 \pm 0,01a$	$1,43 \pm 0,02a$
Ácido cafeico	$0,16 \pm 0,01b$	$3,72 \pm 0,04b$	$3,96 \pm 0,03b$
Rutina	-	$1,46 \pm 0,03c$	$1,71 \pm 0,01c$
Orientina	$0,13 \pm 0,02b$	$5,29 \pm 0,01d$	$1,85 \pm 0,01c$
Quercetina	-	$1,84 \pm 0,05e$	$3,87 \pm 0,05b$
Apigenina	-	$0,15 \pm 0,02f$	-
Luteolina	-	$0,42 \pm 0,02a$	$1,47 \pm 0,04a$
Kaempferol	-	$3,69 \pm 0,01b$	-

282 Os resultados são expressos como média \pm desvios-padrão (n=3). As médias seguidas por
 283 diferentes letras diferem pelo teste de Tukey em $p < 0,05$.

284

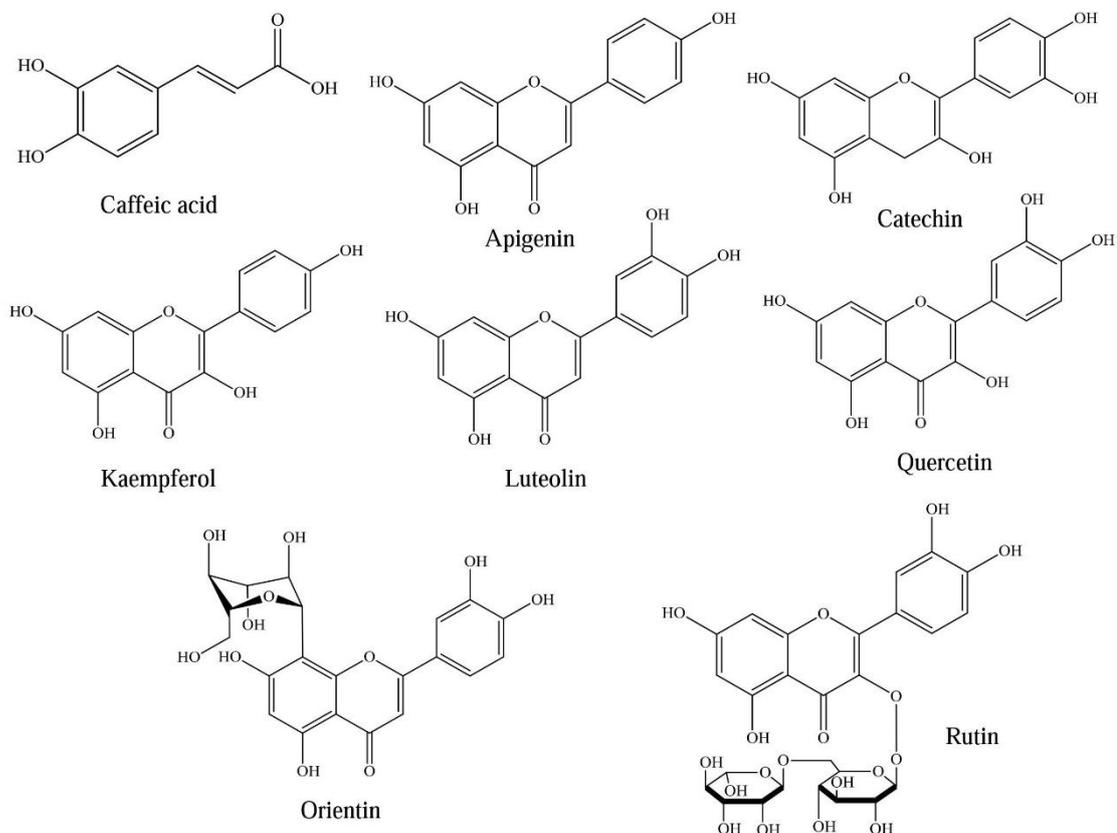
285 O teor de ácido cafeico mostrou-se significativamente semelhante nas frações acetato
 286 de etila e etanólica, com valores de $3,72 \pm 0,04$ mg/g e $3,96 \pm 0,03$ mg/g, respectivamente.
 287 Todavia na fração clorofórmio ele foi encontrado em baixo teor, com valor de $0,16 \pm 0,01$ mg.
 288 A orientina apresentou-se em quantidade significante para a fração acetato de etila, com valor
 289 de $5,29 \pm 0,01$ mg/g, porém nas demais frações exibiu valores expressivamente mais baixos,
 290 com $1,85 \pm 0,01$ mg/g para a etanólica e $0,13 \pm 0,02$ mg/g para a clorofórmio.

291 Para a quercetina, os valores foram significativamente diferentes entre as frações
 292 etanólica e acetato de etila, com valores de $3,87 \pm 0,05$ mg/g e $1,84 \pm 0,05$ mg/g, nessa ordem,

293 no entanto não se obteve conteúdo para a fração clorofórmio. O kaempferol foi identificado
 294 apenas na fração acetato de etila, com teor de $3,69 \pm 0,01$ mg/g.

295 Os resultados mostram diferentes concentrações dos compostos para cada fração.
 296 Discrepâncias entre o conteúdo fenólico de uma mesma amostra pode estar relacionado a
 297 mudança na polaridade do solvente, pois esta modifica a capacidade de extrair um grupo
 298 específico de compostos (Milanez et al., 2018; Najjaa et al., 2011).

299



300

301 **Figura 2.** Representações estruturais dos compostos fenólicos detectados nas frações da polpa
 302 dos frutos de *Mauritia flexuosa*.

303

304 A orientina é um flavonoide C-glicosídeo, obtido através da glicosilação da luteolina
 305 (Luteolina-8-C-glicosídeo). Estudos relatam a presença desses compostos em outras espécies
 306 da família Arecaceae (Finco et al., 2012; Hassanein et al., 2015; Heinrich et al., 2011; Kassem

307 et al., 2012; Oliveira et al., 2013; Yao et al., 2012). Este flavonoide é reconhecido por apresentar
 308 atividades biológicas, tais como antioxidante, anti-adipogênico, antitrombótica, anti-
 309 inflamatório, bem como proteção contra radiação e inibidora da agregação plaquetária (Devi et
 310 al., 2000; Kim et al., 2010; Lee and Bae, 2015; Praveena et al., 2014; Yoo et al., 2014).

311

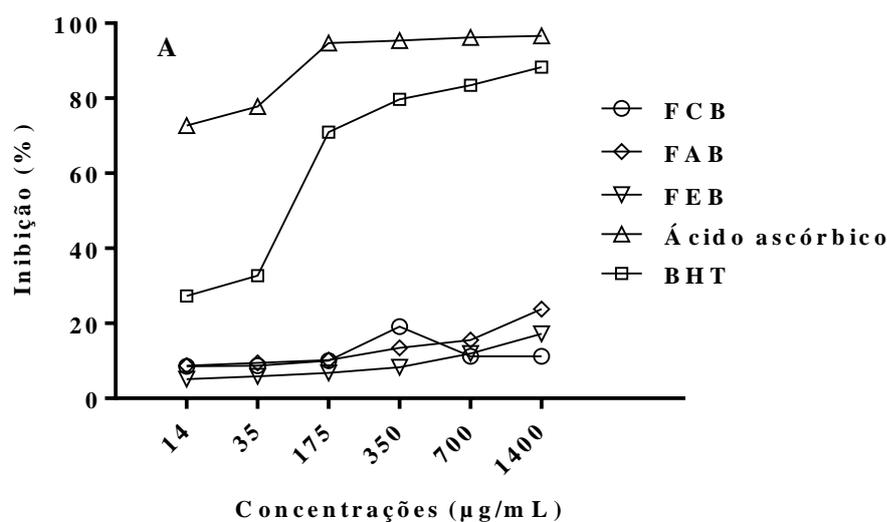
312 3.2. Ensaio antioxidantes

313

314 3.2.1. Sequestro do radical livre DPPH

315 No ensaio do potencial de redução do radical livre DPPH, as frações mostraram
 316 capacidade de doação de hidrogênio, no entanto a ação se mostrou pouco variada entre as
 317 amostras, conforme pode ser observada na Figura 3. Os resultados mostram que a atividade
 318 aumentou na seguinte ordem: FAB > FCB > FEB, não tendo estas ultrapassado o percentual
 319 máximo de redução de aproximadamente 24%, estando bem abaixo dos percentuais obtidos
 320 para os controles positivos (ácido ascórbico e BHT), de 96% e 88%, respectivamente.

321



322

323 **Figura 3.** Atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH das frações da polpa
 324 dos frutos de *M. flexuosa* e dos controles positivos ácido ascórbico e BHT.

325

326 Considerando os controles positivos, as frações obtiveram IC₅₀ significativamente
 327 moderadas. A fração etanólica obteve IC₅₀ expressivamente mais baixa entre as frações, seguida
 328 pela fração clorofórmio e acetato de etila, nessa ordem. A concentração redutora de 50% de
 329 DPPH de FEB foi apenas 3,3 vezes menor que a do BHT, contudo quando comparado ao do
 330 ácido ascórbico demonstrou atividade 27,5 vezes mais baixa. Os valores para IC₅₀ obtidas para
 331 as frações da polpa de *M. flexuosa* estão apresentados na Tabela 4.

332 Estudos mostram a correlação diretamente proporcional entre atividade antioxidante e
 333 teor de compostos fenólicos, porém pode haver interações sinérgicas e antagônicas entre esses
 334 compostos que influenciam a atividade antioxidante de amostras alimentares (Almeida et al.,
 335 2011; Hidalgo et al., 2010; Santos et al., 2015). Outros trabalhos também reportam que a
 336 existência de compostos fenólicos não indica essencialmente relevante atividade antioxidante
 337 (Koolen et al., 2013; Milanez et al., 2018).

338

339 **Tabela 4.** Valores de IC₅₀ das frações da polpa dos frutos de *M. flexuosa* e dos controles
 340 positivos (ácido ascórbico e BHT) para redução do radical livre DPPH.

Amostras	IC ₅₀ (µg/mL)
FCB	73,93± 1,84a
FAB	87,69± 2,21a
FEB	59,17± 0,90b
Ácido ascórbico	2,15± 0,05c
BHT	17,46± 2,10d

341 Os resultados são expressos como média ± desvios-padrão (n=3). As médias seguidas por
 342 diferentes letras diferem pelo teste de Tukey em p <0.05.

343

344 Tauchen et al. (2016), estudando a atividade antioxidante de 23 plantas comestíveis e
 345 medicinais, mostrou que o “buriti” obteve o maior poder de redução do DPPH dentre as espécies
 346 em estudo, onde o mesocarpo apresentou ação moderada de $130,8 \pm 15,4 \mu\text{g TE/mg}$,
 347 corroborando com os resultados desse estudo.

348

349 3.2.2. Captura do radical livre ABTS

350 A Tabela 5 mostra os resultados obtidos para as frações expressos em $\mu\text{M trolox/g}$
 351 amostra. As frações mostraram diferença significativa em relação à capacidade de capturar o
 352 radical ABTS, sendo o melhor desempenho observado para FCB, seguido por FEB e FAB,
 353 nessa ordem.

354 As frações do “buriti” demonstraram capacidade antioxidante superior a outros frutos
 355 também tradicionalmente importantes da família Arecaceae, tais como: o açaí (*Euterpe*
 356 *oleracea* Mart.), a carnaúba (*Copernicia prunifera* (Mill.) H.E. Moore) e a juçara (*Euterpe*
 357 *edulis* Mart.), onde relatos da literatura indicam teores de $15,1 \pm 4,1 \mu\text{M Trolox/g}$, $10,7 \pm 0,2$
 358 $\mu\text{M Trolox/g}$ e $78,3 \pm 13,3 \mu\text{M Trolox/g}$, respectivamente (Rufino et al., 2010).

359

360 **Tabela 5.** Valores da atividade antioxidante das frações da polpa dos frutos de *M. flexuosa* pela
 361 captura do radical livre ABTS.

Amostras	AA ($\mu\text{M trolox/g}$)
FCB	$83,17 \pm 3,23\text{a}$
FAB	$23,39 \pm 0,10\text{b}$
FEB	$43,65 \pm 0,12\text{c}$

362 Os resultados são expressos como média \pm desvios-padrão (n=3). As médias seguidas por
 363 diferentes letras diferem pelo teste de Tukey em $p < 0.05$.

364

365 Almeida et al. (2011) reportaram a atividade antioxidante de 11 frutos frescos do
 366 nordeste brasileiro pelo método de captura do ABTS, obtendo teores de $15,73 \pm 0,01$ a $0,63 \pm 0,01$
 367 μM Trolox/g. Os valores obtidos nesse estudo para as frações do “buriti” foram maiores que os
 368 teores relatados para estes 11 frutos, que são considerados com boa capacidade antioxidante.

369

370 3.2.3. FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

371 A atividade antioxidante foi medida pela capacidade da amostra reduzir Fe^{3+} -TPTZ em
 372 Fe^{2+} -TPTZ. A fração etanólica apresentou maior atividade de redução quando comparado às
 373 demais frações, que foram significativamente semelhantes (Tabela 6). As frações que
 374 apresentaram os maiores índices de redução foram as mesmas que apresentaram os maiores
 375 índices de polifenóis nas análises químicas.

376 A eficácia antioxidante determinada pelo método de FRAP depende dos potenciais
 377 redox dos compostos em estudo, caracterizados pela complexidade de suas moléculas, bem
 378 como a capacidade de redução de polifenóis depende do nível de hidroxilação e extensão da
 379 conjugação destes (Pulido et al., 2000).

380

381 **Tabela 6.** Valores da atividade antioxidante das frações da polpa dos frutos de *M. flexuosa* pela
 382 redução do ferro (FRAP).

Amostras	AA (μM $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$)
FCB	$17,42 \pm 0,83\text{a}$
FAB	$19,22 \pm 0,11\text{a}$
FEB	$23,53 \pm 0,01\text{b}$

383 Os resultados são expressos como média \pm desvios-padrão (n=3). As médias seguidas por
 384 diferentes letras diferem pelo teste de Tukey em $p < 0.05$.

385

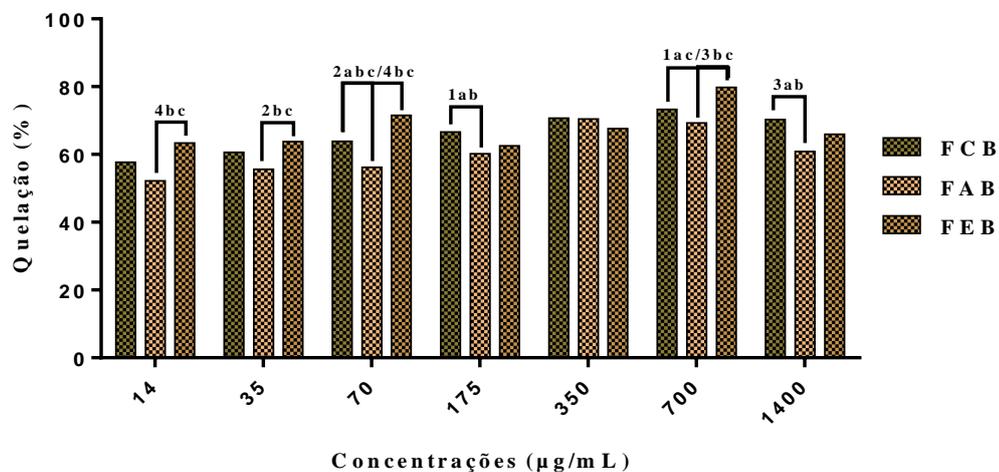
386 Quando comparadas a outros frutos de Arecaceae, as frações da polpa do “buriti” tem
 387 um poder de redução do ferro moderado, onde mostra atividade superior à da “carnaúba”
 388 (*Copernicia prunifera* (Mill.) H.E. Moore) e aproximada ao do “açai” (*Euterpe oleracea* Mart.)
 389 e da “babaca” (*Oenocarpus bacaba* Mart.), no entanto demonstra capacidade inferior a “juçara”
 390 (*Euterpe edulis* Mart.), ao “coco” (*Cocos nucifera* L.), bem como aos extratos clorofórmio e
 391 acetato de etila da “tâmara” (*Phoenix loureirii* Kunth) (Chakraborty and Mitra, 2008; Finco et
 392 al., 2012; Murugan et al., 2016; Rufino et al., 2010).

393

394 3.2.4. Atividade quelante do ion Fe^{2+}

395 Um acúmulo excessivo de ferro pode tornar-se extremamente tóxico tanto por sua
 396 capacidade de originar espécies reativas de oxigênio quanto pela ausência de regulação para a
 397 excreção de ferro em seres humanos (Nurchi et al., 2016). As frações estudadas neste trabalho
 398 apresentaram alta atividade quelante, onde a resposta foi dependente de concentração (14-700
 399 $\mu\text{g/mL}$) com diferença significativa entre as mesmas concentrações das diferentes amostras
 400 (Figura 4). De forma geral, a resposta entre frações não ocorreu com variação expressiva, com
 401 percentual máximo de 78,2% para FCB, de 72,9% para FAB e 80,9% para FEB.

402



403

404 **Figura 4.** Efeitos da quelação de ferro para as frações da polpa de *M. flexuosa*. Os valores são
405 expressos como média \pm desvio padrão (n= 3). FCB (a), FAB (b) e FEB (c). Os números 1-4
406 expressam a significância entre as frações na mesma concentração. 1: p <0,05, 2: p <0,01, 3: p
407 <0,001 e 4:p <0,0001, (ANOVA e teste de Tukey).

