

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

NATHÁLIA MOURA JORDÃO EMERENCIANO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO DE PEQUI
EXTRAÍDO ARTESANALMENTE (*Caryocar sp.*)**

Vitória de Santo Antão
2017

NATHÁLIA MOURA JORDÃO EMERENCIANO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO DE PEQUI
EXTRAÍDO ARTESANALMENTE (*Caryocar sp.*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Graduação em Nutrição do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco em cumprimento a requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição, sob orientação da Professora Dra Silvana Gonçalves Brito de Arruda e Coorientação do professor Dr René Duarte Martins.

Vitória de Santo Antão

2017

Catálogo na Fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Giane da Paz Ferreira Silva, CRB4/ 977

- E53a Emerenciano, Nathália Moura Jordão.
Avaliação da atividade antibacteriana do óleo de Pequi extraído artesanalmente (*Caryocar sp.*) / Nathália Moura Jordão Emerenciano. – Vitória de Santo Antão, 2016.
53 folhas.: il. fig., quadros..
- Orientadora: Silvana Gonçalves Brito de Arruda.
Coorientador: René Duarte Martins
- TCC (Bacharelado em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Bacharelado em Nutrição, 2016.
Inclui bibliografia e apêndices.
1. Frutas tropicais (Aplicações terapêuticas). 2. Óleo de Pequi-Extração artesanal. 3. Óleos do cerrado. 4. Óleo fixo. I. Arruda, Silvana Gonçalves Brito de (Orientadora). II. Martins, René Duarte (Coorientador) III. Título.

579 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE- 013/2017

NATHÁLIA MOURA JORDÃO EMERENCIANO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO DE PEQUI
EXTRAÍDO ARTESANALMENTE (*Caryocar sp.*)**

TCC apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Nutrição.

Aprovado em: 11 / 01 / 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof^o. Dr. Silvana Gonçalves Brito de Arruda (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. René Duarte Martins (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Mestre Heleni Aires Clemente (Examinador Externo)
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

AGRADECIMENTOS

A gratidão maior sempre será a Deus, por me conceder e proporcionar tantas dádivas ao longo da vida e estar concluindo mais um ciclo extremamente importante como foi a sonhada graduação em Nutrição. Sua presença nessa caminhada foi essencial para o êxito.

Aproveito para deixar os mais sinceros agradecimentos também a minha família, que de uma forma ou de outra sempre se manteve presente em cada passo que dei até aqui. Em especial ao meu querido filho André Ricardo Emerenciano Filho, que tenhas a certeza que a cada escolha antes de mim eu zelo por ti.

Agradeço também aos poucos e bons amigos que já conquistei que se fazem presente até hoje, especialmente aos da graduação que diariamente fazem a palavra amizade ter sentido. Sobre afeto, sou grata também ao companheiro que seja na alegria ou na dor é quem me acolhe.

Além desses, àquele que foi essencial na conclusão desse trabalho, o especial e sempre sábio Samuel, que está continuamente presente na minha vida e da minha família.

Agradeço também a minha querida orientadora Silvana Gonçalves Brito de Arruda, que abraçou essa causa com todas as forças e fez do meu sonho o seu e ao meu coorientador maravilhoso René Duarte Martins. Todo conhecimento, carinho e lições compartilhadas não serão esquecidas jamais. Obrigada!

*“O sucesso só é capaz de acontecer quando temos
a certeza que ainda temos algo por fazer.”*

Cauã

RESUMO

O pequi é uma planta típica do cerrado brasileiro, pertencente à família *Caryocaraceae*. É considerada uma espécie de elevada importância econômica, uma vez que há variadas formas de seu consumo, atendendo aos setores alimentícios, medicinal e a indústria cosmética. Um de seus subprodutos mais utilizados é o óleo de pequi, que pode ser extraído da amêndoa ou polpa do fruto. Como componentes de maior relevância presentes neste óleo, podem-se citar os ácidos graxos oléico, palmítico, linoleico, além de carotenoides. Algumas propriedades antimicrobianas de substâncias e óleos que as plantas apresentam como metabólitos secundários vêm sendo reconhecidas popularmente há séculos, porém estão sendo confirmadas cientificamente há pouco tempo. Dessa forma, objetivou-se neste trabalho avaliar a atividade antibacteriana do óleo de pequi (*Caryocar sp.*). Os frutos (*Caryocar sp.*) adquiridos foram provenientes do município de Jardim Ceará, no estado do Ceará. A extração do óleo de pequi ocorreu no laboratório de Técnica Dietética, no Centro Acadêmico de Vitória (CAV) da Universidade Federal de Pernambuco em Janeiro de 2016. O método de extração se deu por meio artesanal através da cocção da polpa dos frutos por 40 minutos. O óleo comercializado foi proveniente da feira livre do município de Gravatá, interior do Estado de Pernambuco. Os óleos foram diluídos utilizando os solventes Cremofor e Dimetilsulfóxido (DMSO) a 50%. A atividade antibacteriana foi analisada pelo método de difusão em disco e os microrganismos utilizados nas análises foram *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi avaliada pela microdiluição em caldo utilizando as mesmas cepas. O óleo de pequi extraído artesanalmente apresentou ao fim do método de extração uma temperatura de 106°C e após a filtração obteve-se 15 ml de óleo bruto da polpa de pequi. Os ensaios antibacterianos *in vitro* realizados pelo teste de difusão em disco mostraram que os óleos de pequi não apresentaram formação de halos de inibição bacteriana significantes para as cepas, apresentando-se desta forma as amostras bacterianas resistentes aos óleos de pequi comercializado e extraído. No teste de microdiluição, os resultados alcançados confirmaram que o óleo extraído em laboratório artesanalmente e o óleo de pequi comercial não apresentaram inibição

bacteriana para as cepas testadas. O óleo de pequi foi extraído com êxito pelo método artesanal, além disso, este e o óleo de pequi comercial não apresentaram atividade antibacteriana frente às cepas testadas. Novos estudos que abordam esta temática são necessários, além de outros testes utilizando diferentes métodos de extração e espécies.

Palavras-chave: Óleo de Pequi- Extração artesanal. Óleos do cerrado. Óleo fixo. Atividade bacteriana- Difusão em disco.

ABSTRACT

The pequi tree is a typical plant of the Brazilian cerrado, belonging to the family Caryocaraceae. It is considered a species of high economic importance, since there are various forms of its consumption, serving the food, medical and cosmetic industries. One of its most used by-products is pequi oil, which can be extracted from the almond or fruit pulp. The most relevant components present in this oil are oleic, palmitic and linoleic fatty acids, as well as carotenoids. Some antimicrobial properties of substances and oils that the plants present as secondary metabolites have been popularly recognized for centuries, but have been scientifically confirmed recently. Thus, the objective of this study was to evaluate the antibacterial activity of pequi oil (Caryocar sp.). The fruits (Caryocar sp.) Purchased came from the municipality of Jardim Ceará, in the state of Ceará. The extraction of pequi oil took place in the laboratory of Dietetic Technique at the Academic Center of Vitória (CAV) of the Federal University of Pernambuco in January 2016. The method of extraction was done through artisanal cooking of fruit pulp for 40 minutes. The commercialized oil came from the free fair of the municipality of Gravatá, in the interior of the State of Pernambuco. The oils were diluted using Cremophor and Dimethylsulfoxide (DMSO) 50% solvents. The antibacterial activity was analyzed by disc diffusion method and the microorganisms used in the analyzes were *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was evaluated by broth microdilution using the same strains. The artisanal oil extracted at the end of the extraction method had a temperature of 106 ° C and after filtration 15 ml of crude oil was obtained from the pequi pulp. The in vitro antibacterial assays performed by the disk diffusion test showed that the pequi oils did not present significant bacterial inhibition halos formation for the strains, thus presenting the bacterial samples resistant to commercialized and extracted pequi oils. In the microdilution test, the results obtained confirmed that the oil extracted in the laboratory artisanal and the commercial pequi oil did not present bacterial inhibition for the tested strains. The pequi oil was successfully extracted by the artisanal method, in addition, it and the commercial pequi oil did not present antibacterial activity against the tested strains. New studies that address this theme are necessary, in addition to other tests using different extraction methods and species.

Keywords: Artisanal extraction. Cerrado oils. Fixed oil. Diffusion to disk.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Mapa da distribuição do cerrado no Brasil	16
Figura 2 - Flores e Folha da espécie <i>C. coriaceum</i> Wittm.....	18
Figura 3 - Partes do Fruto do Pequizeiro..	21
Figura 4 - Fluxograma de processamento e extração do óleo de pequi	31
Figura 5 - Desenho do teste de microdiluição em caldo (96 poços)	34
Figura 6 - Teste de difusão em Disco	36
Figura 7 - Controle negativo sem formação de halo de inibição.....	36
Figura 8 - Placa de teste de microdiluição em caldo com os poços corados em rosa confirmando contaminação bacteriana	38
Quadro 1 - Valores Médios (mg/100g) de minerais da polpa e amêndoa do pequi	23
Quadro 2 - Composição de ácidos graxos do óleo de pequi (<i>Caryocar brasiliense</i> Camb. e <i>Caryocar coriaceum</i> Wittm.)	27
Quadro 3 - Valores de carotenoides totais do óleo de pequi extraído por diferentes métodos e armazenamento por 180 dias.....	28

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	14
2.1. Objetivo Geral	14
2.2. Objetivos Específicos	14
3 JUSTIFICATIVA	15
4 REVISÃO DA LITERATURA	16
4.1. O Cerrado	16
4.2. O Pequi	17
4.2.1. Caracterização Botânica	17
4.2.2. Formas de utilização da planta	19
4.2.3. Floração e Frutificação	19
4.3. O Pequi	21
4.3.1. Informações Gerais do Fruto	21
4.3.2. Polpa e Amêndoa	22
4.4. Óleo de Pequi	25
4.4.1 Métodos de Extração	25
4.4.2. Aspectos Nutricionais e Potencial Biotecnológico	26
4.4.3 Formas de Utilização do óleo de pequi	28
5 MATERIAIS E MÉTODOS	30
5.1. Amostra	30
5.2. Óleo comercial	31
5.3. Ensaio Antibacteriano	31
5.3.1 Preparo dos Extratos	31
5.3.2. Testes de Difusão em Disco	32
5.3.3. Teste de Microdiluição em Caldo (96 poços)	32
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
7 CONCLUSÕES	40
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
REFERÊNCIAS	42
APÊNDICES	47

1 INTRODUÇÃO

O pequi é uma planta típica do cerrado brasileiro, pertencente à família *Caryocaraceae*. Esta se distribui por muitos estados do Brasil, apresentando-se em 12 espécies, sendo a de maior distribuição pelo país a *Caryocar brasiliense* Camb. Especificamente no nordeste Brasileiro é encontrada a espécie *Caryocar coriaceum* Wittm., a qual desempenha importante papel socioeconômico nos Estados do Ceará, Pernambuco e Piauí (RIBEIRO, 2000; FRANCO et al., 2004; SANTOS et al., 2004; SILVA; MEDEIROS-FILHO, 2006; OLIVEIRA et al., 2008, OLIVEIRA et al., 2010).

Do tipo drupa, o fruto do pequi pode conter de um a quatro sementes envoltas de endocarpo espinhoso e mesocarpo interno. A maturação deste ocorre em torno de setembro, podendo ser feita a colheita até aproximadamente início de fevereiro (ALMEIDA et al., 1998; LORENZI, 2000; OLIVEIRA; SCARIOT, 2010). Em relação à composição nutricional, o pequi possui um alto teor de carotenoides, é rico em lipídio, proteínas, vitamina C e outros micronutrientes (OLIVEIRA, 2006; LIMA et al., 2007; BRASIL et al., 2011; TORRES et al., 2012).

A espécie é considerada de elevada importância econômica, uma vez que há variadas formas de sua utilização, atendendo aos setores alimentícios, medicinal e a indústria cosmética. Além disso, é bastante promissora e pode ser empregada em programas de revegetação de áreas degradadas e em programas de renda familiar, pois o fruto é bem apreciado por toda população do cerrado (GRIBEL; HAY, 1993; AQUINO, 2007; OLIVEIRA; SCARIOT, 2010).

O consumo do fruto do pequi como componente da alimentação é alto nas regiões onde são produzidos. A utilização do mesocarpo interno se dá principalmente em preparações culinárias com arroz, feijões e carnes. Já a amêndoa pode ser empregada como elemento de farofas, doces e paçocas, além de ser consumida salgada como petisco (POZO, 1997; ALMEIDA, 1998; LORENZI, 2000; SILVA; MEDEIROS-FILHO, 2006).

De cor amarelo forte e sendo muito utilizado, assim como outros derivados do fruto, o óleo do pequi pode ser extraído da amêndoa ou polpa

(mesocarpo interno). Há três formas de realizar a extração, a artesanal, por extrusão mecânica e através de solvente, podendo haver diferença no quantitativo obtido a depender do método utilizado e de variantes do fruto (AQUINO, 2007; RIBEIRO et al., 2008; RIBEIRO, 2010).

Como componentes de maior relevância presentes no óleo de pequi, podem-se citar os ácidos graxos oléico, palmítico, linoleico, além de carotenoides. Ademais, este óleo contém em menor quantidade os ácidos esteárico, linolênico e palmitoléico (FACIOLI; GONÇALVES, 1998; SEGALL et al. 2006; AQUINO, 2007; GARCIA et al. 2007; BARROS et al. 2010). É utilizado pela sabedoria popular em problemas oftalmológicos relacionados a deficiência de vitamina A, gripes, no aumento da resposta imunológica a determinados tipos de infecção, dores musculares e reumáticas, na prevenção de doenças cardiovasculares e até no controle de tumores (BRANDÃO et al., 2002; RIBEIRO, 2010). Resultados positivos de atividade anti-inflamatória já são obtidos em estudo através da utilização do óleo, o que torna este com propriedades medicinais já comprovadas, despertando o interesse de maiores estudos em relação a outros possíveis atributos na área clínica (BATISTA et al., 2010).

O óleo de pequi é utilizado na indústria cosmética na produção de sabonetes e cremes para a pele e na alimentação (na produção de novos alimentos, no preparo de frituras, fabricação de licores e temperos), devido a suas propriedades químicas e aroma característico (SILVA, 1994; POZO, 1997; MARQUES, 2001; PIANOVSKI et al., 2008;).

A atividade antimicrobiana de extratos vegetais é avaliada por meio da determinação de uma pequena quantidade que seja necessária para inibição de microrganismos específicos (OSTROSKY et al., 2008). Algumas propriedades antimicrobianas de substâncias e óleos que as plantas apresentam como metabólitos secundários vêm sendo reconhecidas popularmente há séculos, porém estão sendo confirmadas cientificamente há pouco tempo. Cada vez mais, microrganismos que ocasionam prejuízos à saúde humana estão revelando-se resistentes à grande parte dos antimicrobianos comercializados, o que estimula a crescente busca por antibióticos de origem natural (DUARTE, 2006).

Considerando-se que o óleo de pequi possui propriedades químicas específicas, encontra-se em ascensão na produção, é abundantemente utilizado na cultura popular para melhor prognóstico em muitas patologias, apresenta atividade anti-inflamatória comprovada em estudo e ainda ocorrendo através da sociedade elevada busca por fármacos de origem natural, torna-se necessário avaliar a atividade antibacteriana deste óleo, uma vez que esta ação pode confirmar propriedades que conferem efeitos positivos para sua utilização (BRANDÃO et al., 2002; AQUINO, 2007; GARCIA et al. 2007; BARROS et al. 2010; BATISTA et al., 2010; RIBEIRO, 2010).

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a atividade antibacteriana do óleo de pequi extraído artesanalmente (*Caryocar sp.*)

2.2. Objetivos Específicos

- Realizar a extração do óleo de pequi do mesocarpo interno do fruto pela forma artesanal.
- Avaliar a atividade antibacteriana do óleo de pequi.
- Comparar a atividade antibacteriana do óleo de pequi artesanal comercializado com o extraído em laboratório, utilizando dois solventes distintos.
- Analisar o rendimento de extração.