408

409 Estudos relacionam a atividade quelante com a composição fenólica das amostras
410 (Loizzo et al., 2012; Tauchen et al., 2016). A estrutura dos compostos fenólicos, como nos
411 ácidos fenólicos e flavonoides, é decisivo para a atividade de eliminação radical e quelante de
412 metais, onde sua atividade depende dos números e posições dos grupos hidroxilo em relação ao
413 grupo funcional carboxilo (Garcia-Salas et al., 2010; Tapas et al., 2008).

414 De acordo com Loganayaki and Manian (2010), antioxidantes primários previnem o
415 início e propagação de reações em cadeia oxidativa neutralizando radicais livres, e os
416 antioxidantes secundários atuam suprimindo o dano oxidativo pela inibição da formação de
417 radical. Assim, as frações da polpa dos frutos de *M. flexuosa* podem agir tanto como
418 antioxidantes primários como secundários por exibirem atividade antioxidante tanto pela
419 inibição de radicais livres quanto pela quelação de ferro.

420

421 3.3.Ensaio antimicrobianos

422

423 3.3.1. Determinação da concentração inibitória mínima – CIM

424 Em relação aos ensaios antibacterianos, as frações apresentaram CIM \geq 1024 $\mu\text{g/mL}$
425 para todas as cepas testadas, exceto para *Bacillus cereus* (INCQS 00303), onde as frações
426 acetato de etila e etanólica apresentaram CIM de 426,66 $\mu\text{g/mL}$, o que demonstra atividade
427 moderada (Holetz et al., 2002). Sobre a atividade antifúngica, todas as frações mostraram CIM

428 de 512 $\mu\text{g/mL}$, contra todas as linhagens testadas, o que também aponta atividade moderada
429 por $\text{CIM} \leq 256 \mu\text{g/mL}$ expressarem níveis clinicamente relevantes (Matias et al., 2015).

430 As frações que apresentaram $\text{CIM} \geq 1024 \mu\text{g/mL}$ não apresentam efeito relevante do
431 ponto de vista clínico, devido concentrações acima de 1000 $\mu\text{g/mL}$ necessitarem de dosagem
432 alta do produto natural para atingir essa concentração em níveis plasmáticos (Houghton et al.,
433 2007).

434

435 **Tabela 7.** Concentração inibitória mínima das frações da polpa dos frutos de *M. flexuosa* frente
436 a cepas padrões bacterianas e fúngicas.

Microrganismos testados	CIM ($\mu\text{g/mL}$)		
	FCB	FAB	FEB
<i>Bacillus cereus</i> INCQS 00303	≥ 1024	426,66	426,66
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024
<i>Salmonella choleraesuis</i> INCQS 00038	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024
<i>Candida albicans</i> INCQS 40006	512	512	512
<i>Candida krusei</i> INCQS 40095	512	512	512
<i>Candida tropicalis</i> INCQS 40042	512	512	512

437 ATCC: American Type Culture Collection; INCQS: Instituto Nacional de Controle de
438 Qualidade em Saúde.

439

440 Os compostos fenólicos também são reconhecidos por sua atividade antimicrobiana,
441 podendo estes interagir com as proteínas de membrana através de ligação de hidrogênio por
442 meio dos seus grupos hidroxilo, podendo causar alterações na permeabilidade da membrana e
443 consequentemente destruição celular (Oussaid et al., 2017; Tapas et al., 2008).

444 As frações em estudo mostraram maior efetividade contra bactérias Gram-positivas, o
445 que vai de acordo com a literatura que relata maior susceptibilidade dessas bactérias a extratos
446 vegetais, devido as Gram-negativas possuírem membrana que envolve a parede celular, o que
447 limita a difusão de compostos hidrofóbicos através da cobertura de lipopolissacarídeos (Murari
448 et al., 2008; Tian et al., 2009).

449 Koolen et al. (2013) testando o potencial antibacteriano de extrato metanólico dos
450 frutos, folhas e caule do “buriti” demonstrou atividade moderada frente a cepas de
451 *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), em concentrações variando de 50 a 100 µg/mL. No
452 trabalho realizado por Chakraborty and Mitra (2008), com o mesocarpo de *Cocos nucifera*
453 (Arecaceae) ficou demonstrado forte atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*,
454 o que corrobora com os resultados obtidos nesse estudo.

455 Apesar dos avanços na prevenção, diagnóstico e terapia, as infecções fúngicas invasivas
456 ainda causam mortalidade e morbidade expressivas em pacientes imunocomprometidos, o que
457 torna a resistência antifúngica uma condição preocupante (Kanafani and Perfect, 2008).
458 Todavia, a terapia dessas infecções ainda é limitada a três classes antimicóticas (azólicos,
459 equinocandinas e polienos) e estas apresentam fortes efeitos tóxicos, o que ressalta a
460 importância da busca por novos agentes antifúngicos (Morais-Braga et al., 2016).

461 Em estudos recentes com extratos etanólicos dos frutos de *Adoninia merrilli* e
462 *Archontopheonix tukeri* (Arecaceae) foi possível obter resultados satisfatórios de atividade
463 frente a *C. albicans*, com CIM de 100 µg/mL para ambos os extratos (Essien et al., 2017).
464 Rodrigues et al. (2014) testando atividade anti-Candida de 28 espécies da Amazônia,
465 constataram atividade moderada a alta para três extratos (aquoso, metanólico e diclorometano)
466 do mesocarpo do babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) contra *C. albicans*, *C. glabrata* e *C.*
467 *parapsilosis*, com CIM que variaram de 120 a 500 µg/mL. Esses resultados condizem com os
468 aqui encontrados.

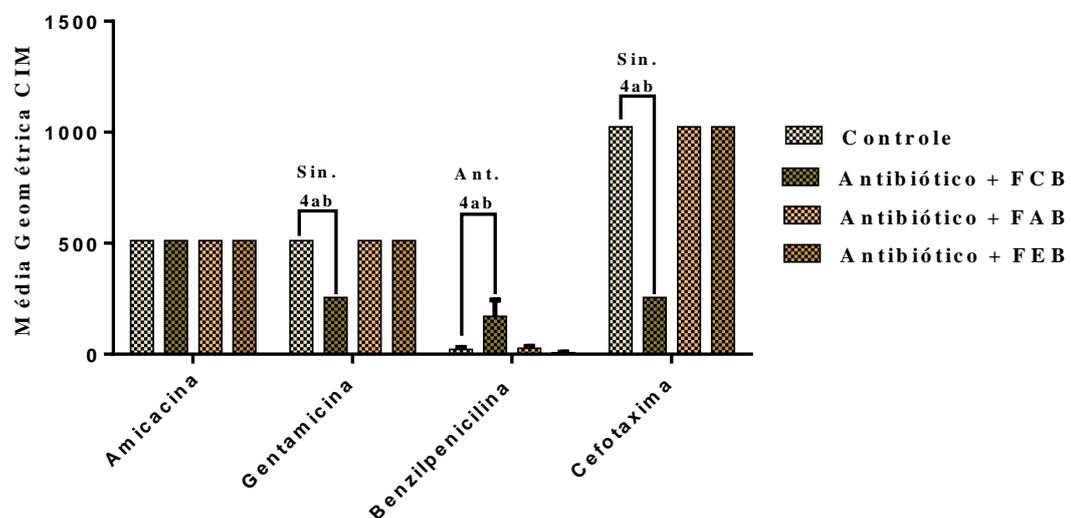
469

470 3.3.2. Avaliação da modulação por contato direto

471 Para a modificação da ação de antibióticos frente a cepas bacterianas, as frações da polpa
 472 dos frutos de *M. flexuosa* mostraram ação tanto sinérgicas quanto antagônicas, conforme pode
 473 ser observado nos dados mostrados nas Figuras 5 e 6. A fração clorofórmio exerceu efeito
 474 sinérgico sobre a gentamicina frente a *B. cereus* e *S. choleraesuis* com diminuição da CIM de
 475 512 µg/mL para 256 µg/mL, bem como sobre a cefotaxima frente a *B. cereus* com redução de
 476 1024 µg/mL para 256 µg/mL, efeito mais expressivo dentre as frações. Por outro lado, a
 477 benzilpenicilina sofreu efeito antagônico frente a *B. cereus* aumentando a CIM de 21,3 µg/mL
 478 para 170.6 µg/mL.

479 Frente a *S. choleraesuis*, FCB reduziu a CIM da amicacina de 512 µg/mL para 170,6
 480 µg/mL, enquanto que FEB diminuiu de 512 µg/mL para 341,3 µg/mL. Sobre a cefotaxima,
 481 frente a *S. choleraesuis*, as três frações mostraram igual efeito sinérgico, diminuindo a CIM de
 482 1024 µg/mL para 512 µg/mL. Ainda, relacionada a benzilpenicilina, frente a mesma bactéria,
 483 apenas FAB e FEB foram sinérgicos, com redução de 1024 µg/mL para 426.6 µg/mL e 512
 484 µg/mL, respectivamente.

485



486

487 **Figura 5.** Efeito modulador de FCB (b), FAB (c) e FEB (d) na atividade antibiótica de
488 amicacina, gentamicina, benzilpenicilina e cefotaxima contra cepa de *Bacillus cereus* (INCQS
489 00303). Controle (a). Os números 1-4 expressam a significância da associação entre fração +
490 antibiótico. Sin: Sinergismo, Ant: Antagonismo, 1: $p < 0,05$, 2: $p < 0,01$, 3: $p < 0,001$ e 4:
491 $p < 0,0001$ (ANOVA e teste de Bonferroni).

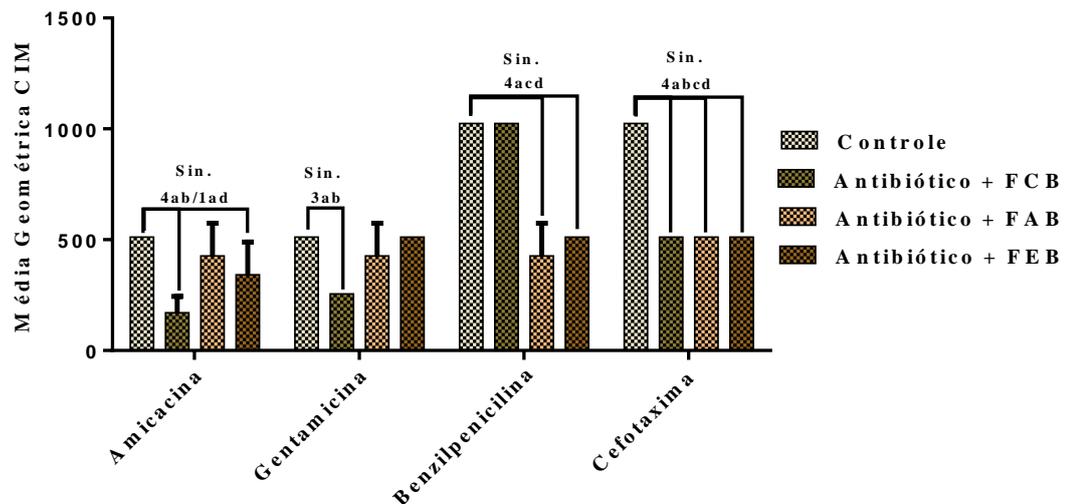
492

493 Pode-se correlacionar os resultados obtidos da ação moduladora com o conteúdo
494 fenólico demonstrado nas frações e, ainda, sustentada por estudos que relatam a ação desses
495 compostos como modificadores de antibióticos. Lima et al. (2016) relataram a atividade
496 modificadora de ácidos fenólicos frente a cepas bacterianas e fúngicas, onde o ácido cafeico
497 apresentou a melhor atividade, potencializando a atividade antibiótica contra todas as cepas
498 testadas. Diniz-Silva et al. (2017) mostraram a atividade de flavonoides de frutos nas formas de
499 aglicona e glicosilados sobre a norfloxacin frente a *Staphylococcus aureus*, onde os
500 flavonoides 3-*O*-glicosídeo como, por exemplo, a hesperetina e a quercetina modularam a
501 resistência dessa cepa.

502 Os aminoglicosídeos, de modo geral, exibem toxicidade celular característica em função
503 da absorção para o meio intracelular, provocando efeitos tóxicos importantes, como
504 nefrotoxicidade, ototoxicidade e bloqueio neuromuscular (Oliveira et al., 2006). A combinação
505 entre essa classe de antibióticos e produtos naturais pode ser uma alternativa para diminuir os
506 seus efeitos colaterais, onde a redução significativa da CIM leva a diminuição da dose
507 terapêutica (Figueredo et al., 2013).

508 Atualmente, a estratégia de conversão dos mecanismos de resistência dos *beta*-
509 lactâmicos é a combinação entre drogas, como a associação entre *beta*-lactamases e inibidores
510 da *beta*-lactamase (Veras et al., 2017). A probabilidade do desenvolvimento de resistência a
511 esse tratamento é alta, assim se faz necessário à busca de estratégias adicionais para superar

512 esses mecanismos, onde os inibidores da bomba de efluxo são opção atrativa como adjuvante
 513 terapêutico (Tang et al., 2014). Isso reafirma a importância da busca por produtos naturais que
 514 alterem, por modulação ou reversão da resistência, a susceptibilidade microbiana a antibióticos
 515 por inibição de bombas de efluxo (Gibbons, 2004).
 516

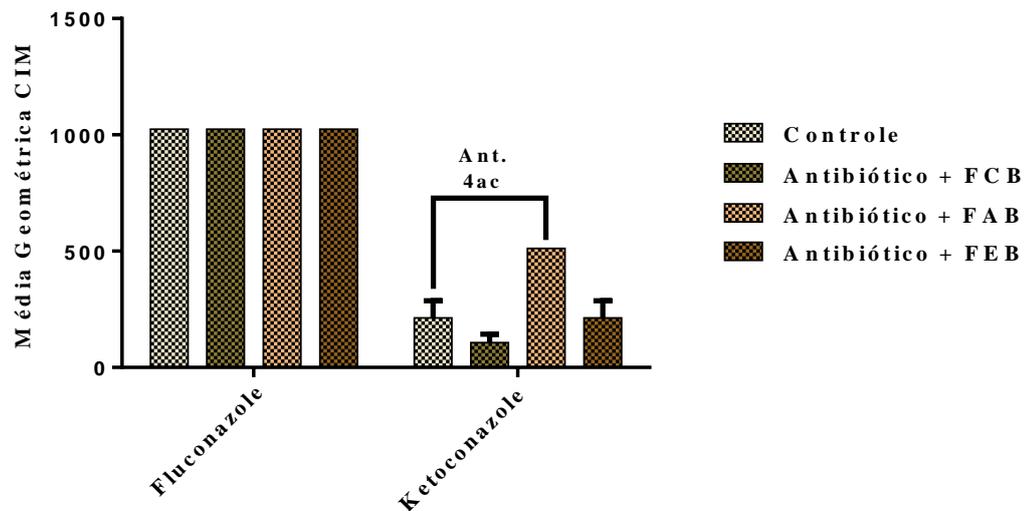


517

518 **Figura 6.** Efeito modulador de FCB (b), FAB (c) e FEB (d) na atividade antibiótica de
 519 amicacina, gentamicina, benzilpenicilina e cefotaxima contra cepa de *Salmonella choleraesuis*
 520 (INCQS 00038). Controle (a). Os números 1-4 expressam a significância da associação entre
 521 fração + antibiótico. Sin: Sinergismo, 1: $p < 0,05$, 2: $p < 0,01$, 3: $p < 0,001$ e 4: $p < 0,0001$,
 522 (ANOVA e teste de Bonferroni).

523

524 Quanto à modificação da ação de antifúngicos, as frações não apresentaram efeito
 525 significativo sobre nenhum dos medicamentos testados frente a *C. albicans* e *C. krusei*. O único
 526 efeito significativo se deu sobre o cetoconazol frente a *C. tropicalis*, onde a fração acetato de
 527 etila demonstrou antagonismo, aumentando a CIM de 213,3 $\mu\text{g/mL}$ para 512 $\mu\text{g/mL}$, como
 528 mostrado na Figura 7. Efeitos antagônicos pela associação de produtos naturais e antibióticos
 529 podem acontecer por meio da quelação mútua dos produtos (Granowitz and Brown, 2008).



530

531 **Figura 7.** Efeito modulador de FCB (b), FAB (c) e FEB (d) na atividade antibiótica de
 532 fluconazol e cetoconazol contra cepa de *Candida tropicalis* (INCQS 40042). Controle (a). Os
 533 números 1-4 expressam o significância da associação entre fração + antibiótico. Ant:
 534 Antagonismo, 1: $p < 0,05$, 2: $p < 0,01$, 3: $p < 0,001$ e 4: $p < 0,0001$ (ANOVA e teste de Bonferroni).

535

536 A constituição de quitina contribui para a resistência mecânica das paredes celulares
 537 fúngicas, que é alvo de ação dos azoles, agindo pela interferência na síntese do ergosterol da
 538 membrana celular destes microrganismos (Merzendorfer, 2006; Pfaller, 2012).

539 Os mecanismos de resistência de *Candida* ao azoles podem ocorrer por quatro
 540 mecanismos, como bombas de efluxo, mutações pontuais na síntese e superexpressão do
 541 ergosterol, bem como mutações que negam a ruptura da membrana, como os caminhos by-pass
 542 (Pfaller, 2012). Esses mecanismos podem explicar a resistência apresentada nesse estudo.

543

544 4. Conclusão

545

546 Os dados obtidos neste trabalho demonstraram que as frações clorofórmica, acetato de
 547 etilo e etanólica obtidas a partir da polpa de frutos de *M. flexuosa* apresentaram atividade

548 antioxidante moderada, atuando tanto como antioxidantes primários e secundários. As frações
549 apresentaram atividade antimicrobiana e potencializadora de antibióticos, mas falharam na
550 modulação da atividade de drogas antifúngicas, indicando que esta planta tem potencial para
551 ser utilizada no desenvolvimento de alternativas terapêuticas contra bactérias resistentes.

552 As frações apresentaram uma constituição rica em compostos fenólicos, especialmente
553 flavonoides, que podem ser responsáveis por suas propriedades farmacológicas *in vitro*.
554 Portanto, os resultados obtidos neste trabalho contribuíram para elucidar as propriedades
555 químicas e biológicas de *M. flexuosa* como fonte potencial de novos compostos bioativos.

556

557 **Referências**

558

559 Agrawal, A.D., 2011. Pharmacological activities of flavonoids: a review. *Int. J. Pharm. Sci.*
560 *Nanotechnol.* 4, 1394–1398. doi:10.1056/NEJM197302222880814

561 Almeida, M.M.B., Sousa, P.H.M., Arriaga, Â.M.C., Prado, G.M., Magalhães, C.E.C., Maia,
562 G.A., Lemos, T.L.G., 2011. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic
563 fruits from northeastern Brazil. *Food Res. Int.* 44, 2155–2159.
564 doi:10.1016/j.foodres.2011.03.051

565 Angelo, P.M., Jorge, N., 2007. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. *Rev.*
566 *Inst. Adolfo Lutz* 66, 1–9.

567 Braga, A.D.A., Barleta, V.C.N., 2017. Alimento Funcional: Uma Nova Abordagem Terapêutica
568 das Dislipidemias como Prevenção da Doença Aterosclerótica. *Cad. UniFOA* 2, 100–120.

569 Chakraborty, M., Mitra, A., 2008. The antioxidant and antimicrobial properties of the
570 methanolic extract from *Cocos nucifera* mesocarp. *Food Chem.* 107, 994–999.
571 doi:10.1016/j.foodchem.2007.08.083

572 CLSI, 2015. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow

- 573 Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition. Wayne, PA.
- 574 Costa, L.C.F., Vasconcelos, F.A.G., Corso, A.C.T., 2012. Factors associated with adequate fruit
575 and vegetable intake by schoolchildren in Santa Catarina State, Brazil. *Cad. Saude Publica*
576 28, 1133–1142.
- 577 Coutinho, H.D.M., Costa, J.G.M., Lima, E.O., Falcão-Silva, V.S., Siqueira-Júnior, J.P., 2008.
578 Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha*
579 *arvensis* L. and chlorpromazine. *Chemotherapy* 54, 328–330. doi:10.1159/000151267
- 580 Cowan, M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12, 564–
581 582.
- 582 Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J., 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob.*
583 *Agents* 26, 343–356. doi:10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002
- 584 Davidson, P.M., Sofos, J.N., Branen, A.L., 2005. *Antimicrobials in food*, 30^a ed. ed. CRC press.
- 585 Devi, P.U., Ganasoundari, A., Vrinda, B., Srinivasan, K.K., Unnikrishnan, M.K., 2000.
586 Radiation protection by the *Ocimum* flavonoids orientin and vicenin: mechanisms of
587 action. *Radiat. Res.* 154, 455–60.
- 588 Diniz-Silva, H.T., Magnani, M., Siqueira, S., Souza, E.L., Siqueira-Júnior, J.P., 2017. Fruit
589 flavonoids as modulators of norfloxacin resistance in *Staphylococcus aureus* that
590 overexpresses *norA*. *LWT - Food Sci. Technol.* 85, 324–326.
591 doi:10.1016/j.lwt.2016.04.003
- 592 Essien, E.E., Antia, B.S., Solomon, A.U., Choudhary, M.I., 2017. In vitro Cytotoxic,
593 Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Adoninia merrilli* and *Archontopheonix tukeri*
594 Fruit Pericarps. *J. Pharm. Biosci.* 5, 68–75.
- 595 Figueredo, F.G., Ferreira, E.O., Lucena, B.F.F., Torres, C.M.G., Lucetti, D.L., Lucetti, E.C.P.,
596 Silva, J.M.F.L., Santos, F.A. V., Medeiros, C.R., Oliveira, G.M.M., Colares, A. V., Costa,
597 J.G.M., Coutinho, H.D.M., Menezes, I.R.A., Silva, J.C.F., Kerntopf, M.R., Figueiredo,

- 598 P.R.L., Matias, E.F.F., 2013. Modulation of the Antibiotic Activity by Extracts from
599 *Amburana cearensis* A. C. Smith and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan.
600 Biomed Res. Int. 2013, 1–5. doi:10.1155/2013/640682
- 601 Finco, F.D.B.A., Kammerer, D.R., Carle, R., Tseng, W., Böser, S., Graeve, L., 2012.
602 Antioxidant activity and characterization of phenolic compounds from bacaba
603 (*Oenocarpus bacaba* Mart.) Fruit by HPLC-DAD-MSn. J. Agric. Food Chem. 60, 7665–
604 7673. doi:10.1021/jf3007689
- 605 Freire, J.A.P., Barros, K.B.N.T., Lima, L.K.F., Martins, J.M., Araújo, Y.C., Oliveira, G.L.S.,
606 Aquino, J.S., Ferreira, P.M.P., 2016. Phytochemistry Profile, Nutritional Properties and
607 Pharmacological Activities of *Mauritia flexuosa*. J. Food Sci. 81, 2611–2622.
608 doi:10.1111/1750-3841.13529
- 609 Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., 2010.
610 Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. Molecules 15,
611 8813–8826. doi:10.3390/molecules15128813
- 612 Gibbons, S., 2004. Anti-staphylococcal plant natural products. Nat. Prod. Rep. 21, 263–277.
613 doi:10.1039/b212695h
- 614 Granowitz, E. V., Brown, R.B., 2008. Antibiotic Adverse Reactions and Drug Interactions. Crit.
615 Care Clin. 24, 421–442. doi:10.1016/j.ccc.2007.12.011
- 616 Hassanein, H.D., Elsayed, W.M., Abreu, A.C., Simões, M., Abdelmohsen, M.M., 2015.
617 Polyphenolic constituents and antimicrobial activity of *Rhapis excels* (Arecaceae,
618 Coryphoideae). Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci. 6, 1714–1722.
- 619 Heinrich, M., Dhanji, T., Casselman, I., 2011. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.)—A phytochemical
620 and pharmacological assessment of the species' health claims. Phytochem. Lett.
621 doi:10.1016/j.phytol.2010.11.005
- 622 Hidalgo, M., Sánchez-Moreno, C., Pascual-Teresa, S., 2010. Flavonoid-flavonoid interaction

- 623 and its effect on their antioxidant activity. *Food Chem.* 121, 691–696.
624 doi:10.1016/j.foodchem.2009.12.097
- 625 Holetz, F.B., Pessini, G.L., Sanches, N.R., Cortez, D.A.G., Nakamura, C. V., Dias Filho, B.P.,
626 2002. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of
627 infectious diseases. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 97, 1027–1031. doi:10.1590/S0074-
628 02762002000700017
- 629 Houghton, P.J., Howes, M.J., Lee, C.C., Steventon, G., 2007. Uses and abuses of in vitro tests
630 in ethnopharmacology: Visualizing an elephant. *J. Ethnopharmacol.* 110, 391–400.
631 doi:10.1016/j.jep.2007.01.032
- 632 Irondi, E.A., Akintunde, J.K., Agboola, S.O., Boligon, A.A., Athayde, M.L., 2017. Blanching
633 influences the phenolics composition, antioxidant activity, and inhibitory effect of
634 *Adansonia digitata* leaves extract on α -amylase, α -glucosidase, and aldose reductase.
635 *Food Sci. Nutr.* 5, 233–242. doi:10.1002/fsn3.386
- 636 Kanafani, Z.A., Perfect, J.R., 2008. Resistance to Antifungal Agents: Mechanisms and Clinical
637 Impact. *Clin. Infect. Dis.* 46, 120–128. doi:10.1086/524071
- 638 Kassem, M.E.S., Shoela, S., Marzouk, M. M., Sleem, A.A., 2012. A sulphated flavone
639 glycoside from *Livistona australis* and its antioxidant and cytotoxic activity. *Nat. Prod.*
640 *Res.* 26, 1381–1387. doi:10.1080/14786419.2011.587188
- 641 Kim, J., Lee, I., Seo, J., Jung, M., Kim, Y., Yim, N., Bae, K., 2010. Vitexin, orientin and other
642 flavonoids from *Spirodela polyrhiza* inhibit adipogenesis in 3T3-L1 cells. *Phyther. Res.*
643 24, 1543–1548. doi:10.1002/ptr.3186
- 644 Koolen, H.H. F.F., da Silva, F.M.A., Gozzo, F.C., Souza, A.D.L.Q.L., Souza, A.D.L.Q.L.,
645 Silva, F.M.A., Gozzo, F.C., Souza, A.D.L.Q.L., Souza, A.D.L.Q.L., 2013. Antioxidant,
646 antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia*
647 *flexuosa* L. f.) by UPLC-ESI-MS/MS. *Food Res. Int.* 51, 467–473.

- 648 doi:10.1016/j.foodres.2013.01.039
- 649 Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., Vladimir-Knezević, S., 2004. Quantitative analysis of
650 the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharm.* 54, 65–72.
- 651 Lee, W., Bae, J., 2015. Antithrombotic and antiplatelet activities of orientin in vitro and in vivo.
652 *J. Funct. Foods* 17, 388–398. doi:10.1016/j.jff.2015.05.037
- 653 Lima, V.N., Oliveira-Tintino, C.D.M., Santos, E.S., Morais, L.P., Tintino, S.R., Freitas, T.S.,
654 Geraldo, Y.S., Pereira, R.L.S., Cruz, R.P., Menezes, I.R.A., Coutinho, H.D.M., 2016.
655 Antimicrobial and enhancement of the antibiotic activity by phenolic compounds: Gallic
656 acid, caffeic acid and pyrogallol. *Microb. Pathog.* 99, 56–61.
657 doi:10.1016/j.micpath.2016.08.004
- 658 Loganayaki, N., Manian, S., 2010. In vitro antioxidant properties of indigenous underutilized
659 fruits. *Food Sci. Biotechnol.* 19, 725–734. doi:10.1007/s10068-010-0102-2
- 660 Loizzo, M.R., Tundis, R., Bonesi, M., Menichini, F.F., Mastellone, V., Avallone, L., Menichini,
661 F.F., 2012. Radical scavenging, antioxidant and metal chelating activities of *Annona*
662 *cherimola* Mill. (cherimoya) peel and pulp in relation to their total phenolic and total
663 flavonoid contents. *J. Food Compos. Anal.* 25, 179–184. doi:10.1016/j.jfca.2011.09.002
- 664 Lorenzi, H., Souza, H.M., Medeiros-Costa, J.T., Cerqueira, L.S.C., Ferreira, E., 2004.
665 Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, Nova
666 Odessa.
- 667 Matias, E.F.F., Alves, E.F., Silva, M.K.N., Carvalho, V.R.A., Medeiros, C.R., Santos, F.A. V.,
668 Bitu, V.C.N., Souza, C.E.S., Figueredo, F.G., Menezes, I.R.A., Coutinho, H.D.M.,
669 Ferreira, J.V.A., Lima, L.F., Costa, J.G.M., 2015. Phytochemical characterization by
670 HPLC and evaluation of antibacterial and aminoglycoside resistance-modifying activity
671 of chloroform fractions of *Cordia verbenacea* DC leaf extracts. *Eur. J. Integr. Med.* 7,
672 251–257. doi:10.1016/j.eujim.2015.03.007

- 673 Matos, F.J.A., 1997. Introdução A Fitoquímica Experimental, 2^a ed. ed. Edições UFC,
674 Fortaleza, CE.
- 675 Merzendorfer, H., 2006. Insect chitin synthases: A review. J. Comp. Physiol. 176, 1–15.
676 doi:10.1007/s00360-005-0005-3
- 677 Milanez, J.T., Neves, L.C., Colombo, R.C., Shahab, M., Roberto, S.R., 2018. Bioactive
678 compounds and antioxidant activity of buriti fruits, during the postharvest, harvested at
679 different ripening stages. Sci. Hortic. (Amsterdam). 227, 10–21.
680 doi:10.1016/j.scienta.2017.08.045
- 681 Morais-Braga, M.F.B., Sales, D.L., Carneiro, J.N.P., Machado, A.J.T., Santos, A.T.L., Freitas,
682 M.A., Martins, G.M.A.B., Leite, N.F., Matos, Y.M.L.S., Tintino, S.R., Sousa, D.S.L.,
683 Menezes, I.R.A., Ribeiro-Filho, J., Costa, J.G.M., Coutinho, H.D.M., 2016. *Psidium*
684 *guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart ex DC.: Chemical composition and anti-
685 *Candida* effect in association with fluconazole. Microb. Pathog. 95, 200–207.
- 686 Murari, A.L., Carvalho, F.H., Heinzmann, B.M., Michelot, T.M., Hörner, R., Mallmann, C.A.,
687 2008. Composição e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Senecio crassiflorus*
688 var. *crassiflorus*. Quim. Nova 31, 1081–1084. doi:10.1590/S0100-40422008000500026
- 689 Murugan, R., Chandran, R., Parimelazhagan, T., 2016. Effect of in vitro simulated
690 gastrointestinal digestion of *Phoenix loureirii* on polyphenolics, antioxidant and
691 acetylcholinesterase inhibitory activities. LWT - Food Sci. Technol. 74, 363–370.
692 doi:10.1016/j.lwt.2016.07.075
- 693 Najjaa, H., Zerria, K., Fattouch, S., Ammar, E., Neffati, M., 2011. Antioxidant and
694 antimicrobial activities of *Allium roseum* L. lazoul, a wild edible endemic species in North
695 Africa. Int. J. Food Prop. 14, 371–380. doi:10.1080/10942910903203164
- 696 Nijveldt, R.J., Van Nood, E., Van Hoorn, D.E.C., Boelens, P.G., Van Norren, K., Van Leeuwen,
697 P.A.M., 2001. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential

- 698 applications. *Am. J. Clin. Nutr.*
- 699 Nurchi, V.M., Crisponi, G., Lachowicz, J.I., Medici, S., Peana, M., Zoroddu, M.A., 2016.
- 700 Chemical features of in use and in progress chelators for iron overload. *J. Trace Elem.*
- 701 *Med. Biol.* 38, 10–18. doi:10.1016/j.jtemb.2016.05.010
- 702 Oliveira, D.M., Siqueira, E.P., Nunes, Y.R.F., Cota, B.B., 2013. Flavonoids from leaves of
- 703 *Mauritia flexuosa*. *Brazilian J. Pharmacogn.* 23, 614–620. doi:10.1590/S0102-
- 704 695X2013005000061
- 705 Oliveira, J.F.P., Cipullo, J.P., Burdmann, E.A., 2006. Nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos.
- 706 *Braz J Cardiovasc Surg* 21, 444–452. doi:10.1590/S0102-76382006000400015
- 707 Oussaid, S., Chibane, M., Madani, K., Amrouche, T., Achat, S., Dahmoune, F., Houali, K.,
- 708 Rendueles, M., Diaz, M., 2017. Optimization of the extraction of phenolic compounds
- 709 from *Scirpus holoschoenus* using a simplex centroid design for antioxidant and
- 710 antibacterial applications. *LWT - Food Sci. Technol.* 86, 635–642.
- 711 doi:10.1016/j.lwt.2017.08.064
- 712 Pereira, R.J., Cardoso, M.G., 2012. Metabólitos secundários vegetais e benefícios
- 713 antioxidantes. *J. Biotechnol. Biodivers.* 3, 146–152.
- 714 Pfaller, M.A., 2012. Antifungal drug resistance: Mechanisms, epidemiology, and consequences
- 715 for treatment. *Am. J. Med.* 125, S3–S13. doi:10.1016/j.amjmed.2011.11.001
- 716 Praveena, R., Sadasivam, K., Deepha, V., Sivakumar, R., 2014. Antioxidant potential of
- 717 orientin: A combined experimental and DFT approach. *J. Mol. Struct.* 1061, 114–123.
- 718 doi:10.1016/j.molstruc.2014.01.002
- 719 Pulido, R., Bravo, L., Saura-Calixto, F., 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as
- 720 determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.*
- 721 48, 3396–3402. doi:10.1021/jf9913458
- 722 Puntel, R.L., Nogueira, C.W., Rocha, J.B.T., 2005. Krebs cycle intermediates modulate

- 723 thiobarbituric acid reactive species (TBARS) production in rat brain in vitro. *Neurochem.*
724 *Res.* 30, 225–235. doi:10.1007/s11064-004-2445-7
- 725 Rodrigues, K., Ramos, D.F., Carrion, L.L., Cursino, L.M.C., Jefreys, M.F., Pedroza, L.S.,
726 Osório, M.I.C., Oliveira, J.L., Andrade, J.I.A., Fernandes, C.C., Nunez, C. V., Silva,
727 P.E.A., 2014. Antifungal activity of Brazilian amazon plantas extracts against some
728 species of *Candida* spp. *Int. J. Phytopharm.* 5, 445–453.
- 729 Rufino, M. do S.M., Alves, R.E., de Brito, E.S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., Mancini-
730 Filho, J., 2010. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional
731 tropical fruits from Brazil. *Food Chem.* 121, 996–1002.
732 doi:10.1016/j.foodchem.2010.01.037
- 733 Rufino, M.S.M., Alves, R.E., Brito, E.S., Morais, S.M., Sampaio, C.G., Pérez-Jiménez, J.,
734 Saura-Calixto, F.D., 2006. Metodologia Científica: Determinação da Atividade
735 Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP), Comunicado
736 Técnico on line. Fortaleza, CE.
- 737 Rufino, M.S.M., Alves, R.E., BRITO, E.S., Morais, S.M., Sampaio, C.G.G., Pérez-jiménez, J.,
738 Saura-Colixto, F.D., 2007. Metodologia Científica: Determinação da Atividade
739 Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS.+, Comunicado
740 Técnico on line.
- 741 Rufino, M.S.M., Alves, R.E., BRITO, E.S., Morais, S.M., Sampaio, C.G.G., Pérez-jiménez, J.,
742 Saura-Colixto, F.D., SAURA-CALIXTO, F.D., Saura-Colixto, F.D., 2007. Metodologia
743 Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do
744 Radical Livre DPPH, Comunicado Técnico on line. Fortaleza, CE.
- 745 Sampaio, M.B., 2011. Boas Praticas de Manejo para o Extrativismo Sustentável do Buriti.
746 Instituto Sociedade, População e Natureza, Brasília-DF.
- 747 Santos, M.F.G., Mamede, R.V.S., Rufino, M.S.M., Brito, E.S., Alves, R.E., 2015. Amazonian