3 JUSTIFICATIVA

O pequi é um fruto bastante atrativo e promissor do ponto de vista nutricional e de aplicação para outros fins, uma vez que suas propriedades, características e composição são relevantes. Tendo em vista que um de seus subprodutos, o óleo de pequi, é amplamente utilizado pela população para diversos fins terapêuticos, que variam de gripes a controle de tumores, e seu uso ocorre sem fundamentação científica, este estudo tem como proposta a busca de comprovações para efeitos já observados popularmente e, assim, seus resultados oferecerem suporte na decisão de futuros estudos experimentais e ensaios clínicos.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1. O Cerrado

O cerrado brasileiro em sua maior extensão encontra-se no Planalto Central do Brasil e é considerado o segundo maior bioma do país, ocupando cerca de 20% do território, ficando atrás apenas da Floresta Amazônica (SANTOS et al., 2004; OLIVEIRA; SCARIOT, 2010).

Este compreende como área sucessiva os Estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo, parte da Bahia, Ceará, Maranhão, Piauí e Rondônia, e ainda apresenta-se em espaços isolados, chamados de áreas de transição, ao norte nos Estados do Amapá, Amazonas, Pará e Roraima, e ao sul em pequenas áreas do Pará (SANTOS et al., 2004).

Figura 1- Mapa da distribuição do cerrado no Brasil



Fonte: ALMEIDA, 1998.

O nome dado a este bioma é utilizado frequentemente para mencionar o conjunto de ecossistemas que é formado, como matas, campos, savana e matas de galeria. Em relação ao clima, o cerrado apresenta-se de forma sazonal, especificadamente por um período chuvoso que dura dos meses de outubro a março

e consequente período seco, ocorrendo de abril a setembro (KLINK; MACHADO, 2005).

Destacado nos dias atuais como a savana mais abundante em biodiversidade do mundo, o cerrado brasileiro engloba uma grande variedade em espécies da fauna e flora e, além disso, vasta diversidade de paisagens naturais (CARRAZZA; D'ÁVILA, 2010). Dessa forma, a potencialidade extrativista deste bioma é elevada. As utilizações de seus recursos são diversas, desde alimentação a fabricação de utensílios e artesanatos, contribuindo para a subsistência das comunidades e geração de renda (OLIVEIRA; SCARIOT, 2010).

Em comunidades do Norte de Minas Gerais foram realizados estudos e observou-se que em seus arredores a vegetação do cerrado é explorada de maneira extrativista (POZO, 1997). O pequizeiro tornou-se um exemplo deste fato, uma vez que vem sendo uma espécie promissora, podendo ser utilizada em programas de revegetação de áreas degradadas e em programas de renda familiar, sendo um fruto bastante apreciado pelas comunidades do bioma. Além disso, a espécie ainda destaca-se por conter madeira de qualidade elevada (GRIBEL; HAY, 1993; CARVALHO, 1994; AQUINO, 2007).

4.2. O Pequizeiro

4.2.1. Caracterização Botânica

Pertencente à família *Caryocaraceae*, as espécies conhecidas como pequizeiro, são ainda da ordem *Theales*, composta por 25 espécies agrupadas em dois gêneros, *Caryocar* e *Anthodiscus* (OLIVEIRA et al, 2008; LONDE, 2010). Segundo Franco et al. (2004) o gênero *Caryocar*, compreende um total de 16 espécies, entre elas 12 localizam-se em território nacional.

A espécie mais encontrada no Cerrado do Planalto Central é a *Caryocar brasiliense* Camb., a qual divide-se em duas subespécies: a *C. brasiliense* subsp. *Brasiliense*, que apresenta um porte arbóreo e com larga distribuição, e a *C. brasiliense* subsp. *Intermedium*, sendo de porte arbustivo e apresentando-se em menor escala pelo ecossistema (SILVA et al., 2001). Além da espécie *C. brasiliense* Camb., encontra-se no cerrado brasileiro o *Caryocar coriaceum* Wittm. (RIZZINI,

1963). Confirma-se a presença de *C. brasiliense* nos Estados do Mato Grosso, Goiás, Mato Grosso do sul, Minas Gerais, e ainda no Norte do Paraná até a região alta de São Paulo; e *C. coriaceum*, no Centro-Oeste e em parte do Nordeste, principalmente na Chapada do Araripe no Ceará (PEIXOTO, 1973; OLIVEIRA et al, 2008).

É uma espécie nativa brasileira caracterizada por hábito arbóreo e fruto oleaginoso, podendo alcançar entre 8 e 12 m de altura, havendo variações desta medida a depender das condições ambientais e espécies (SANTOS et al., 2004; OLIVEIRA et al, 2008). Como exemplo, pode-se destacar o chamado pequizeiro anão, encontrado no sul do estado de Minas gerais, o qual chega a atingir até 1,5 m de altura. Em relação aos troncos da planta, se apresentam retorcidos e podem crescer para os lados e também próximos ao chão (OLIVEIRA; SCARIOT, 2010).

Especificamente a espécie encontrada no nordeste brasileiro, o *C. coriaceum* Wittm., apresenta um tronco de até 2 metros de diâmetro, com casca grossa, escura e rugosa. Suas folhas são opostas e ternadas, e não apresentam pelos, diferentemente da espécie *C. brasiliense* camb. Tratando-se das flores, estas são amareladas, grandes, com estames vermelhos, e apresentam-se reunidas em cachos nas extremidades da planta (Figura 2) (SILVA; MEDEIROS-FILHO, 2006; BRAGA, 1960 apud SARAIVA, 2009).

Figura 2 - Flores e Folha da espécie *C. coriaceum* Wittm.



Fonte: adaptado de SARAIVA, 2009.

O nome pequi é originário da palavra no tupi “*pyqui*” onde “py” é igual a casca e “qui” a espinho, tendo esta terminologia devido aos espinhos que o fruto apresenta ao redor da amêndoa, em seu endocarpo (ALMEIDA; SILVA, 1994; MAGALHÃES, 1988). Pode também ser conhecido por outros nomes utilizados popularmente, como piqui, piquiá, grão de cavalo, piquiá bravo e amêndoa de espinho (RIBEIRO, 2000; HARRI, 2002; SANTOS et al., 2004; SILVA; MEDEIROS-FILHO, 2006; AQUINO, 2007).

4.2.2. Formas de utilização da planta

Independente da espécie, o pequizeiro possui diversas formas de utilização, desde a madeira as folhas, por conseguinte, é avaliado com amplo interesse econômico (AQUINO, 2007; OLIVEIRA et. al, 2008).

Popularmente o pequi é utilizado na culinária, porém vem se destacando também externamente a cozinha (OLIVEIRA; SCARIOT, 2010). Sua madeira, por exemplo, é amplamente utilizada na fabricação de móveis rústicos, dormentes, moirões, postes e esteios, bem como na xilografia, construção civil e em embarcações, e ainda como outro uso menos recomendado, sendo a produção de carvão (OLIVEIRA et. al, 2008; OLIVEIRA; SCARIOT, 2010).

A casca do fruto quando macerada produz uma tintura de cor castanha escura que pode ser utilizada artesanalmente em tingimentos, além da produção de tanino. Ainda como utilização da casca pode-se citar esta na alimentação de bovinos (OLIVEIRA et. al, 2008). Seu uso por humanos é considerado de pequena escala, porém a casca é rica em fibra alimentar que possui grande importância para o funcionamento do organismo (COUTO, 2007).

4.2.3 Floração e Frutificação

O período de floração e frutificação sofre variações em relação às regiões em que se apresenta, sobretudo por motivo de diferenças de clima, temperatura, umidade e época de pluviosidade. De uma forma geral, durante o começo do período seco no cerrado ocorre o caimento de grande parte das folhas. Prontamente

após ou concomitantemente o surgimento de novas folhas ocorre à floração, o que acontece de junho a outubro. Simultaneamente com o fim do aparecimento das flores inicia-se o período chuvoso (OLIVEIRA; SCARIOT, 2010).