- 748 Native Palm Fruits as Sources of Antioxidant Bioactive Compounds. *Antioxidants* 4, 591–
749 602. doi:10.3390/antiox4030591
- 750 Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., 1999. Analysis of total phenols and
751 other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods*
752 *Enzymol.* 299, 152–178. doi:10.1016/S0076-6879(99)99017-1
- 753 Sousa, E.O., Miranda, C.M.B.A., Nobre, C.B., Boligon, A.A., Athayde, M.L., Costa, J.G.M.,
754 2015. Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Lantana camara* and *Lantana*
755 *montevidensis* extracts. *Ind. Crops Prod.* 70, 7–15. doi:10.1016/j.indcrop.2015.03.010
- 756 Sucupira, N.R., Silva, A.B., Pereira, G., Costa, J.N., 2014. Métodos Para Determinação da
757 Atividade Antioxidante de Frutos. *UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde*
758 14, 263–269.
- 759 Tang, S.S., Apisarnthanarak, A., Hsu, L.Y., 2014. Mechanisms of β -lactam antimicrobial
760 resistance and epidemiology of major community- and healthcare-associated multidrug-
761 resistant bacteria. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 78, 3–13. doi:10.1016/j.addr.2014.08.003
- 762 Tapas, A.R., Sakarkar, D.M., Kakde, R.B., 2008. Flavonoids as Nutraceuticals: A Review.
763 *Trop. J. Pharm. Res.* 7, 1089–1099. doi:10.4314/tjpr.v7i3.14693
- 764 Tauchen, J., Bortl, L., Huml, L., Miksatkova, P., Doskocil, I., Marsik, P., Villegas, P.P.P.,
765 Flores, Y.B., Damme, P. V., Lojka, B., Havlik, J., Lapcik, O., Kokoska, L., 2016. Phenolic
766 composition, antioxidant and anti-proliferative activities of edible and medicinal plants
767 from the Peruvian Amazon. *Rev. Bras. Farmacogn.* 26, 728–737.
768 doi:10.1016/j.bjp.2016.03.016
- 769 Tian, F., Li, B., Ji, B., Yang, J., Zhang, G., Chen, Y., Luo, Y., 2009. Antioxidant and
770 antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis*: The polarity affects
771 the bioactivities. *Food Chem.* 113, 173–179. doi:10.1016/j.foodchem.2008.07.062
- 772 Veras, H.N.H., Rodrigues, F.F.G., Botelho, M.A., Menezes, I.R.A., Coutinho, H.D.M., Costa,

- 773 J.G.M., 2017. Enhancement of aminoglycosides and β -lactams antibiotic activity by
774 essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and the Thymol. Arab. J. Chem. 10, S2790–S2795.
775 doi:10.1016/j.arabjc.2013.10.030
- 776 Yao, H., Chen, Y., Shi, P., Hu, J., Li, S., Huang, L., Lin, J., Lin, X., 2012. Screening and
777 quantitative analysis of antioxidants in the fruits of *Livistona chinensis* R. Br using HPLC-
778 DAD-ESI/MS coupled with pre-column DPPH assay. Food Chem. 135, 2802–2807.
779 doi:10.1016/j.foodchem.2012.07.076
- 780 Yoo, H., Ku, S., Lee, T., Bae, J., 2014. Orientin Inhibits HMGB1-Induced Inflammatory
781 Responses in HUVECs and in Murine Polymicrobial Sepsis. Inflammation 37, 1705–1717.
782 doi:10.1007/s10753-014-9899-9

CAPITULO 2

Caracterização química e avaliação das capacidades antioxidante e antimicrobiana do óleo da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* L. f.

Manuscrito a ser submetido para publicação no periódico: Chemistry and Physics of Lipids.

Caracterização química e avaliação das capacidades antioxidante e antimicrobiana do óleo da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* L. f.

Carla de Fatima Alves Nonato^{a,b*}, Sidney Gonçalo de Lima^c, Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues^b, José Galberto Martins da Costa^{a,b}.

^aPrograma de Pós-graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

^bDepartamento de Química Biológica, Laboratório de Pesquisas em Produtos Naturais, Universidade Regional do Cariri, 63105-000, Crato, CE, Brasil.

^cDepartamento de Química, Universidade Federal do Piauí, 64049-550, Teresina, PI, Brasil.

*Autor correspondente: carlaalvesbio@hotmail.com.

Resumo: O óleo do fruto de *Mauritia flexuosa* L. f. é reconhecido por suas propriedades funcionais e tem sido amplamente utilizado pela indústria de produtos alimentícios e farmacêuticos. Este estudo teve como objetivo a caracterização química e a das capacidades antioxidante e antimicrobiana do óleo da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* L. f. A identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. A acidez, o índice de saponificação e o índice de refração foram caracterizados. A capacidade antioxidante foi verificada pelo sequestro dos radicais livres 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) e 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), poder de redução e quelação de ferro. A atividade antimicrobiana foi avaliada pela concentração inibitória mínima e pela ação modulatória de antibióticos. Os ácidos graxos majoritários identificados foram ácido esteárico, ácido palmítico e ácido oleico. A acidez e o índice de saponificação estão dentro dos limites estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. O óleo mostrou atividade antioxidante moderada, bem como atividade antimicrobiana moderada frente as cepas de *Candida*. Este apresentou efeitos sinérgicos e antagônicos sobre os antibióticos analisados, onde o efeito sinérgico mais expressivo foi obtido sobre a cefotaxima frente a *Bacillus cereus* com redução da concentração inibitória mínima de 1024 µg/mL para 5,33 µg/mL. Os resultados sugerem o uso potencial do óleo dos frutos de *M. flexuosa* como antioxidante e na terapia antimicrobiana.

Palavras-chave: *Mauritia flexuosa*, óleo, capacidade antioxidante, atividade antimicrobiana, modulação de antibióticos

1. Introdução

Frutas e hortaliças destacam-se por sua importância como componentes de uma dieta saudável, bem como pelo fato de que, em quantidades adequadas, seu consumo pode reduzir o risco de doenças crônico-degenerativas, como câncer e problemas cardiovasculares. Além disso, estas são fontes de micronutrientes, fibras e de outros componentes com propriedades funcionais, podendo-se estabelecer uma relação entre a ingestão desses alimentos e uma melhor qualidade de vida (Jaime et al., 2009; Vidal et al., 2012).

Mauritia flexuosa L. f., conhecida popularmente como buriti, é uma palmeira que possui ampla distribuição nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste do Brasil, habitando as margens de rios, córregos, lagos e nascentes (Ferreira, 2005). Esta possui um fruto elíptico a oval, envolto por uma casca de escamas triangulares castanho-avermelhadas, apresentando mesocarpo fino, alaranjado, carnoso e oleoso, que é bastante utilizado na fabricação de doces, sorvetes, sucos, bem como geleias e vinho fermentado (Sampaio and Carazza, 2012).

O óleo extraído da polpa do fruto do buriti é conhecido por suas propriedades funcionais devido as altas concentrações de ácidos graxos monoinsaturados, em quantidades mais elevadas que os óleos de azeitona e nozes do Brasil, reconhecidos por serem óleos nutricionais de alta qualidade, e apresentarem altos teores de carotenoides, provitamina A, tendo diversas aplicações para a indústria de produtos alimentícios, farmacêuticos e cosméticos. (Aquino et al., 2012; Silva et al., 2009; Vieira et al., 2006).

Os ácidos graxos são compostos, tipicamente, encontrados conjugados a outras moléculas, como glicerol, açúcares ou grupos de fosfato. Estas podem ser liberadas a partir de lipídios, tornando-se ácidos graxos livres, que possuem atividades biológicas diversas e potentes, como proteção contra doenças cardíacas coronárias, diabetes e câncer, além de atuar diminuindo os fatores de risco dessas doenças, incluindo hipertensão, sensibilidade à insulina, concentrações plasmáticas de lipoproteínas e fatores relacionados à coagulação do sangue (Desbois and Smith, 2010; Lunn, 2007).

Esse trabalho teve como objetivo obter o perfil químico, caracterizar físico-quimicamente e avaliar a capacidade antioxidante e antimicrobiana do óleo da polpa do fruto de *Mauritia flexuosa*.

2. Materiais e métodos

2.1. Material vegetal e obtenção do óleo

Os frutos de *Mairitia flexuosa* L. f. foram coletados na Área de Proteção Ambiental - APA da Chapada do Araripe (7°15'33.37"S 39°28'6.95"O) no município de Crato, Ceará, Brasil em Outubro de 2016 e uma exsicata foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima – HCDAL da Universidade Regional do Cariri – URCA sob o número de registro 12620. O óleo da polpa fresca (OFB) foi obtido por extração contínua por 6 h em aparelho de Soxhlet usando hexano como solvente extrator e aquecimento a 60 °C. Em seguida, a solução foi concentrada sob pressão reduzida em evaporador rotativo em temperatura média de 50 °C obtendo um rendimento de 5,91% (w/w).

2.2. Análise dos ácidos graxos

Os ácidos graxos foram determinados indiretamente usando seus correspondentes ésteres metílicos. O óleo (0,2 g) foi saponificado por 2 h sob refluxo com solução metanólica de hidróxido de potássio, seguindo o método descrito por Hartman and Lago (1973). Após tratamento adequado e ajuste do pH, os ácidos livres foram metilados com metanol por catálise ácida para obtenção dos respectivos ésteres metílicos. A análise dos constituintes fixos se deu por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de massas (CG/EM) Hewlett-Packard, modelo 5971, usando coluna capilar não polar DB-1 de sílica fundida (30 m x 0,25 mm id., película de 0,25 µm); carreado por gás hélio; velocidade de fluxo 0,8 mL/min e modo de divisão. A temperatura do injetor foi de 250 °C e a do detector de 200 °C. A temperatura da coluna foi programada de 35° C para 180 °C em 4 °C/min em seguida 180 °C para 250 °C em 10° C/min. Os espectros de massa foram gravados a partir de 30-450 m/z. Os componentes individuais foram identificados por correspondência de seus espectros de massa, 70 eV, com os da base de dados usando a biblioteca construída através do espectrômetro e outros dois computadores utilizando índices de retenção como uma pré-seleção (Alencar et al., 1990, 1984), bem como por comparação visual de fragmentação padrão com aqueles relatados na literatura (Adams, 2001; Stenhagen et al., 1974).

2.3. Caracterização físico-química

O óleo foi caracterizado de acordo com as metodologias oficiais do Instituto Adolfo Lutz (2008). O índice de acidez foi determinado com uma solução do óleo em éter etílico: etanol (1:1) por titulação com solução de hidróxido de sódio, utilizando-se fenolftaleína como indicador, onde o resultado foi dado como o número de miligramas de KOH necessários para neutralizar os ácidos livres de 1 g de amostra. Para verificar o índice de saponificação, 2 g do óleo em 50 mL de solução alcoólica de KOH foram submetidas a refluxo por 1 h. Após o resfriamento da solução, realizou-se titulação com ácido clorídrico (0,5 M), também utilizando fenolftaleína como indicador, e o resultado foi expresso em número de miligramas de KOH necessário para saponificar 1 g de amostra. O índice de refração foi determinado em Refratômetro de Abbé a 40 °C. Todas as análises foram feitas em triplicata.

2.4. Ensaios antioxidantes

2.4.1. Sequestro do radical livre DPPH

Seguiu-se a metodologia proposta Rufino e colaboradores (2007). Foram avaliadas concentrações que variaram de 14 a 1400 µg/mL. Em ambiente escuro, foi transferido uma alíquota de 0,1 mL de cada concentração para tubos de ensaio com 3,9 mL da solução do radical DPPH (0,06 mM). Como controle positivo foi utilizado BHT e ácido ascórbico e como teste branco o metanol. As soluções foram incubadas por 30 min ao abrigo da luz e as leituras realizadas em espectrofotômetro a 515 nm. Os resultados foram através da regressão linear e a partir desta foi determinada a CI_{50} .

2.4.2. Captura do radical livre ABTS

As concentrações avaliadas variaram de 14 a 1400 µg/mL. Ao abrigo da luz, transferiu-se uma alíquota de 30 µL de cada concentração para tubos de ensaio com 3,0 mL do radical ABTS^{•+}. A realização da leitura foi em espectrofotômetro a 734 nm após 6 minutos de reação da mistura. Foi utilizado Trolox como controle positivo e metanol como branco. Para se obter a atividade antioxidante total, foi substituído na equação da reta do gráfico das absorbâncias aquela equivalente a 1000 µM do padrão Trolox (Rufino et al., 2007)

2.4.3. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

O reagente FRAP foi obtido pela mistura de 25 mL de tampão acetato (0,3 M), 2,5 mL de uma solução de TPTZ (10 mM) e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico (20 mM). Foi transferida uma alíquota de 90 µL de cada concentração (14-1400 µg/mL) para tubos de

ensaio, assim como 270 µL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP, mantendo em banho de aquecimento a 37 °C. A leitura se deu após 30 minutos de reação a 595 nm em espectrofotômetro. O reagente FRAP foi usado como branco e sulfato ferroso como controle positivo. Obteve-se a atividade antioxidante total substituído na equação da reta das absorvâncias aquela equivalente a 1000 µM do padrão sulfato ferroso (Rufino et al., 2006).

2.4.4. Atividade quelante do íon Fe^{2+}

A capacidade de quelação foi medida pelo método proposto por Puntel e colaboradores (2005), com adaptações. Foram adicionadas 100 µL de cada concentração (14-1400 µg/mL) com 300 µL da solução de $FeSO_4$ (2 mM) e 336 µL TRIS-HCl 1,0 M (pH 7,4). As soluções teste foram incubadas ao abrigo da luz por 5 minutos, onde após esse período, se adicionou 26 µL de Fenantrolina (0,25%). A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 510 nm. O branco foi preparado sem a adição da amostra e pela ausência de incubação.

2.5. Ensaios antimicrobianos

2.5.1. Determinação da concentração inibitória mínima – CIM

A atividade antimicrobiana foi testada pelo método de microdiluição com base no documento M7-A10 (CLSI, 2015). O ensaio foi realizado com quatro linhagens bacterianas: *Bacillus cereus* INCQS 00303, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Salmonella choleraesuis* INCQS 00038, e três linhagens fúngicas: *Candida albicans* INCQS 40006, *Candida krusei* INCQS 40095 e *Candida tropicalis* INCQS 40042.

O óleo foi diluído com água destilada estéril e dimetilsulfóxido (DMSO) a uma concentração de 1024 µg/mL. Seguiram-se diluições seriadas através da adição aos poços contendo a suspensão, atingindo concentrações no intervalo de 512 a 8 µg/mL. Todo o teste foi realizado em triplicata e a placa incubada a 35 ± 2 °C por 24 h. A leitura foi realizada por colorimetria pela adição de 25 µL de solução de resazurina (0,01%) a cada poço após a incubação. A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento dos microrganismos.

2.5.2. Avaliação da modulação por contato direto

Para analisar a ação do óleo como potencializador de antibióticos da classe dos aminoglicosídeos (amicacina e gentamicina) e dos beta-lactâmicos (benzilpenicilina e cefotaxima) para bactérias, e dos azólicos (fluconazol e cetoconazol) para fungos, seguiu-se a

metodologia proposta por Coutinho et al. (2008). Foram usadas as linhagens bacterianas *Bacillus cereus* INCQS 00303 e *Salmonella choleraesuis* INCQS 00038, e as cepas fúngicas *Candida albicans* INCQS 40006, *Candida krusei* INCQS 40095 e *Candida tropicalis* INCQS 40042. O teste foi realizado na presença e ausência do óleo dos frutos de *M. flexuosa*.

Os inóculos (CIM/8) em meio de cultura específico a 10% foram distribuídos em placas de microdiluição seguidos da adição de concentrações das soluções de antibióticos (1024 µg/mL) através de diluição seriada. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 h e a leitura realizada por colorimetria pela adição de 25 µL de solução de resazurina (0,01%).

2.6. Análise estatística

Os resultados dos ensaios antioxidantes foram avaliadas através da ANOVA e teste de Tukey, enquanto que os resultados microbiológicos foram analisados em ANOVA bidirecional e pós-teste Bonferroni usando o software GraphPad Prism 6.0. Os resultados com $p < 0,05$ foram considerados como estatisticamente significativos.

3. Resultados e discussão

3.1. Análise dos ácidos graxos

A análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) permitiu identificar 97,39% dos constituintes do óleo da polpa dos frutos do *M. flexuosa*. Os ácidos graxos saturados foram predominantes em relação aos insaturados, com 80,44% e 16,95%, respectivamente. Os componentes majoritários do óleo foram o ácido esteárico (49,51%), seguido pelo ácido palmítico (22,14%) e pelo ácido oleico (16,58%) como mostra a Tabela 1. A Figura 1 mostra o perfil cromatográfico do óleo.

Tabela 1. Perfil de ésteres metílicos dos ácidos graxos identificados no óleo fixo da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa*.