Pode-se destacar a situação nas regiões mais ao norte do país, como no estado do Tocantins, onde a floração e a frutificação são mais avançadas em comparação com outras regiões ao sul (OLIVEIRA; SCARIOT, 2010). Os frutos do pequizeiro iniciam sua maturação por volta de novembro, ocorrendo o pico nos meses de dezembro e janeiro, porém podem ser encontrados até fevereiro (ALMEIDA et al., 1998; LORENZI, 2000; OLIVEIRA; SCARIOT, 2010).

Especificamente o *C. coriaceum* Wittm., apresenta comportamento estacional, ocorrendo a floração entre os meses de Setembro e Novembro e a frutificação entre os meses de Dezembro e Abril. O período de frutificação é chamado de safra do pequi e acontece na mesma época de elevados índices de chuva no interior da região nordeste do país (SARAIVA, 2009).

Relata-se que a coleta do fruto não ocorre com a retirada de forma direta da planta; deve-se esperar que o pequi desprenda-se da planta para após ser colhido, uma vez que deste modo o sabor do fruto é mais apreciado. Posteriormente a queda, se não realizada a colheita de forma rápida, em média de dois a três dias os frutos ingressam em processo de senescência (OLIVEIRA, et al, 2006; SARAIVA, 2009).

Para que se evite que o fruto ao desprender-se da planta caia ao solo e sofra injúrias e contaminação torna-se necessária a colocação de uma rede ou que os frutos sejam colhidos de forma manual, ainda ligados a planta logo após o caimento de alguns frutos confirmando o correto período da colheita.

O tamanho da árvore, especialmente o da copa e tronco, são determinantes para a quantidade de frutos por safra. Afirma-se que na região norte de Minas Gerais, as espécies com troncos mais grossos, medindo acima de 25 cm de diâmetro produzem o dobro de frutos em comparação com as árvores de troncos mais finos. No sudeste do estado de Goiás, pode ser colhido de um pequizeiro adulto até 350 frutos por safra, e em outras extensões são relatadas árvores produzindo mais de 3400. O número total de frutos produzidos por uma mesma planta não difere muito de uma safra para outra (OLIVEIRA; SCARIOT, 2010).

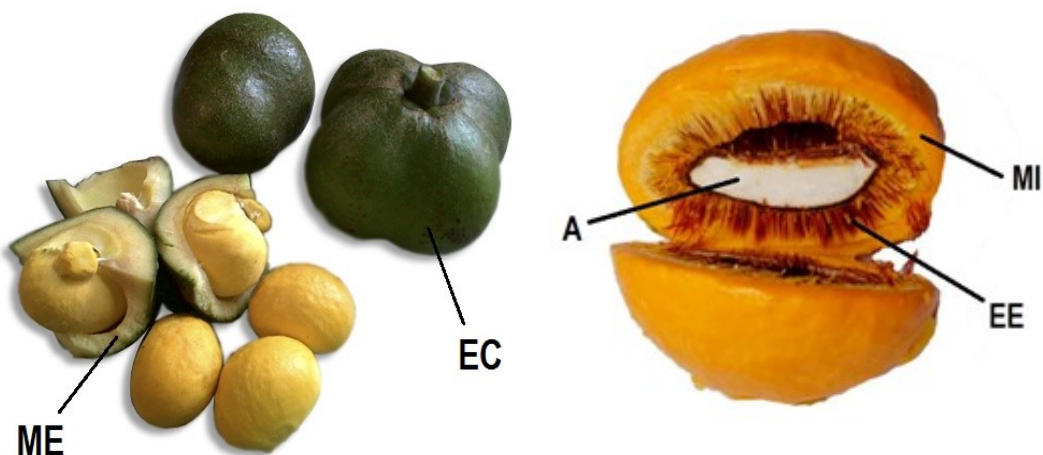
4.3. O Pequi

4.3.1. Informações Gerais do Fruto

Do tipo drupa, que por definição consiste em fruto carnoso que contém uma única semente protegida por um endocarpo, porém podendo apresentar até quatro sementes, o pequi quando maduro apresenta casca de cor verde e ligeiramente amarelada. O mesocarpo externo apresenta coloração branca, já o mesocarpo interno é de cor amarela, e além desses o fruto apresenta um endocarpo espinhoso, o qual possui a função de proteger a amêndoa. A polpa comestível do fruto equivale ao mesocarpo interno, o qual se desprende com facilidade do mesocarpo externo (ALMEIDA; SILVA, 1994; RAMOS et al., 2001; OLIVEIRA et. al, 2008).

A casca do pequi com o mesocarpo externo representa cerca de 80% do peso total do fruto, já a polpa 10% e o endocarpo juntamente com a amêndoa 6% (FERREIRA et. al., 1987; VERA et. al., 2005).

Figura 3 - Partes do Fruto do Pequizeiro. Epicarpo Coriáceo de cor verde (EC), Mesocarpo Externo (ME), Mesocarpo Interno (MI) de onde pode ser extraído o óleo, Endocarpo Espinhoso (EE) e amêndoa ou semente (A) parte que também pode ser extraído o óleo.



Fonte: Adaptado de Blog mcientífica Disponível em <<http://www.blog.mcientifica.com.br/frutas-de-a-a-z/>>/ Adaptado de Blog Caliandra do Cerrado Disponível em <<http://www.caliandrdocerrado.com.br/2010/03/conhecendo-o-pequi.html>>.

Segundo Oliveira e Scariot (2010), um fruto do pequi pode pesar de 30g a 400 g, o comprimento varia de 6 a 14 cm e possui diâmetro entre 6 e 10 cm. Porém, tratando-se especificamente da espécie *C. coriaceum* Wittm., os frutos da cidade de Crato no Ceará apresentaram variação de comprimento de 5,8 a 7,4 cm e peso de 116 a 184 g (SILVA; FILHO, 2006). Já no município de Itumirim no estado de Minas Gerais, o peso médio observado ao amadurecimento de pequis foi de 119,26 g (RODRIGUES, 2005).

4.3.2. Polpa e Amêndoa

4.3.2.1 Aspectos nutricionais e utilização

De acordo com Lima et al. (2007) através de uma análise de Composição centesimal da polpa do pequi (*C. Brasiliense* Camb.) em base úmida, esta se apresentou rica em lipídios com o valor de 33,4%, além de boa fonte de fibra alimentar (10,02%), um teor de 3% de proteínas e 11,45% de carboidratos, provendo cerca de 358 Kcal por 100g.

Em relação aos valores da amêndoa, destacam-se como componentes principais os lipídios com 51,51%, as proteínas com 25,27%, os carboidratos apresentando 8,33% e a fibra alimentar com 2,2%, e ainda apresentou uma baixa umidade e elevado valor de minerais que se observa pelas cinzas no valor de 4,01%, fornecendo 598,3 Kcal/100g (LIMA et al, 2007).

Já valores lançados (mg/100g) pelo Boletim Informativo UFMG nº 1511 (OS FRUTOS...2005) avaliaram que a amêndoa de pequi apresenta teor de gordura entre 23,8 e 28,7% e teor de proteína entre 9,7 e 20,3%, enquanto que a polpa proporciona um teor de lipídios de 20 a 27% e proteínas de 2,2 a 6,0%.

Em estudo feito com espécies nativas do Cerrado brasileiro, as quais foram o Araticum, Baru, Buriti, Cagaita, Jatobá e Mangaba, a polpa do pequi destacou-se com 2,64% de proteína, ficando atrás apenas do Jatobá e Baru, que apresentaram respectivamente 6% e 3,87%. O valor de lipídios foi o maior, atingindo 20% podendo ser comparado com valores do abacate (ALMEIDA, 1998).

Comparando-se os valores de lipídios, de acordo com Oliveira et al. (2010) em estudo que utilizou 35 plantas da Chapada do Araripe-CE, a amêndoa do pequi apresenta um teor de lipídio 1,5 vezes maior que a polpa. Em relação ao valor resíduo mineral fixo, observou-se uma diferença importante, apresentando a polpa um valor de 0,6% e a amêndoa 3,4%. No estudo de Ramos et al. (2011) que utilizou amostras de pequi de cidades do Maranhão e Piauí, os valores de minerais também se apresentaram maiores na amêndoa (Quadro 1).

Quadro 1 - Valores Médios (mg/100g) de minerais da polpa e amêndoa do pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm.)

Polpa								
Mg/100g	Ca	P	K	Mg	Cu	Mn	Zn	Fe
RAMOS et al. 2011	101,99	83,55	460,43	124,65	0,58	1,31	1,75	3,12
OLIVEIRA et al. 2010	43,05	22,45	201,55	59,99	1,70	1,59	1,37	1,01
Amêndoa								
RAMOS et al., 2011	163,59	1008,45	965,67	560,01	2,98	2,03	5,97	3,70
OLIVEIRA et al., 2010	91,42	546,24	452,07	365,77	1,04	3,84	3,12	1,42

Fonte: OLIVEIRA et al., 2010; RAMOS et al. 2011.

Em função de ser o pequi um fruto encontrado geralmente em regiões onde as árvores recebem forte incidência de raios solares, há uma maior geração de radicais livres, além disso, a polpa e a amêndoa são grandes fontes de lipídios. Dessa forma, ocorre um favorecimento a biossíntese de compostos secundários que possuem propriedades antioxidantes, como os compostos fenólicos e carotenoides totais (LIMA et al., 2007).

O Resultado é uma polpa de fruto com alta capacidade antioxidante, evidenciando a relação existente entre a quantidade de fenólicos totais e a proteção contra radicais livres (KUSKOSKI et al., 2005). A polpa do pequi apresenta 209mg/100g de fenólicos totais, esse valor é superior a maior parte dos encontrados nas polpas de frutas consumidas no Brasil (LIMA et al., 2007).

Além disso, o fruto destaca-se pelo elevado teor de carotenoides que sua polpa apresenta e de outras vitaminas, como a Vitamina C e as do complexo B (POZO, 1997; OS FRUTOS..., 2005; LIMA et al., 2007).

O teor de carotenoides totais na polpa, segundo Lima et al. (2007) é de 7,25 mg/100g, o que equivale a 72,5 µg/g. Porém, valores maiores foram encontrados na polpa do pequi crua e cozida, sendo 231,09 µg/g e 154,06 µg/g, respectivamente. Dentre os carotenoides encontrados na polpa estão o β caroteno, ζ caroteno, criptoflavina, β criptoxantina, anteraxantina, zeaxantina e mutatoxantina (RAMOS et al., 2001).

O mesocarpo interno (polpa), considerado a parte comestível do fruto, e a amêndoa são muito utilizados na alimentação humana, porém não são consumidos *in natura*. Como alternativa de uso destaca-se o pequi em preparações com arroz, galinha e feijão e também na fabricação de doces, licores e conservas (POZO, 1997; ALMEIDA, 1998; LORENZI, 2000; SILVA; MEDEIROS-FILHO, 2006).

Além disso, a polpa e a castanha são aproveitadas na extração do óleo, gerando muitos empregos e renda para a população da região. A amêndoa ainda é empregada em farofas, doces e paçocas, ou consumida salgada como petisco (ALMEIDA; SILVA, 1994; POZO, 1997; LORENZI, 2000; SILVA; MEDEIROS-FILHO, 2006; RIBEIRO, 2010).

4.4. Óleo de Pequi

4.4.1 Métodos de Extração

Atualmente na literatura são conhecidas três formas para extração do óleo de pequi: cozimento dos frutos, extrusão mecânica e uso de solventes (RIBEIRO, 2010).

A extração por cozimento consiste em uma forma artesanal antiga para obter-se o óleo da polpa do pequi. Nesse método descrito por Pozo (1997), os “caroços” dos pequis são colocados em um reservatório de metal com água e passam pelo processo de cocção por aproximadamente 40 minutos. Posteriormente ao cozimento, os “caroços” são retirados do recipiente com auxílio de uma escumadeira. Após o resfriamento à temperatura ambiente, o mesocarpo interno é retirado com uma colher e a massa resultante é levada novamente para cocção. Ao passo que ocorre a cocção da polpa adiciona-se água fria, para que o óleo liberado seja facilmente suspenso. Com a suspensão do óleo na superfície, este é retirado com o auxílio de uma colher e colocado em outro recipiente, para que possa novamente ser submetido a altas temperaturas e consequente evaporação da água restante.

Segundo Aquino (2007), para obter-se aproximadamente 2 litros de óleo de pequi são necessárias 100 dúzias do fruto. Além disso, a falta de local para armazenamento dos frutos, novas tecnologias para extração e o exaustivo ciclo produtivo, onde para obtenção de 1 litro de óleo são necessárias 10 horas de trabalho, resulta em uma baixa produção do óleo de maneira artesanal.

Já na extração mecânica os pequis são secos em estufa e posteriormente cortados em quatro partes para a retirada das amêndoas. Com a utilização de uma prensa elétrica utilizada habitualmente para extração de óleo de sementes oleaginosas, o óleo adquirido da amêndoa do pequi é filtrado em peneira fina e posteriormente em papel filtro para total separação e pureza (RIBEIRO et al., 2008).

Tratando-se da extração com a utilização de solventes o método desenvolvido por Aquino (2007) descreve que primeiramente os frutos são despulpados com o auxílio de uma faca em aço inoxidável e as polpas são levadas para estufa. Após a secagem, as polpas são trituradas até a obtenção de uma farinha. Esta é colocada

em balões junto ao solvente apolar e a extração ocorre por um sistema de batelada em uma incubadora, em equipamento que realize método soxhlet. Posteriormente o óleo será filtrado e levado à estufa para separação do solvente.

No estudo de Ribeiro (2010) foi observado diferença no quantitativo de óleo obtido através desses três métodos de extração. Os maiores resultados de rendimento foram através da extração utilizando como solvente a acetona (60,53%) e o éter etílico (58,47%). A extração mecânica obteve um resultado de 22,41% e a por cozimento 19,37%.

Os resultados anteriormente citados comprovam as afirmações feitas no estudo de Aquino (2007), onde se relata que o cozimento dos frutos reduz o teor de óleo extraído uma vez que se aumenta a umidade. Além disso, quanto menor a taxa de umidade da polpa dos frutos, maior a capacidade de extração através dos solventes apolares (AQUINO, 2007).

Além do método de extração outras variáveis podem influenciar no quantitativo do óleo obtido, como a espécie do fruto, fatores climáticos e regionais (AQUINO, 2007).

4.4.2. Aspectos Nutricionais e Potencial Biotecnológico

A utilização de óleos e gorduras para fins industriais, farmacológicos e nutricionais é destaque para importância destes. Especialmente os óleos vegetais, estão em elevada procura uma vez que são boas fontes de componentes bioativos e nutrientes funcionais, como vitaminas e ácidos graxos insaturados essenciais. Estudos estão demonstrando cada vez mais atividades farmacológicas importantes dos óleos fixos, como atividade anti-inflamatória, antiviral, antimicrobiana e antioxidante, obtidos em plantas e ervas medicinais utilizadas popularmente como terapia (SARAIVA, 2009).

No que diz respeito à composição de ácidos graxos do óleo de pequi (Quadro 2), este apresenta-se rico em ácido oleico e palmítico (FACIOLI; GONÇALVES, 1998; SEGALL et al., 2006; AQUINO, 2007; GARCIA et al., 2007; BARROS et al., 2010).

Quadro 2 - Composição de ácidos graxos do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb. e *Caryocar coriaceum* Wittm.)