Ácido graxo	Tr (min)	%
Ácido Láurico (C12:0)	9,89	0,49
Ácido Mirístico (C14:0)	12,36	1,26
Ácido Pentadecanoico (C15:0)	13,52	0,53
Ácido Palmitoleico (C16:1)	14,14	0,37
Ácido Palmítico (C16:0)	14,61	22,14
Ácido Margárico (C17:0)	15,67	1,39
Ácido Oleico (C18:1)	16,43	16,58
Ácido Esteárico (C18:0)	16,68	49,51
Ácido Eicosenóico (C20:0)	18,34	4,84
Ácido Docosanoico (C22:0)	20,28	0,28

Tr: Tempo de retenção.

Trabalhos relatam o ácido oleico e o ácido palmítico como os principais componentes majoritários do óleo da polpa dos frutos do buriti, com percentuais que variam entre 61% a 75,7% para o ácido oleico e de 16,78% a 23% para o palmítico, enquanto que o ácido esteárico apresenta concentrações baixas, variando entre 1,3% a 5,2% (Aquino et al., 2012; Darnet et al., 2011; Pardauil et al., 2011; Rodrigues et al., 2010; Silva et al., 2009). A diferença entre a síntese de ácidos graxos de uma espécie pode ser atribuída aos fatores abióticos, como disponibilidade hídrica, habitat, dentre outros (Kris-Etherton et al., 2000).

Hunter e colaboradores (2010) mostraram que, quando comparado a outros ácidos graxos saturados, o ácido esteárico tem a capacidade de reduzir o LDL e a proporção de colesterol total para HDL, o que diminui o risco de doenças cardiovasculares em substituição aos ácidos graxos *trans* de alimentos.

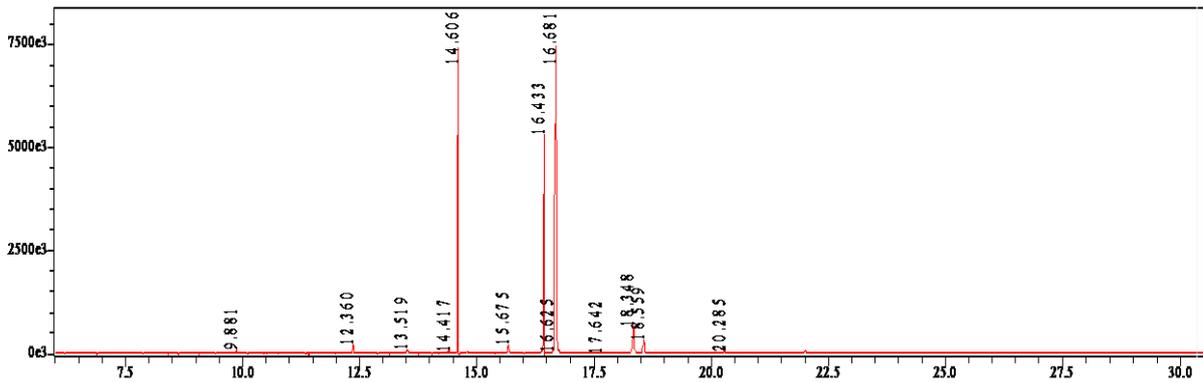


Figura 1. Cromatograma dos ésteres metílicos dos ácidos graxos identificados no óleo fixo da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa*.

O óleo do buriti mostrou-se fonte de ácido oleico, característico do grupo ômega 9. Estudos relatam que uma dieta rica em gordura monoinsaturada desse grupo reduz os níveis de colesterol total e LDL sem alterar significativamente o HDL, além de apresentar atividade anti-inflamatória e ação calmante (Galán-Arriero et al., 2017; Huth et al., 2015).

3.2. Caracterização físico-química

Para óleos e gorduras, as propriedades físico-químicas são avaliadas e utilizadas para medir a sua qualidade (Lima et al., 2017). Os valores obtidos para alguns dos principais índices físico-químicos estão mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Características físico-químicas do óleo da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* (OFB).

Propriedades físico-químicas	OFB
Acidez (mg KOH/g)	5,71± 0,01
Índice de saponificação (mg KOH/g)	210,97± 12,13
Índice de refração (n_D^{20})	1,467± 0,00

O índice de acidez visa quantificar os ácidos graxos livres presentes nos óleos devido altas taxas destes indicarem alterações que conduzem a rancidez hidrolítica (Bermejo et al., 2013; Ferreira et al., 2008). O índice de acidez obtido nesse estudo se mostrou relativamente maior do que os relatados na literatura para o óleo dessa espécie, com índices variáveis entre 2,1 a 4,7 mg KOH/g (Aquino et al., 2012; Lima et al., 2017; Vásquez-Ocmín et al., 2010). No

entanto, ele se encontra dentro dos limites permitidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), com máximo 10,0 mg KOH/g (Brasil, 2005).

O índice de saponificação indica a quantidade relativa de ácidos graxos de alto e baixo peso molecular, sendo que os ésteres de baixo peso molecular requerem mais álcali para a saponificação, sendo assim o índice de saponificação é inversamente proporcional ao peso molecular dos ácidos graxos (Mello and Pinheiro, 2012).

O índice de saponificação obtido apresentou-se mais alto do que aqueles encontrados por Vásquez-Ocmín et al. (2010), que relatou índices variáveis entre 186,25 e 194,89 mg KOH/g para três morfotipos do fruto de *M. flexuosa*. O índice obtido também mostrou-se fora da faixa estabelecida pela ANVISA (184-196 mg KOH/g), o que mostra uma taxa de ácidos graxos de baixo peso molecular no óleo estudado (Brasil, 2005).

O índice de refração é característico para cada tipo de óleo e está relacionado com o grau de saturação das ligações, compostos de oxidação e tratamento térmico (Mello and Pinheiro, 2012). O índice aqui achado está dentro do limite estabelecido pela ANVISA, que vai de 1,467 a 1,470 n_D^{20} (Brasil, 2005). No trabalho de Aquino e colaboradores (2012), comparando as propriedades físico-químicas do óleo do buriti bruto e refinado, obtiveram um índice de refração de 1,47 para ambos os óleos testados, sendo estes valores condizentes com o obtido nesse trabalho.

3.3. Ensaio antioxidante

No teste para o sequestro do radical livre DPPH, o óleo apresentou baixa capacidade de doação de hidrogênio, com percentual máximo de 9,38%, o que se mostrou bem abaixo dos controles positivos ácido ascórbico e BHT, com percentuais de 96% e 88%, respectivamente, como pode ser observado na Figura 2.

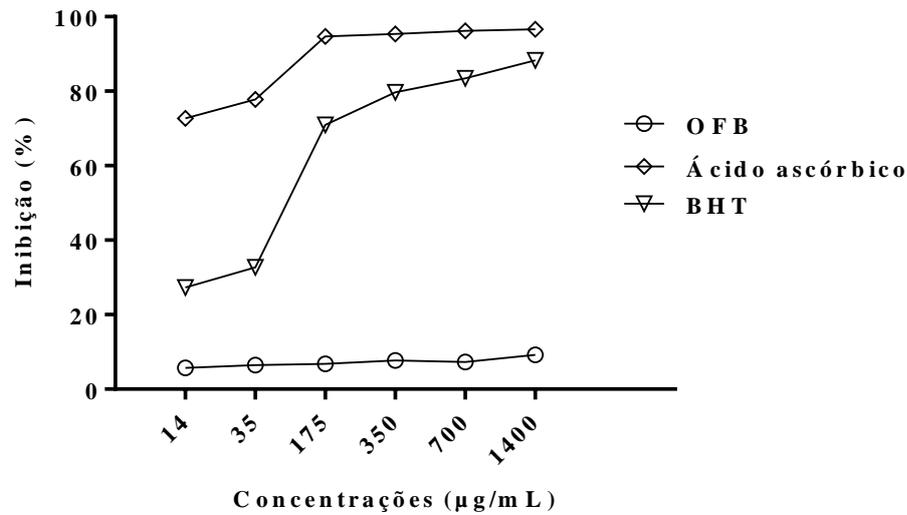


Figura 2. Atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH do óleo da polpa dos frutos de *M. flexuosa* (OFB) e dos controles positivos ácido ascórbico e BHT.

Considerando os controles positivos, o óleo obteve uma concentração capaz de inibir 50% de DPPH moderada. Sua IC_{50} foi apenas 4,76 vezes mais baixa que o BHT, enquanto que comparado ao ácido ascórbico sua capacidade foi 38,67 vezes menor. Os valores das IC_{50} estão elucidadas na Tabela 3.

O óleo da polpa dos frutos do buriti aqui testado mostrou uma IC_{50} relativamente mais baixa do que as relatadas na literatura para o óleo bruto e refinado também da polpa do buriti, com IC_{50} de 25,19 mg/mL e 50,98 mg/mL, nessa ordem, bem como para o azeite de oliva com IC_{50} de 11 mg/mL (Aquino et al., 2012; Valavanidis et al., 2004).

Tabela 3. Valores de IC_{50} do óleo da polpa dos frutos de *M. flexuosa* e dos controles positivos (ácido ascórbico e BHT) para redução do radical livre DPPH.

Amostras	IC_{50} (µg/mL)
OFB	83,16 ± 5,09a
Ácido ascórbico	2,15 ± 0,05b
BHT	17,46 ± 2,10c

Os resultados são expressos como média ± desvios-padrão (n=3). As médias seguidas por diferentes letras diferem pelo teste de Tukey em $p < 0,05$.

A atividade antioxidante em alimentos depende de diversos fatores, como as condições e etapas de oxidação, a formação e estabilidade dos radicais, bem como a possível localização

dos antioxidantes e estabilidade em distintas fases do processamento destes (Rockenbach et al., 2008).

O óleo apresentou uma capacidade moderada de captura do radical ABTS, obtendo um valor de $69,26 \pm 1,04 \mu\text{M Trolox/g}$, o que mostrou maior efetividade quando comparado aos óleos comestíveis de cenoura, oxicoco, cominho e cânhamo, com $8,90 \pm 0,39 \mu\text{M Trolox/g}$, $22,5 \pm 1,22 \mu\text{M Trolox/g}$, $30,8 \pm 3,58 \mu\text{M Trolox/g}$ e $11,4 \pm 2,08 \mu\text{M Trolox/g}$, respectivamente (Yu et al., 2005).

A atividade antioxidante de óleos pode estar relacionada ao seu conteúdo de tocoferóis e carotenoides, considerados antioxidantes lipofílicos (Borges et al., 2011; Chorilli et al., 2007). A literatura relata um rico teor desses compostos no óleo do buriti, com valores de 1890 mg/kg, 1343 mg/kg e 918 mg/kg para carotenoides totais, α -tocoferol e β -tocoferol, respectivamente (Silva et al., 2009).

Castelo-Branco e colaboradores (2016) indicam um papel essencial dos tocoferóis e um bom desempenho na avaliação pelo método de ABTS, bem como para a estabilidade oxidativa dos óleos vegetais, provavelmente devido às associações entre eles.

O óleo também apresentou atividade moderada em reduzir o íon ferro pela metodologia de FRAP, com valores de $24,37 \pm 0,75 \mu\text{M Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$, demonstrando uma atividade inferior ao da patauá, palmeira amazônica, que obteve $584,9 \pm 5,3 \mu\text{M Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$ (Hidalgo et al., 2016).

A eficiência antioxidante analisada pelo método de FRAP mostra-se dependente dos potenciais redox dos compostos em estudo, que são caracterizados pela complexidade de suas moléculas, bem como pela capacidade de redução de compostos fenólicos, como os tocoferóis, depende do nível de hidroxilação e extensão de suas conjugações (Pulido et al., 2000).

O óleo exibiu boa atividade quelante, onde a resposta se mostrou dependente de concentração (14-350 $\mu\text{g/mL}$) com diferença significativa entre concentrações (Figura 3). De forma geral, a resposta obteve percentual máximo de 63,6%.

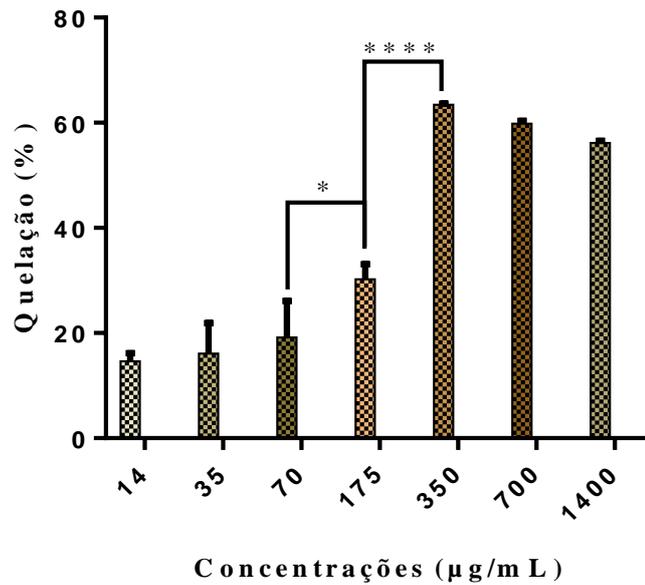


Figura 3. Efeitos da quelação de ferro para o óleo da polpa de *M. flexuosa*. Os valores são expressos como média \pm desvio padrão (n=3). *:p <0,05, ****:p <0,0001, (ANOVA e teste de Tukey).

Mello e Pinheiro (2012) analisando a capacidade quelante do azeite de oliva da variedade Arbequina de dois cultivos diferentes obtiveram percentuais de $25,00 \pm 1,11\%$ e $24,22 \pm 2,40\%$, demonstrando uma atividade inferior ao do óleo do buriti estudado.

Os agentes quelantes reduzem a disponibilidade de metais de transição e inibem as reações de cadeia oxidativa mediadas por radicais em sistemas biológicos ou alimentares, o que promove a melhoria na saúde humana, a qualidade, a estabilidade e a segurança alimentar (Yu et al., 2005).

3.4. Ensaios antimicrobianos

Em relação aos ensaios antibacterianos, o óleo apresentou CIM $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$ para todas as cepas testadas, o que não demonstra efeito relevante clinicamente, por necessitar de concentrações muito altas do produto natural para atingir as mesmas em níveis séricos (Houghton et al., 2007). Para as cepas fúngicas, o óleo apresentou CIM de $853,33 \mu\text{g/mL}$ frente a *C. albicans* e CIM de $512 \mu\text{g/mL}$ frente a *C. krusei* e *C. tropicalis*, demonstrando atividade moderada (Holetz et al., 2002), como mostrado na Tabela 4.

A resistência bacteriana envolve mecanismos bioquímicos e genéticos, como a inativação do agente antimicrobiano por alterações químicas, modificação do alvo, mudanças

na bomba de efluxo e permeabilidade externa da membrana, bem como a inibição enzimática do alvo antibacteriano (Guimarães et al., 2010). Esses mecanismos podem estar relacionados a não efetividade do óleo sobre as bactérias testadas.

Tabela 4. Concentração inibitória mínima do óleo da polpa dos frutos de *M. flexuosa* frente a cepas padrões bacterianas e fúngicas.

Microrganismos testadas	CIM ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Bacillus cereus</i> (INCQS 00303)	≥ 1024
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	≥ 1024
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	≥ 1024
<i>Salmonella choleraesuis</i> (INCQS 00038)	≥ 1024
<i>Candida albicans</i> (ATCC 40006)	853,33
<i>Candida krusei</i> (ATCC 40095)	512
<i>Candida tropicalis</i> (ATCC 40042)	512

ATCC: American Type Culture Collection; INCQS: Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde.

A literatura mostra a atividade de ácidos graxos frente a cepas de *Candida albicans*, como o ácido oleico, ácido capríco e ácido láurico, onde essa atividade se dá através da desorganização do citoplasma pela ruptura ou desintegração das suas membranas plasmáticas (Bergsson et al., 2001; Pinto et al., 2017).

Para a modificação da ação de antibióticos frente a cepas bacterianas, o óleo da polpa dos frutos de *M. flexuosa* mostrou ação tanto sinérgica quanto antagônica, conforme os dados mostrados nas Figuras 4. O óleo exerceu efeito sinérgico sobre a amicacina frente a *S. choleraesuis* diminuindo a CIM de 512 $\mu\text{g/mL}$ para 213,33 $\mu\text{g/mL}$. Sobre a gentamicina, ele também apresentou efeito sinérgico tanto frente a *B. cereus*, com redução da CIM de 512 $\mu\text{g/mL}$ para 256 $\mu\text{g/mL}$, quanto frente a *S. choleraesuis*, com diminuição para 106,66 $\mu\text{g/mL}$.

Já sobre a benzilpenicilina, o óleo exerceu efeito antagônico frente *B. cereus*, com aumento da CIM de 26,66 $\mu\text{g/mL}$ para 256 $\mu\text{g/mL}$, e efeito sinérgico frente a *S. choleraesuis*, reduzindo a CIM de 1024 $\mu\text{g/mL}$ para 512 $\mu\text{g/mL}$, mesmo resultado obtido sobre a cefotaxima para essa cepa. Ainda sobre a cefotaxima, ele exerceu efeito sinérgico mais expressivo deste estudo frente a *B. cereus*, com redução de 1024 $\mu\text{g/mL}$ para 5,33 $\mu\text{g/mL}$.