Teor % (p/p)	<i>C. brasiliense</i> Camb.				<i>C. coriaceum</i> Wittm.
	FACIOLI; GONÇALVES (1998)	SEGALL et al. (2006)	GARCIA et al. (2007)	AQUINO (2007)	BARROS et al. (2010)
Ácido Graxo					
Mirístico	-	-	0,20	0,08	-
Palmítico	40,2	44,28	41,10	40,48	34,18
Palmitoléico	1,4	-	0,50	1,07	0,27
Esteárico	2,3	2,58	1,90	2,58	1,73
Oléico	53,9	48,71	54,00	54,09	55,79
Cis-vacênico	-	-	0,30	-	-
Linoléico	1,50	4,43	0,90	1,11	1,80
Linolênico	0,7	-	-	0,21	-
Araquídico	0,5	-	0,20	0,20	-
Gadoléico	-	-	0,70	0,16	-

Fonte: FACIOLI; GONÇALVES, 1998; SEGALL et al. 2006; AQUINO, 2007; GARCIA et al. 2007; BARROS et al. 2010.

Assim como é rico em ácidos graxos, o óleo de pequi também é rico em carotenoides. Os carotenoides são pigmentos naturais amplamente distribuídos pela natureza e além de contribuírem para a cor dos alimentos, alguns possuem a capacidade de quando ingeridos serem convertidos no organismo à vitamina A, como é o caso do β -caroteno, exercendo excelente papel nutricional (BOBBIO; BOBBIO, 2001; PENTEADO, 2003; RIBEIRO, 2010).

A depender da forma de extração, as quantidades de carotenoides e β -caroteno podem ser diferenciadas. No estudo de Ribeiro (2010), foi observado que

as extrações que utilizam solventes conservam de maneira mais elevada os carotenoides totais do óleo, enquanto que o teor de β -caroteno foi bastante semelhante ao alcançado por cocção e por prensa elétrica, representando mais de 90% da quantidade de carotenoides do óleo de pequi. Como explicação para o maior valor pela extração com solvente, relaciona-se à exposição do óleo a menores temperaturas ao decorrer do método de extração.

No estudo de Aquino (2007), obteve-se os valores de carotenoides de 300 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para óleo de pequi extraído com acetona, 246,70 $\mu\text{g.g}^{-1}$ com hexano e 296,10 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para a extração realizada com álcool etílico.

Em relação ao tempo de armazenamento e conservação dos carotenoides totais do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*), observou-se no estudo de Ribeiro (2010) que os carotenoides do óleo extraído por cocção apresentam maior estabilidade durante o armazenamento a temperatura ambiente. Os outros resultados encontram-se na Tabela 3.

Quadro 3 - Valores de carotenoides totais do óleo de pequi extraído por diferentes métodos e armazenamento por 180 dias

Parâmetro	Métodos de Extração	Tempo de Armazenamento		
		0 dias	90 dias	180 dias
Carotenoides totais ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Éter Etílico	426,6	267,8	266,3
	Acetona	389,5	277,3	245,0
	Mecânica	249,6	170,0	80,0
	Cocção	268,7	250,4	222,4

Fonte: RIBEIRO, 2010.

4.4.3 Formas de Utilização do óleo de pequi

O óleo de pequi, assim como o fruto, é amplamente utilizado na culinária do cerrado no arroz e como tempero em saladas, carnes, peixes e aves (POZO, 1997). Além disso, é abundantemente utilizado na indústria cosmética para a produção de sabonetes e cremes para a pele, devido as suas propriedades e composição química e de ácidos graxos aproximar-se bastante aos presentes na epiderme e

ainda conferir um potencial antioxidante (SILVA, 1994; MARQUES, 2001; PIANOVSKI et al., 2008)

Alguns estudos realizados na USP de Ribeirão preto, São Paulo, comprovaram que o pequi possui potencial de uso na produção de combustíveis e lubrificantes, onde o óleo de pequi misturado ao diesel reduz em 30% a emissão de poluentes. Encontra-se em fase de testes o biocombustível, obtido da polpa do pequi, em carros, caminhões, tratores, geradores de energia elétrica e locomotivas (USP, 2005). Segundo Petillo (2004), análises e pesquisas demonstraram que o óleo de pequi é um ótimo biodiesel e tratando-se de consumo revela-se ser 4 % mais econômico.

Devido a sua composição, ele é utilizado popularmente em problemas oftalmológicos relacionados à deficiência de vitamina A, gripes, inibição de mucosas contra úlceras gástricas, no aumento da resposta imunológica a determinados tipos de infecção, dores musculares e reumáticas, na prevenção de doenças cardiovasculares e até no controle de tumores (BRANDÃO et al., 2002; RIBEIRO, 2010). Resultados de atividade anti-inflamatória já são obtidos em estudo através da utilização do óleo, o que torna este com propriedades medicinais já comprovadas, despertando o interesse de maiores estudos em relação a outros possíveis atributos na área medicinal (BATISTA et al., 2010).

Passos et al. (2002) verificaram através de diluição em ágar, a atividade antifúngica (*in vitro*) de diferentes constituintes de "*Caryocar brasiliensis*" sobre *Cryptococcus neoformans*, microrganismo causador da criptococose considerada micose oportunista, comumente diagnosticada produzindo lesões principalmente no sistema nervoso central em pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Além disso, foi comprovada a ação cicatrizante e gastroprotetora em estudos com animais realizados com a espécie *C. coriaceum* Wittm. (BARROS et al., 2010). Pesquisas feitas por Figueiredo (2012) utilizando *C. coriaceum* Wittm., também evidenciaram atividade anti-inflamatória do óleo de pequi, além de atividade antioxidante e possível atividade hipolipemiante e hipotriglicerídica.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Amostra

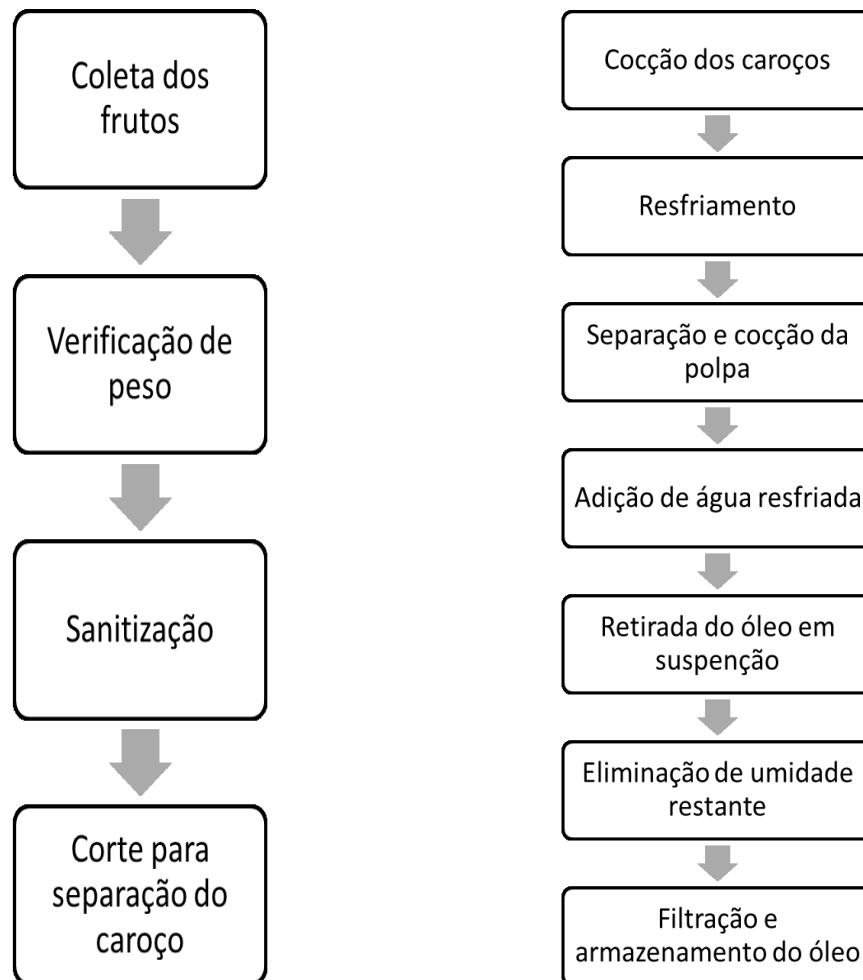
Os frutos (*Caryocar* sp.) adquiridos foram provenientes do município de Jardim Ceará, cidade localizada no sul do estado do Ceará e na região metropolitana do Cariri, com distância de 575 km para a capital de Pernambuco e aproximadamente 8 horas de viagem. Os pequis foram coletados no período de safra (Janeiro de 2016).

5.2. Extração

A extração do óleo de pequi ocorreu no laboratório de Técnica Dietética, no Centro Acadêmico de Vitória (CAV) da Universidade Federal de Pernambuco em Janeiro de 2016. O método de extração se deu por meio artesanal através da cocção da polpa dos frutos (POZO, 1997). Primeiramente pesou-se 60 unidades de pequis somando um total de 7,555 Kg (APÊNDICE A). Todos os frutos foram submersos em solução de hipoclorito de sódio a 250ppm por 15 minutos e posteriormente cortados com o auxílio de faca de aço inoxidável para separação do mesocarpo interno (polpa) e amêndoa (ambos popularmente denominados caroço), sendo descartados a casca e mesocarpo externo do pequi.

Posteriormente, o processamento térmico do mesocarpo interno e amêndoa ocorreu em fogão doméstico, com chama alta, durante 40 minutos (APÊNDICE B). Após a cocção, as amostras foram retiradas da água e permaneceram em descanso em temperatura ambiente de 24°C para resfriamento. Com o objetivo de separar a polpa do caroço, utilizou-se uma faca de aço inoxidável (APÊNDICE C). Deste processo, resultou uma extração de 519 gramas de polpa (APÊNDICE D), a qual se levou novamente a ebulição, adicionando-se 1,5 l de água gelada aos poucos com o objetivo de se obter uma suspensão, de onde o sobrenadante foi retirado com o auxílio de uma colher e levou-se à fervura para eliminação da umidade ainda presente, o tempo para evaporação total da água foi de 3 minutos. Após todo o processo de extração o óleo foi filtrado e armazenado em vidro âmbar (APÊNDICE E). Todas as etapas anteriormente citada estão expressas na Figura 4.

Figura 4 - Fluxograma de processamento e extração do óleo de pequi



Fonte: EMERENCIANO, 2016 .Elaborado pelo autor.

5.2. Óleo comercial

O óleo artesanal comercializado foi oriundo da feira livre do município de Gravatá, interior do Estado de Pernambuco. O mesmo estava contido em frasco de vidro transparente e não se teve acesso ao método de extração utilizado em sua obtenção e a origem dos frutos para sua produção (APÊNDICE F).

5.3. Ensaios Antibacterianos

5.3.1 Preparo dos Extratos

O óleo de pequi extraído artesanalmente em laboratório e o óleo de pequi comercial foram diluídos utilizando os solventes Cremofor (a 0,5%) e Dimetilsulfóxido

(DMSO) utilizando 1 ml do óleo e 1 ml do solvente, obtendo-se assim uma diluição a 50%. Desta forma, para melhor compreensão os extratos foram classificados em: A1= Solução do óleo comercial e Cremofor a 50% / A2= Solução do óleo comercial e DMSO a 50% / B1= Extrato do óleo extraído em laboratório e Cremofor a 50% / B2= Extrato do óleo extraído em laboratório e DMSO a 50%.

5.3.2. Testes de Difusão em Disco

A atividade antibacteriana do óleo de pequi foi analisada pelo método de difusão de disco, descrita por Kirby e Bauer (1966). Os ensaios ocorreram no Laboratório de Microbiologia e Imunologia do CAV/UFPE, os microrganismos utilizados nas análises foram *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, e, o repique efetuou-se em ágar *Mueller Hinton* e incubação a 35°C por 24h, anteriormente aos testes. As placas de Petri foram inoculadas através da suspensão das colônias bacterianas em salina estéril (NaCl 0,9%) na escala 0,5 de *Mac Farland* e posteriormente semeadas com *swab* estéril.

Após a inoculação foram distribuídos em cada placa um disco de papel, de 6 mm de diâmetro, impregnado com 20 µl dos extratos anteriormente citadas (A1; A2; B1; B2), um disco do controle positivo cloranfenicol e um disco impregnado apenas com água destilada estéril e no caso do teste utilizando as soluções com DMSO, o controle negativo usado foi uma solução a 50 % de DMSO e água destilada estéril e o controle positivo Amoxicilina. Os testes foram realizados em triplicatas, e as placas inoculadas foram incubadas em estufa a 35°C, durante 24 horas. Passado este período, as placas foram retiradas da estufa para análise de formação dos halos de inibição.

5.3.3. Teste de Microdiluição em Caldo (96 poços)

Objetivando-se resultados mais específicos da análise de atividade antibacteriana do óleo de pequi também se realizou a técnica de microdiluição em caldo, com a finalidade de resultados da concentração inibitória mínima (CIM). Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia e Imunologia do

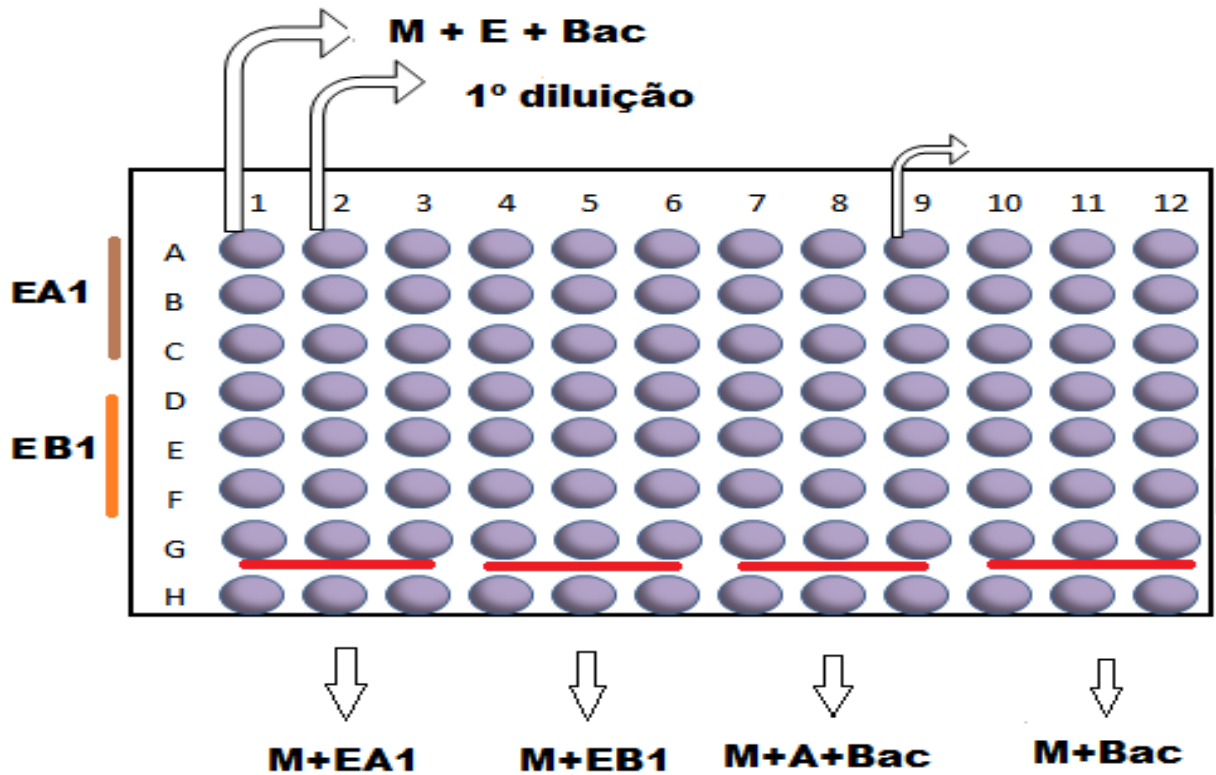
CAV/UFPE e os microrganismos utilizados nos testes foram *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, repicados em ágar *Mueller Hinton* e incubados a 35°C por 24h, anteriormente a análise. Desta forma, utilizaram-se duas placas descartáveis de 96 poços (uma para cada bactéria) e foram distribuídos 80 µL do meio caldo *Mueller Hinton* em todos os poços das placas, em seguida foram adicionados 80 µL do extrato A1 nos poços A, B e C e 80 µL do extrato B1 nos poços D, E e F da 1ª coluna. Posteriormente, com auxílio do multipipetador foram feitas as diluições (80 µL) para os poços da 2ª coluna e assim por diante, até os poços da 12ª coluna (Figura 5).