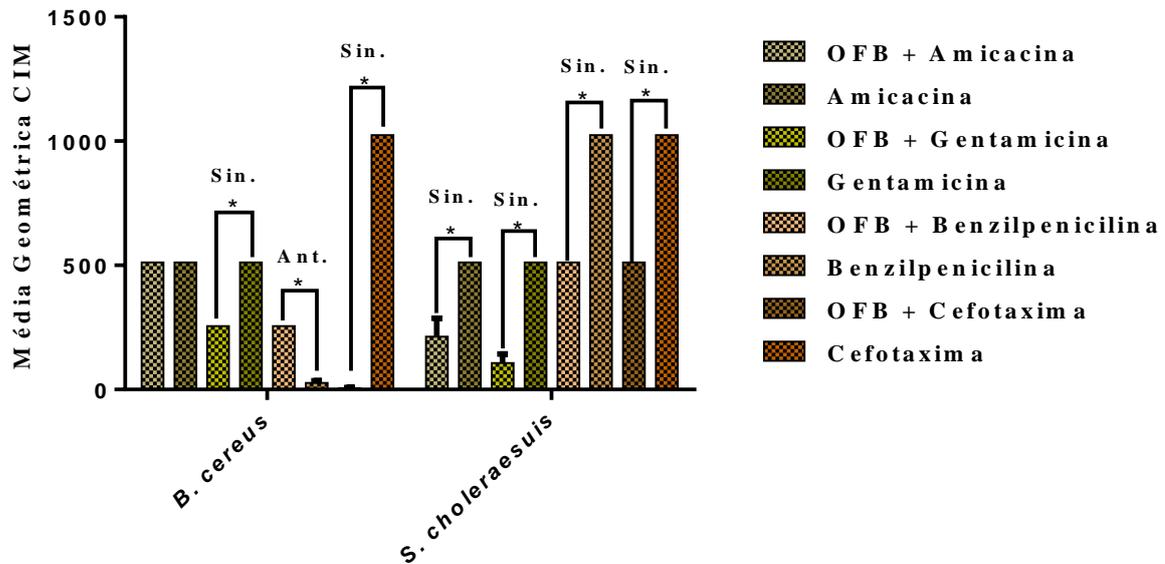


Figura 4. Efeito modulador do óleo da polpa dos fruto de *M. flexuosa* (OFB) na atividade antibiótica de amicacina, gentamicina, benzilpenicilina e cefotaxima contra cepas de *Bacillus cereus* (INCQS 00303) e *Salmonella choleraesuis* (INCQS 00038). Sin.: Sinergismo; Ant.: Antagonismo; *: $p < 0,0001$ (ANOVA e teste de Bonferroni).

Modificadores de atividade antibiótica são drogas que modulam ou revertem resistência microbiana a certos antibióticos, através da alteração da susceptibilidade pela inibição da bomba de efluxo (Costa et al., 2008). Outros mecanismos de resistência também podem ser alterados pela combinação de antibiótico com produtos naturais, como o aumento da permeabilidade da membrana, modificação do receptor dos antibióticos, bem como a inibição enzimática (Wagner, 2011).

Os antibióticos aminoglicosídeos são amplamente utilizados para o tratamento de infecções, contudo a nefrotoxicidade continua a ser um problema clínico comum e a sua toxicidade é um dos fatores que limitam o seu uso (Watanabe et al., 2004). Assim, a combinação destes antibióticos com produtos naturais leva a uma diminuição da sua dose terapêutica e consequentemente da sua toxicidade (Figueredo et al., 2013).

Os beta-lactâmicos representam uma classe de antibióticos amplamente utilizada devido sua tolerância pelo organismo, porém seu uso gera um dos principais mecanismos de resistência a drogas utilizados pelas bactérias que é a produção de enzimas de inativação denominadas beta-lactamases (Zeba, 2005). A combinação desses com produtos naturais pode ser uma alternativa para ultrapassar essa barreira de resistência.

O teste de modificação da ação de antibióticos frente a cepas fúngicas não apresentou resultados significativos. Isso pode estar relacionado aos mecanismos de resistência do gênero *Candida* ao azólicos, como bombas de efluxo, mutações pontuais na síntese e superexpressão do ergosterol, bem como mutações que negam a ruptura da membrana, como os caminhos *bypass* (Pfaller, 2012).

4. Conclusão

Os resultados obtidos demonstram que o óleo da polpa dos frutos de *M. flexuosa* apresenta atividade antioxidante primária moderada e boa capacidade de quelação do íon ferro, bem como se mostra como fonte significativa na terapia antibacteriana combinada a antibióticos. Este exibe características físico-químicas dentro dos parâmetros estabelecidos para óleos comestíveis. Além disso, os dados ressaltam a necessidade de estudos que caracterizem os compostos dessa espécie para melhor descrever e entender suas atividades biológicas.

Referências

- Adams, R.P., 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Pub. Corp, Illinois.
- Alencar, J.W., Craveiro, A.A., Matos, F.J.A., 1984. Kovats' indices as a preselection routine in mass spectra library searches of volatiles. J. Nat. Prod. 47, 890–892. <https://doi.org/10.1021/np50035a028>
- Alencar, J.W., Craveiro, A.A., Matos, F.J.A., Machado, M.I.L., 1990. Kovats indices simulation in essential oil analysis. Quim. Nova.
- Aquino, J.S., Pessoa, D.C.N.P., Araújo, K.L.G. V., Epaminondas, P.S., Schuler, A.R.P., Souza, A.G., Stamford, T.L.M., 2012. Refining of buriti oil (*Mauritia flexuosa*) originated from the Brazilian cerrado: Physicochemical, thermal-oxidative and nutritional implications. J. Braz. Chem. Soc. 23, 212–219. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140054>
- Bergsson, G., Arnfinnsson, J., Steingrímsson, Ó., Thormar, H., 2001. *In vitro* killing of *Candida albicans* by fatty acids and monoglycerides. Antimicrob. Agents Chemother. 45, 3209–3212. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.11.3209-3212.2001>
- Bermejo, S., Ventura, C., Ribeiro, M., Henriques, M., Laranjeira, C., 2013. Óleos Alimentares Usados: Caracterização físico-química para selecção de indicadores de degradação de qualidade e de melhores práticas laboratoriais disponíveis. Rev. da Unidade Investig. do

- Inst. Politécnico Santarém 2, 256–271.
- Borges, L.L., Lúcio, T.C., Gil, E.S., Barbosa, E.F., 2011. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. *Enciclopédia Biosf.* 7, 1–20.
- Brasil, 2005. Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. Brasil. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Castelo-Branco, V.N., Santana, I., Di-Sarli, V.O., Freitas, S.P., Torres, A.G., 2016. Antioxidant capacity is a surrogate measure of the quality and stability of vegetable oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 118, 224–235. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400299>
- Chorilli, M., Leonardi, G.R., Salgado, H.R.N., 2007. Radicais livres e antioxidantes: conceitos fundamentais para aplicação em formulações farmacêuticas e cosméticas. *Rev. Bras. Farm.* 88, 113–118.
- CLSI, 2015. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition.* Wayne, PA.
- Costa, V.C.O., Tavares, J.F., Agra, M.F., Falcão-Silva, V.S., Facanali, R., Vieira, M.A.R., Marques, M.O.M., Siqueira-Junior, J.P., Silva, M.S., 2008. Composição química e modulação da resistência bacteriana a drogas do óleo essencial das folhas de *Rollinia leptopetala* R. E. Fries. *Brazilian J. Pharmacogn.* 18, 245–248. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200019>
- Coutinho, H.D.M., Costa, J.G.M., Lima, E.O., Falcão-Silva, V.S., Siqueira-Júnior, J.P., 2008. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. *Chemotherapy* 54, 328–330. <https://doi.org/10.1159/000151267>
- Darnet, S.H., Silva, L.H.M., Rodrigues, A.M.C., Lins, R.T., 2011. Nutritional composition, fatty acid and tocopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa*) and patawa (*Oenocarpus bataua*) fruit pulp from the amazon region. *Ciência e Tecnol. Aliment.* 31, 488–491. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000200032>
- Desbois, A.P., Smith, V.J., 2010. Antibacterial free fatty acids: Activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85, 1629–1642. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2355-3>
- Ferreira, E.S., Lucien, V.G., Amaral, A.S., Silveira, C.S., 2008. Caracterização físico-química do fruto e do óleo extraído de tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart). *Aliment. e Nutr.* 19, 427–433.
- Ferreira, M.G.R., 2005. Buriti (*Mauritia flexuosa* L.), Centro de Pesquisa Agroflorestal de

Rondônia. Porto Velho, RO.

- Figueredo, F.G., Ferreira, E.O., Lucena, B.F.F., Torres, C.M.G., Lucetti, D.L., Lucetti, E.C.P., Silva, J.M.F.L., Santos, F.A. V., Medeiros, C.R., Oliveira, G.M.M., Colares, A. V., Costa, J.G.M., Coutinho, H.D.M., Menezes, I.R.A., Silva, J.C.F., Kerntopf, M.R., Figueiredo, P.R.L., Matias, E.F.F., 2013. Modulation of the Antibiotic Activity by Extracts from *Amburana cearensis* A. C. Smith and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan. *Biomed Res. Int.* 2013, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2013/640682>
- Galán-Arriero, I., Serrano-Muñoz, D., Gómez-Soriano, J., Goicoechea, C., Taylor, J., Velasco, A., Ávila-Martín, G., 2017. The role of Omega-3 and Omega-9 fatty acids for the treatment of neuropathic pain after neurotrauma. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* 1859, 1629–1635. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.05.003>
- Guimarães, D.O., Momesso, L.S., Pupo, M.T., 2010. Antibióticos: Importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. *Quim. Nova* 33, 667–679. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000300035>
- Hartman, L., Lago, R.C.A., 1973. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Lab. Pr.* 22, 475–477.
- Hidalgo, P.S.P., Nunomura, R.C.S., Nunomura, S.M., 2016. Plantas Oleaginosas Amazônicas: Química e Atividade Antioxidante de Patauá (*Oenocarpus bataua* Mart.). *Rev. Virtual Química* 8, 130–140. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20160009>
- Holetz, F.B., Pessini, G.L., Sanches, N.R., Cortez, D.A.G., Nakamura, C. V., Dias Filho, B.P., 2002. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 97, 1027–1031. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000700017>
- Houghton, P.J., Howes, M.J., Lee, C.C., Steventon, G., 2007. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: Visualizing an elephant. *J. Ethnopharmacol.* 110, 391–400. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.01.032>
- Hunter, J.E., Zhang, J., Kris-Etherton, P.M., 2010. Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans , other saturated , and unsaturated fatty acids : a systematic review. *Am J Clin Nutr, Am. Soc. Nutr.* 91, 46–63. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27661.46>
- Huth, P.J., Fulgoni, V.L., Larson, B.T., 2015. A systematic review of high-oleic vegetable oil substitutions for other fats and oils on cardiovascular disease risk factors: implications for novel high-oleic soybean oils. *Adv. Nutr. An Int. Rev. J.* 6, 674–693. <https://doi.org/10.3945/an.115.008979>

- Instituto Adolfo Lutz, 2008. Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4^a ed. ed. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo.
- Jaime, P.C., Figueiredo, I.C.R., Moura, E.C., Malta, D.C., 2009. Fatores associados ao consumo de frutas e hortaliças no Brasil. *Rev. Saúde Pública* 43, 57–64. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102009000900008>
- Kris-Etherton, P.M., Taylor, D.S., Yu-poth, S., Huth, P., Moriarty, K., Fishell, V., Hargrove, R.L., Zhao, G., Etherton, T.D., 2000. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *Am. Soc. Clin. Nutr.* 71, 179S–188S.
- Lima, R.P., Luz, P.T.S., Braga, M., Batista, P.R.S., Costa, C.E.F., Zamian, J.R., Nascimento, L.A.S., Rocha-Filho, G.N., 2017. Murumuru (*Astrocaryum murumuru* Mart.) butter and oils of buriti (*Mauritia flexuosa* Mart.) and pracaxi (*Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze) can be used for biodiesel production: Physico-chemical properties and thermal and kinetic studies. *Ind. Crops Prod.* 97, 536–544. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.12.052>
- Lunn, J., 2007. Monounsaturates in the diet. *Nutr. Bull.* 32, 378–391. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2007.00669.x>
- Mello, L.D., Pinheiro, M.F., 2012. Aspectos físico-químicos de azeites de oliva e de folhas de oliveira provenientes de cultivares do RS, Brasil. *Aliment. e Nutr.* 23, 537–548.
- Pardauil, J.J.R., Souza, L.K.C., Molfetta, F.A., Zamian, J.R., Rocha Filho, G.N., Da Costa, C.E.F., 2011. Determination of the oxidative stability by DSC of vegetable oils from the Amazonian area. *Bioresour. Technol.* 102, 5873–5877. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.02.022>
- Pfaller, M.A., 2012. Antifungal drug resistance: Mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. *Am. J. Med.* 125, S3–S13. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2011.11.001>
- Pinto, M.E.A., Araújo, S.G., Morais, M.I., Sá, N.P., Lima, C.M., Rosa, C.A., Siqueira, E.P., Johann, S., Lima, L.A.R.S., 2017. Antifungal and antioxidant activity of fatty acid methyl esters from vegetable oils. *An. Acad. Bras. Cienc.* 89, 1671–1681. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160908>
- Pulido, R., Bravo, L., Saura-Calixto, F., 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3396–3402. <https://doi.org/10.1021/jf9913458>
- Puntel, R.L., Nogueira, C.W., Rocha, J.B.T., 2005. Krebs cycle intermediates modulate thiobarbituric acid reactive species (TBARS) production in rat brain in vitro. *Neurochem. Res.* 30, 225–235. <https://doi.org/10.1007/s11064-004-2445-7>

- Rockenbach, I.I., Silva, G.L., Rodrigues, E., Kuskoski, E.M., Fett, R., 2008. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. *Ciência e Tecnol. Aliment.* 28, 238–244. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000500036>
- Rodrigues, A.M.C., Darnet, S., Silva, L.H.M., 2010. 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.* 21, 2000–2004. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532010001000028>
- Rufino, M.S.M., Alves, R.E., Brito, E.S., Morais, S.M., Sampaio, C.G., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F.D., 2006. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP), Comunicado Técnico on line. Fortaleza, CE.
- Rufino, M.S.M., Alves, R.E., Brito, E.S., Morais, S.M., Sampaio, C.G.G., Pérez-jiménez, J., Saura-Calixto, F.D., 2007. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH, Comunicado Técnico on line. Fortaleza, CE.
- Rufino, M.S.M., Alves, R.E., Brito, E.S., Morais, S.M., Sampaio, C.G.G., Pérez-jiménez, J., Saura-Colixto, F.D., 2007. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS.+, Comunicado Técnico on line.
- Sampaio, M.B., Carazza, L.R., 2012. Aproveitamento Integral do Fruto e da Folha do Buriti (*Maurita flexuosa*), 1^a. ed. Instituto Sociedade, População e Natureza, Brasília-DF.
- Silva, S.M., Sampaio, K.A., Taham, T., Rocco, S.A., Ceriani, R., Meirelles, A.J.A., 2009. Characterization of oil extracted from buriti fruit (*Mauritia flexuosa*) grown in the Brazilian Amazon Region. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 86, 611–616. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1400-9>
- Stenhagen, E., Abrahamson, S., McLafferty, F.W., 1974. Registry of Mass Spectra Data Base. Government Printing Office, Washington DC.
- Valavanidis, A., Nisiotou, C., Papageorgiou, Y., Kremlí, I., Satravelas, N., Zinieris, N., Zygalki, H., 2004. Comparison of the radical scavenging potential of polar and lipidic fractions of olive oil and other vegetable oils under normal conditions and after thermal treatment. *J. Agric. Food Chem.* 52, 2358–2365. <https://doi.org/10.1021/jf030491h>
- Vásquez-Ocmín, P.G., Alvarado, L.F., Solís, V.S., Torres, R.P., Mancini-Filho, J., 2010. Chemical characterization and oxidative stability of the oils from three morphotypes of

- Mauritia flexuosa* L. f., from the Peruvian Amazon. *Grasas y Aceites* 61, 390–397. <https://doi.org/10.3989/gya.010110>
- Vidal, A.M., Dias, D.O., Martins, E.S.M., Oliveira, R.S., Nascimento, R.M.S., Correia, M.G.S., 2012. A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. *Cad. Grad. - Ciências Biológicas e da Saúde* 1, 43–52.
- Vieira, R.F., Costa, T. da S.A., Silva, D.B. da, Ferreira, F.R., Sano, S.M., 2006. *Frutas Nativas da região Centro-Oeste do Brasil*, 1^a. ed, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília.
- Wagner, H., 2011. Synergy research: Approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Fitoterapia* 82, 34–37. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.11.016>
- Watanabe, A., Nagai, J., Adachi, Y., Katsube, T., Kitahara, Y., Murakami, T., Takano, M., 2004. Targeted prevention of renal accumulation and toxicity of gentamicin by aminoglycoside binding receptor antagonists. *J. Control. Release* 95, 423–433. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2003.12.005>
- Yu, L.L., Zhou, K.K., Parry, J., 2005. Antioxidant properties of cold-pressed black caraway, carrot, cranberry, and hemp seed oils. *Food Chem.* 91, 723–729. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.044>
- Zeba, B., 2005. Overview of β -lactamase incidence on bacterial drug resistance. *African J. Biotechnol.* 4, 1559–1562.

CAPITULO 3

Composição bromatológica da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* L. f. do Cariri Cearense

Manuscrito a ser submetido para publicação no periódico: Ciência Rural.

1 **Composição bromatológica da polpa dos frutos de *Mauritia flexuosa* L. f. do Cariri**

2 **Cearense**

3
4 Carla de Fatima Alves Nonato^{1,2*}, Fabiola Fernandes Galvão Rodrigues², José Galberto Martins
5 da Costa^{1,2}

6
7 ¹Programa de Pós-graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza, Universidade
8 Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

9 ²Departamento de Química Biológica, Laboratório de Pesquisas em Produtos Naturais,
10 Universidade Regional do Cariri, 63105-000, Crato, CE, Brasil.

11
12 *Autor correspondente: carlaalvesbio@hotmail.com.

13
14 **RESUMO:** O conhecimento sobre a composição de alimentos regionais consumidos pelas
15 populações é de suma importância para a orientação nutricional. Os frutos de *Mauritia flexuosa*
16 L. f. são uma fonte alimentar que vem gerando interesse por sua composição química e
17 propriedades farmacológicas. Este estudo teve como objetivo caracterizar a composição
18 bromatológica dos frutos de *M. flexuosa* oriundos do Cariri cearense. Sua polpa foi submetida
19 às análises de umidade, acidez total, pH, proteínas, carboidratos totais, cinzas, lipídios e teor de
20 vitamina C. Todas as análises realizadas foram feitas em triplicata, sendo determinadas a média
21 e desvio-padrão. A polpa apresentou teores de 21,68% de umidade, 12,29% de acidez total,
22 3,84 de pH, 38,77% de proteínas, 29,82% de carboidratos totais, bem como valores de 3,82%
23 de cinzas, 5,91% de lipídios e 60,53 mg/100g de vitamina C.

24 **Palavras-chave:** *Mauritia flexuosa*; polpa; composição bromatológica.

25

26 INTRODUÇÃO

27 O Brasil detém um grande número de espécies frutíferas exóticas e nativas que ainda
28 são subexploradas, porém estas detêm potencial para a agroindústria e como fonte de renda
29 futura para a população local. O consumo das frutas tropicais aumenta gradativamente nos
30 mercados domésticos e internacionais devido ao crescente reconhecimento de seu valor
31 nutricional e terapêutico (RUFINO et al., 2010).

32 O conhecimento sobre a composição desses alimentos regionais consumidos pelas
33 populações é de suma importância para a orientação nutricional baseadas em elementos de
34 desenvolvimento local e diversificação da alimentação, que vão de contrapartida à massificação
35 de uma dieta industrializada e desequilibrada (TACO, 2011).

36 Dentro deste contexto está inserido o fruto de *Mauritia flexuosa* L. f., uma palmeira
37 tropical, conhecida popularmente como buriti, com alto valor ecológico, cultural e econômico
38 (KOOLEN et al., 2013). No Brasil, sua distribuição ocorre nos biomas Cerrado, oeste da
39 Caatinga, Pantanal e Amazônia, bem como também ocorre na Bolívia, Peru, Equador,
40 Colômbia, Venezuela, Trinidad e Tobago, Guiana, Suriname e Guiana Francesa (SAMPAIO;
41 CARAZZA, 2012).

42 Os seus frutos se caracterizam como uma drupa globoso-alongada com epicarpo
43 formado de escamas de cor castanho-avermelhada, mesocarpo formado por uma massa espessa
44 de cor alaranjada e endocarpo esponjoso envolvendo a semente muito dura (LORENZI et al.,
45 2006). Como fonte alimentar, estes são usados *in natura* ou na forma de sucos (sembereba),
46 vinhos fermentados, doce, bolos, geleias, dentre outros (SAMPAIO; CARAZZA, 2012).

47 Além disso, o óleo extraído da polpa dos frutos gera interesse devido à sua composição
48 química e farmacológica, por este ser rico em carotenoides, ácidos graxos e tocoferol, sugerindo
49 boa perspectiva para o uso desse produto como alternativa terapêutica e cosmética (ROSSO;
50 MERCADANTE, 2007).

51 Este trabalho teve como objetivo caracterizar a composição bromatológica dos frutos de
52 *M. flexuosa* do Cariri Cearense.

53

54 **MATERIAIS E MÉTODOS**

55 Os frutos do buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) foram coletados na Área de Proteção
56 Ambiental - APA da Chapada do Araripe (7°15'33.37"S 39°28'6.95"O) em outubro de 2016,
57 no município de Crato, Ceará, Brazil. Uma exsicata foi depositada no Herbário Caririense
58 Dárdano de Andrade-Lima – HCDAL da Universidade Regional do Cariri – URCA sob o
59 número de registro 12620. Para a realização do trabalho foram utilizados 287 g de frutos
60 maduros, submetidos ao processo de despulpamento manual.

61 Todas as análises seguiram a metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), sendo
62 estas realizadas em triplicata.

63 A acidez total foi determinada por titulação utilizando uma solução de hidróxido de
64 sódio (NaOH 0,1 M, fator= 0,97) até uma coloração rosa constante por 30 segundos. O pH foi
65 determinado pelo método potenciométrico, onde a leitura foi realizada através de um
66 peagâmetro digital previamente calibrado.

67 A umidade foi medida pelo método de secagem em estufa através da perda de peso da
68 amostra aquecida a $105 \text{ }^\circ \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, até peso constante. As cinzas foram obtidas pelo aquecimento
69 da amostra em temperatura próxima a $550 \text{ }^\circ\text{C}$ para a eliminação da matéria orgânica volátil.

70 As proteínas foram determinadas pelo método de Kjeldahl, pela conversão de nitrogênio
71 em proteína utilizando um fator de conversão de 6,25. Os lipídios totais foram mensurados
72 através de extração continua em um aparelho Soxhlet, usando éter etílico como solvente sob
73 refluxo. O teor de carboidratos foi calculado pela diferença entre 100 e a soma das porcentagens
74 de umidade, proteínas, lipídeos totais e cinzas (TACO, 2011).

75 O teor de vitamina C foi medido através do método por redução de íons cúpricos, onde
 76 a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 545 nm. Utilizou-se padrão de ácido ascórbico
 77 para curva analítica e todo o ensaio foi feito em ambiente escuro.

78

79 RESULTADOS E DISCUSSÃO

80

81 Tabela 1 - Composição bromatológica da polpa *in natura* dos frutos de *Mauritia flexuosa*.

Constituintes (%)*	Polpa <i>in natura</i>
Acidez	12,29±0,62
Cinzas	3,82±0,03
Carboidratos totais	29,82±0,00
Lipídios	5,91±0,00
pH	3,84±0,01
Proteínas	38,77±0,01
Umidade	21,68±1,15
Vitamina C (mg/100g)	60,63±0,79

82 *Os dados apresentados estão representados por média ± desvio padrão (SD).

83

84 Os resultados da composição da polpa encontram-se dispostos na Tabela 1. Pode-se
 85 observar um valor baixo de umidade (21,68%), quando comparado aos dados da literatura para
 86 frutos de indivíduos do Acre, Mato Grosso e Piauí, que variam de 48,11%, 59,69% e 54,35%,
 87 respectivamente (CARNEIRO; CARNEIRO, 2011; MESQUITA et al., 2014; SANDRI et al.,
 88 2017). Essa variação no teor de umidade pode estar relacionado ao período de coleta ou
 89 condições climáticas a que esses frutos estavam expostos (CICONINI, 2012; TANGO;
 90 CARVALHO; SOARES, 2004).

91 O pH obtido (3,84) apresentou valor semelhante ao encontrado por Castro et al. (2014)
92 de $3,47\pm 0,01$ e por Sandri et al. (2017) de $3,78\pm 0,04$. Quanto a acidez total, o buriti exibiu um
93 percentual elevado (12,29%) em relação a outras polpas da família *Arecaceae*, como a macaúba
94 (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart) e o tucumã (*Astrocaryum aculeatum* Meyer), com
95 percentuais de 0,73% e 0,69%, respectivamente (SANJINEZ-ARGANDOÑA; CHUBA, 2011;
96 YUYAMA et al., 2008), o que demonstra uma resistência maior da polpa do buriti a
97 deterioração causada por microrganismos (AROUCHA et al., 2010).

98 O teor de cinzas exibido (3,82%) foi próximo ao obtido por Mesquita et al. (2014) de
99 2,31% e um pouco acima dos obtidos por Sandri et al. (2017) e Castro et al. (2014) de 1,04% e
100 1,05%, respectivamente. Quanto aos teores exibidos por outras espécies da família *Arecaceae*,
101 o percentual de cinzas também mostrou-se acima do observado para o licuri (*Syagrus coronata*
102 (Martius) Beccari) com 1,4% e para o tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart) com 2,53%
103 (CREPALDI et al., 2001; FERREIRA et al., 2008).

104 As proteínas, carboidratos e lipídeos são os componentes dos alimentos que contribuem
105 para o fornecimento de energia que sustentam diversas funções corporais, como respiração,
106 circulação, trabalho físico e síntese proteica (MAIHARA et al., 2006). O valor expresso para
107 proteínas (38,77%) foi mais elevado do que os relatados na literatura, que variaram de 1,30% a
108 11,42% (CARNEIRO; CARNEIRO, 2011; MESQUITA et al., 2014; SANDRI et al., 2017).

109 O grupo dos carboidratos são moléculas importantes na manutenção da saúde humana,
110 onde além de fornecer energia para o organismo ele atua no aumento da saciedade, redução dos
111 níveis de colesterol sanguíneo e do risco de doenças crônicas não transmissíveis (LATULIPPE
112 et al., 2013). A polpa do buriti apresentou um índice (29,82%) superior de carboidratos totais
113 quando comparado ao obtido para o licuri, com 13,2%, porem ele se mostrou inferior ao obtido
114 por indivíduos de sua espécie na Amazônia e ao açai (*Euterpe oleracea* Mart.), com teores de
115 53,20% e 55,61%, respectivamente (CREPALDI et al., 2001; MESQUITA et al., 2014).

116 O percentual de lipídios obtido (5,91%) foi pequeno comparado aos relatados por
117 Mesquita et al. (2014) de 23,55% e por Carneiro e Carneiro (2011) de 18,16%. A discrepância
118 dos resultados obtidos com os relatados na literatura pode estar relacionado há possível
119 desidratação de frutas durante os estágios de transporte e armazenamento, bem como a aspectos
120 metodológicos não equiparáveis (SANDRI et al., 2017).

121 A vitamina C é um nutriente hidrossolúvel envolvido em múltiplas funções biológicas,
122 além de atuar como antioxidante protegendo o organismo contra a peroxidação lipídica pela
123 eliminação de radicais peróxido antes do início do processo de peroxidação, e ainda,
124 regenerando a forma ativa da vitamina E (CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007;
125 FERREIRA et al., 2010). O teor obtido para essa vitamina (60,63 mg/100g) foi maior do que o
126 obtido por Sandri et al. (2017) de 49,67 mg/100g, bem como para a macaúba (*Acrocomia*
127 *aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart) e do coquinho (*Butia capitata* Becc.) com valores de 34,57
128 mg/100g e 43 mg/100g, respectivamente (GENOVESE et al., 2008; SANJINEZ-
129 ARGANDOÑA; CHUBA, 2011).

130

131 **CONCLUSÃO**

132 O polpa do buriti obtida no Cariri cearense mostrou ser fonte de teor energético, com
133 teores de proteína e carboidratos elevados, podendo ser incorporado nas refeições de indivíduos
134 com baixo peso devido seu teor calórico. Além disso, seu teor de vitamina C atende a
135 necessidade dos consumidores por frutos ricas em antioxidantes. Assim, pelo seu teor
136 nutricional, tanto o consumo como o aproveitamento industrial ou o enriquecimento de
137 produtos para o fruto do buriti deve ser encorajado.

138

139 **REFERÊNCIAS**

140 AROUCHA, E. M. M.; GOIS, V. A.; LEITE, R. H. L.; SANTOS, M. C. A.; SOUZA, M. S.

- 141 Acidez em frutas e hortaliças. **Revista Verde**, v. 5, n. 2, p. 1–4, 2010.
- 142 CARNEIRO, T. B.; CARNEIRO, J. G. M. Frutos e polpa desidratada buriti (*Mauritia flexuosa*
143 L.): aspectos físicos, químicos e tecnológicos. **Revista Verde**, v. 6, n. 2, p. 105–111, 2011.
- 144 CASTRO, D. S.; SOUSA, E. P.; NUNES, J. S.; SILVA, L. M. M.; MOREIRA, I. S.
145 Caracterização física e físico-química de polpa de buriti (*Mauritia flexuosa*). **Revista Verde**,
146 v. 9, n. 2, p. 117–120, 2014.
- 147 CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos:
148 Controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441–449, 2007. doi:
149 10.1590/S0100-40422007000200036
- 150 CICONINI, G. **Caracterização de frutos e óleo de polpa de macaúba dos biomas Cerrado**
151 **e Pantanal do estado de Mato Grosso do Sul , Brasil**. 128f. Dissertação (Mestrado em
152 Biotecnologia) - Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, 2012.
- 153 CREPALDI, I. C.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; RIOS, M. D. G.; PENTEADO, M. V. C.;
154 SALATINO, A. Composição nutricional do fruto de licuri (*Syagrus coronata* (Martius)
155 Beccari). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 155–159, 2001. doi: 10.1590/S0100-
156 84042001000200004
- 157 FERREIRA, E. S.; LUCIEN, V. G.; AMARAL, A. S.; SILVEIRA, C. S. Caracterização físico-
158 química do fruto e do óleo extraído de tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart). **Alimentos e**
159 **Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 427–433, 2008.
- 160 FERREIRA, R. M. A.; FERNANDES, P. L. O.; FONTES, L. O.; RODRIGUES, A. P. M. S.;
161 SILVA, L. T. Antioxidantes e sua importância na alimentação. **Revista Verde**, v. 5, n. 5, p. 26–
162 30, 2010.
- 163 GENOVESE, M. I.; PINTO, M. S.; GONÇALVES, A. E. S. S.; LAJOLO, F. M. Bioactive
164 compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil.
165 **Food Science and Technology International**, v. 14, n. 3, p. 207–214, 2008. doi:

- 166 10.1177/1082013208092151
- 167 INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4^a ed.
168 São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.
- 169 KOOLEN, H. H. F.; SILVA, F. M. A.; GOZZO, F. C.; SOUZA, A. Q. L.; SOUZA, A. D. L.
170 Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti
171 (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC-ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p.
172 467–473, 1 maio 2013. doi: 10.1016/j.foodres.2013.01.039
- 173 LATULIPPE, M. E.; MEHEUST, A.; AUGUSTIN, L.; BENTON, D.; BERČÍK, P.; BIRKETT,
174 A.; ELDRIDGE, A. L.; FAINTUCH, J.; HOFFMANN, C.; JONES, J. M.; KENDALL, C.;
175 LAJOLO, F.; PERDIGON, G.; PRIETO, P. A.; RASTALL, R. A.; SIEVENPIPER, J. L.;
176 SLAVIN, J.; MENEZES, E. W. ILSI Brazil International Workshop on Functional Foods: A
177 narrative review of the scientific evidence in the area of carbohydrates, microbiome, and health.
178 **Food and Nutrition Research**, v. 57, p. 1–18, 2013. doi: 10.3402/fnr.v57i0.19214
- 179 LORENZI, H.; BACHER, L. B.; LACERDA, M. T. C.; SARTORI, S. F **Frutas Brasileiras e**
180 **Exóticas Cultivadas**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.
- 181 MAIHARA, V. A.; SILVA, M. G.; BALDINI, V. L. S.; MIGUEL, A. M. R.; FÁVARO, D. I.
182 T. Avaliação nutricional de dietas de trabalhadores em relação a proteínas, lipídeos,
183 carboidratos, fibras alimentares e vitaminas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3,
184 p. 672–677, 2006. doi: 10.1590/S0101-20612006000300029
- 185 MESQUITA, F. R.; LIMA, M. O.; ARAÚJO, J. M.; RIBEIRO, O. A. S.; CRAVEIRO, R. L.
186 Composição centesimal de frutos típicos da região do Vale Juruá - Amazônia ocidental.
187 **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 19, p. 2849–2857, 2014.
- 188 ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Identification and quantification of carotenoids, by
189 HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,
190 v. 55, n. 13, p. 5062–5072, 2007. doi: 10.1021/jf0705421

- 191 RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO,
192 F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional
193 tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010. doi:
194 10.1016/j.foodchem.2010.01.037
- 195 SAMPAIO, M. B.; CARAZZA, L. R. **Aproveitamento Integral do Fruto e da Folha do**
196 **Buriti (Maurita flexuosa)**. 1ª ed. Brasília-DF: Instituto Sociedade, População e Natureza,
197 2012.
- 198 SANDRI, D. O.; XISTO, A. L. R. P.; RODRIGUES, E. C.; MORAIS, E. C.; BARROS, W. M.
199 Antioxidant activity and physicochemical characteristics of buriti pulp (*Mauritia flexuosa*)
200 collected in the city of Diamantino – MTS. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 3, p.
201 1–6, 7 ago. 2017. doi: 10.1590/0100-29452017864
- 202 SANJINEZ-ARGANDOÑA, E. J.; CHUBA, C. A. M. Caracterização biométrica, física e
203 química de frutos da palmeira bocaiuva *Acrocomia aculeata* (Jacq) Lodd. **Revista Brasileira**
204 **de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 1023–1028, 2011. doi: 10.1590/S0100-29452011000300040
- 205 TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4ª edição ed. Campinas: NEPA -
206 Unicamp, 2011.
- 207 TANGO, J. S.; CARVALHO, C. R. L.; SOARES, N. B. Caracterização física e química de
208 frutos de abacate visando a seu potencial para extração de óleo. **Revista Brasileira de**
209 **Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 17–23, 2004. doi: 10.1590/S0100-29452004000100007
- 210 YUYAMA, L. K. O. et al. Processing and shelf-life evaluation of dehydrated and pulverized
211 tucuman (*Astrocaryum aculeatum* Meyer). **Ciência e Tecnologia em Alimentos**, v. 28, n. 2, p.
212 408–412, 2008. doi: 10.1590/S0101-20612008000200021

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise química das frações revelou variabilidade entre os valores totais e individuais de cada composto, com predominância de flavonoides, o que vai de acordo com a prospecção química e com as quantificações de fenóis e flavonoides realizadas. No óleo foi observada uma predominância de ácidos graxos saturados em relação aos insaturados.

Para a avaliação antioxidante, as amostras apresentaram uma atividade relevante, com destaque para a ação quelante de ferro que apresentou percentuais significativos para todas as amostras testadas. O que mostra potencial da polpa dos frutos de buriti como antioxidante primário e secundário.

A atividade antimicrobiana apresentada foi moderada, tendo todas as amostras exibido uma melhor efetividade frente as cepas de *Candida* testadas. Já para a modificação da atividade antibiótica, os resultados significantes se deram sobre antibióticos frente a cepas bacterianas, conseguindo aumentar a susceptibilidade aos fármacos testados.

Quanto a constituição bromatológica, a polpa do buriti mostrou-se como uma fonte de teor energético, bem como com um teor de vitamina C atende a necessidade dos consumidores por frutos ricas em antioxidantes, o que demonstra tanto atender o potencial de consumo como o aproveitamento e/ou o enriquecimento de produtos para a indústria.

Assim, espera-se que os dados aqui obtidos possam vir agregar valores nutricionais e funcionais aos frutos de *Mauritia flexuosa* L. f. como uma ferramenta para a avaliação de consumo e elaboração de novos produtos, bem como sirva de base para posteriores estudos que visem o isolamento dos compostos desse fruto e a caracterização aprofundada dos mecanismos de suas atividades biológicas.

ANEXOS

Normas para publicação no periódico: Industrial Crops and Products.

Introduction

Industrial Crops and Products, an International Journal, publishes papers reporting the results of original research, short communications and critical reviews on all aspects of industrial crops and products (defined as non-food/non-feed uses of plants and plant products). This covers a wide range of aspects of cultivation, crop improvement, crop compounds, processing, and integrated chain control, all focusing on the exploitation of agricultural crops for industrial use.

The scope of the journal covers a vast range of crops and research disciplines. Crops should contain significant renewable resources such as:

- Fibres and fibre compounds
- Carbohydrates
- Oils and fatty acids
- Waxes, resins, gums, rubber, and other polymers
- Proteins
- Essential oils for ink, lubricants, plastics, cosmetics
- Biologically active compounds for pharmaceutical, herbicides and insecticides, and preservatives.

Some examples of industrial (non-food/non-feed uses) crops are agave, cassava, crambe, cuphea, elephant grass, fibre hemp, flax, guar, guayule, jojoba, kenaf, lesquerella, maize, meadowfoam, oil palm, peas, plantago, potato, pyrethrum, rape seed, safflower, soybean, Stokes aster, sugar beet, sunflower, vernonia, and wheat.

Papers within the above indicated frame-work will be accepted if they cover or integrate research on:

- Agronomic production and modelling
- Breeding, genetics, and biotechnology
- Post-harvest treatment and storage
- (Bio)process technology
- (Bio)chemistry
- Product testing, development, and marketing
- Economics, and systems analysis and optimization

Types of paper

1. Original research papers (regular papers)
2. Review articles
3. Short Communications
4. Book Reviews

Original research papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review articles Review articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. We welcome reviews but authors should contact the Editors-in-Chief before submission to ensure appropriateness for publication.

A Short Communication is a concise but complete description of a limited investigation, which will not be included in a later paper. Short Communications should be as completely documented, both by reference to the literature and description of the experimental procedures employed, as a regular paper. They should not occupy more than 4 printed pages (about 8 manuscript pages, including figures, tables and references).

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our Support Center.

Before you begin

Ethics in publishing

Please see our information pages on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. More information.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly

by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service Crossref Similarity Check.

Preprints

Please note that preprints can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's sharing policy. Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information).

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors before submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only before the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the corresponding author: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors after the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. More information.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author

confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of existing agreements are available online.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our universal access programs.
- No open access publication fee payable by authors.

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is USD 3200, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our green open access page for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes

suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. Find out more.

This journal has an embargo period of 24 months.

Elsevier Researcher Academy

Researcher Academy is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/indcro/>

Preparation

Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. More information on types of peer review.

Use of wordprocessing software

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Do not embed "graphically designed" equations or tables, but prepare these using the wordprocessor's facility. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Do not import the figures into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text and on the manuscript. See also the section on Electronic illustrations. Lines should be double-spaced and every line and page should be numbered.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the "spell-check" and "grammar-check" functions of your wordprocessor.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- Author names and affiliations. Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.
- Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531×1328 pixels (h \times w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5×13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site.

Authors can make use of Elsevier's Illustration Services to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet

points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view example Highlights on our information site.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article. Try not to over-use abbreviations.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Nomenclature and Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Authors and Editor(s) are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the International Code of Nomenclature of Bacteria, and the International Code of Zoological Nomenclature.

All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.

All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

For chemical nomenclature, the conventions of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the official recommendations of the IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature should be followed.

Math formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible. In principle, variables are to be presented in italics.

Number consecutively any equations that have to be displayed separate from the text (if referred to explicitly in the text).

Subscripts and superscripts should be clear.

Greek letters and other non-Roman or handwritten symbols should be explained in the margin where they are first used. Take special care to show clearly the difference between zero (0) and the letter O, and between one (1) and the letter l.

Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used.

For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line.

Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered.

The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Also powers of e are often more conveniently denoted by exp.

Levels of statistical significance which can be mentioned without further explanation are: *P <0.05, **P <0.01 and ***P <0.001.

In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g., Ca²⁺, not as Ca⁺⁺. Isotope numbers should precede the symbols, e.g., ¹⁸O.

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in

the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

A DOI can be used to cite and link to electronic articles where an article is in-press and full citation details are not yet known, but the article is available online. A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/industrial-crops-and-products>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. Two authors: both authors' names and the year of publication;
3. Three or more authors: first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Reference to a website:

Cancer Research UK, 1975. Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. *Mendeley Data*, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting

in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. . In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions here to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project. Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the database linking page.

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. Before submitting your article, you can deposit the relevant datasets to Mendeley Data. Please include the DOI of the deposited

dataset(s) in your main manuscript file. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data in Brief

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into one or multiple data articles, a new kind of article that houses and describes your data. Data articles ensure that your data is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. You are encouraged to submit your article for Data in Brief as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to Data in Brief where it will be editorially reviewed and published in the open access data journal, Data in Brief. Please note an open access fee of 500 USD is payable for publication in Data in Brief. Full details can be found on the Data in Brief website. Please use this template to write your Data in Brief.

MethodsX

You have the option of converting relevant protocols and methods into one or multiple MethodsX articles, a new kind of article that describes the details of customized research methods. Many researchers spend a significant amount of time on developing methods to fit their specific needs or setting, but often without getting credit for this part of their work. MethodsX, an open access journal, now publishes this information in order to make it searchable, peer reviewed, citable and reproducible. Authors are encouraged to submit their MethodsX article as an additional item directly alongside the revised version of their manuscript. If your research article is accepted, your methods article will automatically be transferred over to MethodsX where it will be editorially reviewed. Please note an open access fee is payable for publication in MethodsX. Full details can be found on the MethodsX website. Please use this template to prepare your MethodsX article.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The

statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

After acceptance

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Webshop. Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

Author Inquiries

Visit the Elsevier Support Center to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also check the status of your submitted article or find out when your accepted article will be published.

Normas para publicação no periódico: Chemistry and Physics of Lipids

Your Paper Your Way

We now differentiate between the requirements for new and revised submissions. You may choose to submit your manuscript as a single Word or PDF file to be used in the refereeing process. Only when your paper is at the revision stage, will you be requested to put your paper in to a 'correct format' for acceptance and provide the items required for the publication of your article.

To find out more, please visit the Preparation section below.

Introduction

Chemistry and Physics of Lipids publishes research papers and review articles in the field of molecular biology which emphasise chemical and physical aspects of lipids. Accordingly, the journal covers: advances in synthetic and analytical lipid methodology; chemical and physical characterisation of isolated structures; thermodynamics, phase behaviour, topology and dynamics of lipid assemblies; physicochemical studies into lipid-lipid and lipid-protein interactions in lipoproteins and in natural and model membranes; movement of lipids within, across and between membranes; intracellular lipid transfer; structure-function relationships and the nature of lipid-derived second messengers; chemical, physical and functional alterations of lipids induced by free radicals; and the role of lipids in the regulation of membrane-dependent biological processes.

Types of paper

Full-length research articles, Review articles

Contact details for submission

Papers should be submitted using the Chemistry and Physics of Lipids online submission system <http://ees.elsevier.com/cpl>.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our Support Center.

Before you Begin

Ethics in publishing

Please see our information pages on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication.

Human and animal rights

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans; Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals. Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the ARRIVE guidelines and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed.

Conflict of interest

Chemistry and Physics of Lipids follows the ICMJE recommendations regarding conflict of interest disclosures. All authors are required to report the following information with each submission: (1) All third-party financial support for the work in the submitted manuscript. (2) All financial relationships with any entities that could be viewed as relevant to the general area of the submitted manuscript. (3) All sources of revenue with relevance to the submitted work who made payments to you, or to your institution on your behalf, in the 36 months prior to submission. (4) Any other interactions with the sponsor of outside of the submitted work should also be reported. (5) Any relevant patents or copyrights (planned, pending, or issued). (6) Any other relationships or affiliations that may be perceived by readers to have influenced, or give the appearance of potentially influencing, what you wrote in the submitted work. As a general guideline, it is usually better to disclose a relationship than not. This information will be acknowledged at publication in a Transparency Document link directly in the article. Additional information on the ICMJE recommendations can be found at: <http://www.icmje.org/>. The form for conflict of interest disclosure can be downloaded here: http://www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (if this link does not display properly in your browser, please right-click the link and select "Save Target As..." or "Save Link as..." from the pop-up menu).

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service Crossref Similarity Check.

Preprints

Please note that preprints can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's sharing policy. Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information).

Contributions: All persons designated as authors should qualify for authorship, and all those who qualify should be listed as authors. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate parts of the content. All authors should have made substantial contributions to all three of sections (1), (2) and (3) below: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content (3) final approval of the version to be submitted Each manuscript should be accompanied by a declaration of each author's contributions relating to sections (1), (2) and (3) above. This declaration should also name one or more authors (including email addresses) who take responsibility for the integrity of the work as a whole, from inception to finished article. These declarations will be included in the published manuscript. A declaration of contributions can include the following points, to be modified as appropriate:

- o Conception and design
- o Analysis and interpretation of the data
- o Drafting of the article
- o Critical revision of the article for important intellectual content
- o Final approval of the article
- o Provision of study materials or patients
- o Statistical expertise
- o Obtaining of funding
- o Administrative, technical, or logistic support
- o Collection and assembly of data

Any change in authors, author order or contributions after initial submission must be approved in writing by all authors, and changes must be explained to the editor.

Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data,

(2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors before submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only before the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the corresponding author: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors after the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of existing agreements are available online. Elsevier journals comply with current NIH public access policy.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our universal access programs.
- No open access publication fee payable by authors.

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is USD 3000, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our green open access page for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. Find out more.

This journal has an embargo period of 12 months.

Elsevier Researcher Academy

Researcher Academy is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free

to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Referees: A minimum of six suitable potential reviewers should be provided (please give their name, email address, and institutional affiliation). When compiling this list of potential reviewers please consider the following important criteria: they must be knowledgeable about the manuscript subject area; they must not be from your own institution; at least two of the suggested reviewers should be from another country than the authors'; and they should not have recent (within four years) joint publications with any of the authors. However, the final choice of reviewers is at the editors' discretion.

Preparation

NEW SUBMISSIONS

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process.

As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or lay-out that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

References

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

Figures and tables embedded in text

Please ensure the figures and the tables included in the single file are placed next to the relevant text in the manuscript, rather than at the bottom or the top of the file. The corresponding caption should be placed directly below the figure or table.

Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. More information on types of peer review.

REVISED SUBMISSIONS

Use of word processing software

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Experimental

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- Author names and affiliations. Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.
- Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided,

but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531×1328 pixels (h \times w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5×13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site.

Authors can make use of Elsevier's Illustration Services to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 125 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y . In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article.

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Preferred fonts: Arial (or Helvetica), Times New Roman (or Times), Symbol, Courier.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Indicate per figure if it is a single, 1.5 or 2-column fitting image.
- For Word submissions only, you may still provide figures and their captions, and tables within a single file at the revision stage.
- Please note that individual figure files larger than 10 MB must be provided in separate source files.

A detailed guide on electronic artwork is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalized, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF (or JPG): Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPG): Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low.
- Supply files that are too low in resolution.
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted

article. Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

1. Quote references in the text by first author's name and year. For two authors quote both names; for three or more authors, quote first author's name, et al.

2. At the end of the article, list references alphabetically by first author; include all authors' names, followed by initials and include full titles of publications.

Examples of references: a) to Journal articles: Hupfer, B., Ringsdorf, H., 1983. Spreading and polymerization behavior of diacetylene phospholipids at the gas-water interface. *Chem. Phys. Lipids* 33, 263-282. b) to books: Dahlén, G., 1990. Clinical significance of Lp[a] lipoprotein. In: Berg, K., Rettersø, N., Refsum, F. (Eds.), *From Phenotype to Gene in Common Disorders*. Munksgaard, Copenhagen, pp. 163-178. The names of the journals should be abbreviated according to the list of serial title word abbreviations (ISDS. Paris, 1985. ISBN 2-904938-02-8). Unpublished results should not be listed in the References section. In the text they are mentioned as follows "(Tervoort, M.V., Glimcher, J., unpublished data)". When unpublished results are cited, the data should be provided for the Editors' information when essential for proper evaluation, or if requested. A personal communication should be mentioned in the text as follows: "(Tervoort, M.V. personal communication)".

3. Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. *Mendeley Data*, v1.<http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>

Authors should not make unauthorized use of personal communications. Personal communications are not to be included in the References section.

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide.

Reference management software

This journal has standard templates available in key reference management packages EndNote (<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>) and Reference Manager (<http://refman.com/support/rmstyles.asp>). Using plug-ins to wordprocessing packages, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article and the list of references and citations to these will be formatted according to the journal style which is described below. CPL uses "Harvard".

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/chemistry-and-physics-of-lipids>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Free Reference Style

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:
[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. Mendeley Data, v1. <http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and

examples are available. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions here to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project. Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on

ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the database linking page.

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to Mendeley Data. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the Mendeley Data for journals page.

Data in Brief

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into one or multiple data articles, a new kind of article that houses and describes your data. Data articles ensure that your data is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. You are encouraged to submit your article for Data in Brief as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to Data in Brief where it will be editorially reviewed and published in the open access data journal, Data in Brief. Please note an open access fee of 500 USD is payable for publication in Data in Brief. Full details can be found on the Data in Brief website. Please use this template to write your Data in Brief.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

After acceptance

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Webshop. Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

Author Inquiries

Visit the Elsevier Support Center to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also check the status of your submitted article or find out when your accepted article will be published.

Normas para publicação no periódico: Ciência Rural

Objetivo e política editorial

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias que deverão ser destinados com exclusividade.

Preparação de originais

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica editados em idioma Português ou Inglês, todas as linhas deverão ser numeradas e paginados no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm, com no máximo, 25 linhas em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman, tamanho 12. O máximo de páginas será 15 para artigos científicos, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e ilustrações. Cada figura e ilustração deverá ser enviado em arquivos separados e constituirá uma página. Tabelas, gráficos e figuras não poderão estar com apresentação paisagem.

3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. (Modelo .doc, .pdf).

4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres

humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. (Modelo .doc, pdf).

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. (Modelo .doc, pdf).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos estão disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista (www.scielo.br/cr).

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave e resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. The practice of large animal surgery. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.
TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. The thyroid. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. Sampling techniques. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4. Artigo completo:

Sempre que possível o autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers) conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Product Research*, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. *Ciência Rural*, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

9.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. Anais... Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad). 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim:

ROGIK, F.A. Indústria da lactose. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. Proceedings... Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Capturado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. Transgênicos. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Capturado em 23 mar. 2000. Online. Disponível na Internet: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>.

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. *Maturitas*, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. 23 mar. 2000. Online. Disponível na Internet [http://www. Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm](http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm).

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. Anais... Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderão ser utilizados.

13. Lista de verificação (Checklist pdf ou doc)

14. A taxa de tramitação é de R\$ 80,00 e a de publicação é de R\$ 100,00 por página impressa. A taxa de publicação somente deverá ser paga após a revisão final das provas do manuscrito pelos autores. Professores do Centro de Ciências Rurais e os Programas de Pós-graduação do Centro têm os seus artigos previamente pagos pelo CCR, estando isentos da taxa de publicação. Trabalhos submetidos por esses autores, no entanto, devem pagar a taxa de tramitação. No caso de impressão colorida, todos os trabalhos publicados deverão pagar um adicional de R\$ 600,00 por página colorida impressa, independentemente do número de figuras na respectiva página. Os pagamentos poderão ser efetuados por:

a) Transferência/depósito no Banco do Brasil, Agência 1484-2, Conta Corrente 36.189-5 em nome da FATEC (CNPJ: 89.252.431/0001-59) - Projeto 96945. A submissão do artigo obrigatoriamente deve estar acompanhada da taxa de tramitação, podendo ser enviada via fax (55 3220 8695/3220 8698) ou ainda enviado por email (cienciarural@mail.ufsm.br) para que se possa fazer a verificação e prosseguir com a tramitação do artigo (Em ambos os casos o nome e endereço completo são obrigatórios para a emissão da fatura).

b) Solicitação de fatura (.doc ou .pdf). Nessa modalidade o formulário disponível deverá ser encaminhado devidamente preenchido via e-mail ou fax (55 3220 8695/3220 8698) para que possamos encaminhar a solitação a Fundação que administra os nossos recursos e esta encaminhará a fatura ao endereço especificado no formulário.

c) O pagamento da taxa de tramitação também pode ser feito por meio online através de cartão de crédito (VISA) através deste link

15. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

16. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

17. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

Critérios de avaliação

Todos os trabalhos submetidos são inicialmente examinados pela equipe CR, comitê editorial e de área e então enviados a dois avaliadores ad hoc no mínimo. As revisões são submetidas normalmente para três consultores ad hoc.