Para o preparo da solução bacteriana que foi adicionada a todos os poços das letras A a F no sentido vertical e nos do 1 a 12 no sentido horizontal, coletou-se uma discreta alçada da colônia bacteriana preparada anteriormente e adicionou-se no tubo contendo 5 ml de solução salina 0,9 % de modo que a suspensão bacteriana ficou de acordo com a escala 0,5 de *Mac Farland*. Em seguida, 1 ml dessa suspensão foi adicionada aos tubos contendo 9 ml de solução salina 0,9% e a partir disto foram acrescentados nos poços indicados 20 µL desta suspensão.

Na linha G, a fim de avaliar possíveis variações e contaminação dos extratos, os poços foram preenchidos da seguinte maneira (mesmas quantidades das citadas anteriormente): nos poços 1 ao 3 = meio caldo *Mueller Hinton* e extrato A1; nos poços 4 ao 6 = meio caldo *Mueller Hinton* e extrato B1; nos poços 7 ao 9 = meio caldo *Mueller Hinton*, 20 µL da solução bacteriana e 60 µL da solução de cloranfenicol (composta por 10 ml de solução salina 0,9 % e 0,00512 do antibiótico em pó); e nos poços 10 ao 12 = meio caldo *Mueller Hinton* e 20 µL da solução bacteriana. Terminado o processo, as placas foram incubadas em estufa a 35° C por 24h (Figura 5).

Para a verificação da menor concentração dos extratos que teve ação de inibir o crescimento bacteriano, utilizou-se o método de coloração de leituras com o revelador TTC (cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio) (0,05 g/10ml) do qual 10µL foram adicionados em cada orifício das microplacas nos testes com bactérias. Passadas duas horas, poços que permaneceram incolores representaram ausência de crescimento e de cor rosa, presença de crescimento bacteriano.

Figura 5 - Desenho do teste de microdiluição em caldo (96 poços). E= Extrato; EA1 = Extrato A1 ; EB1= Extrato B1 ; M= Meio caldo Mueller Hinton ; A= Antibiótico; BAC= Bactéria.



Fonte: Adaptado de SILVA, 2011.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo de pequi extraído artesanalmente apresentou ao fim do método de extração uma temperatura de 106°C e após a filtração obteve-se 15 ml de óleo bruto da polpa de pequi. Já no estudo de Aquino (2007) para obtenção de aproximadamente 2 litros de óleo de pequi (*C. brasiliense* Camb.) através da extração artesanal foram necessárias 100 dúzias do fruto.

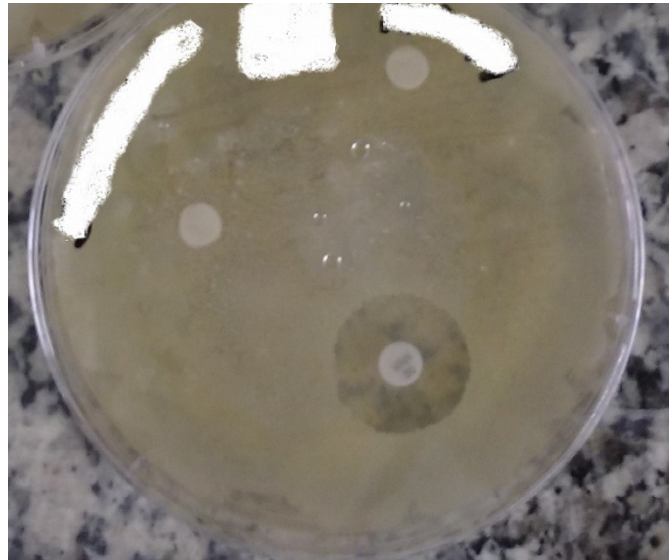
Como já descrito, para realização da extração neste trabalho utilizou-se 60 unidades de pequi e o método utilizado (artesanal) foi o mesmo de Aquino (2007). Contudo, vale salientar que cada fruto do pequi pode conter de um a quatro sementes protegidas por um endocarpo e mesocarpo interno, e uma vez que o óleo é extraído do mesocarpo interno o número deste influencia diretamente na quantidade de óleo extraído. Ademais, afirma-se que além do método de extração outras variáveis podem induzir no quantitativo do óleo obtido, como a espécie do fruto, fatores climáticos e regionais (AQUINO, 2007).

Levando-se então em consideração a quantidade de mesocarpo interno e endocarpo utilizados no presente estudo, Oliveira; Scariot (2010) afirmam que são necessários 430 “caroços” de pequi (*C. brasiliense* Camb.), ou 10 kg de “caroços”, para produzir 1 litro de óleo da polpa pela forma artesanal. Na extração em questão utilizou-se 60 unidades de caroços de pequi (mesocarpo interno, endocarpo e amêndoa), o que equivalem a 2.323 Kg. Realizando um breve cálculo percebe-se que através da afirmação de Oliveira e Scariot (2010), utilizando-se esta quantia o volume de óleo extraído seria aproximadamente 140 ml, porém deve ser levado em consideração que a quantidade de polpa, endocarpo e amêndoas utilizadas foi pequena e que possivelmente quanto maior número na realização da cocção um maior volume de óleo deve ser extraído mais facilmente.

Os ensaios antibacterianos *in vitro* realizados através do teste de difusão em disco no presente estudo para análise da atividade antibacteriana do óleo de pequi extraído em laboratório e do óleo de pequi comercial, mostraram que ambos não apresentaram formação de halos de inibição bacteriana significantes para *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli.*, apresentando-se desta forma as

amostras bacterianas resistentes aos óleos de pequi comercializado e extraído (Figura 6).

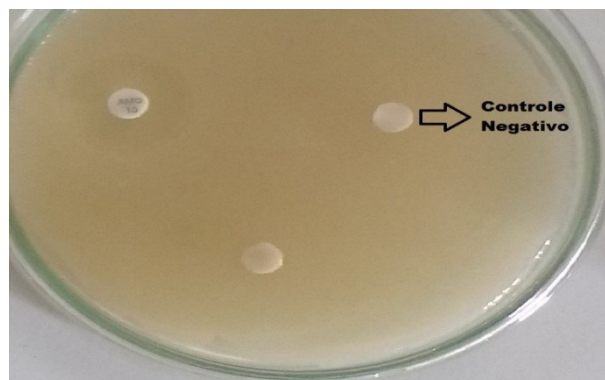
Figura 6 - Teste de difusão em Disco



Fonte: EMERENCIANO, 2016. Resultado da Pesquisa.

Em relação ao controle negativo dos testes utilizando a solução 50% com DMSO, também não houve formação de halo de inibição, o que se confirma que o solvente utilizado não apresentou caráter inibitório (Figura 7). Outros resultados eram esperados a partir destas análises e posteriormente o óleo de pequi seria testado frente a outras bactérias gram-positivas e gram-negativas e, além disso, realizaria a análise de sinergismo entre o óleo de pequi e antimicrobianos comerciais.

Figura 7 - Controle negativo sem formação de halo de inibição



Fonte: EMERENCIANO, 2016. Resultado da Pesquisa.

Respostas semelhantes foram obtidas no estudo de Pinho et al. (2012), ao avaliar a atividade antimicrobiana de extrato hidroalcoólico do farelo da casca de pequi (*C. brasiliense* Camb.), utilizando o teste de difusão em ágar, sem apresentar inibição do crescimento bacteriano para *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Já no estudo de Maia; Escher (2012), que analisou a atividade antibacteriana do óleo de copaíba (*Copaifera* sp.) e pequi (*Caryocar* sp.) utilizando o teste de disco, porém uma solução de 100% do óleo, sem utilização de solvente, o óleo de pequi apresentou halo médio de 12,1 mm, frente à bactéria *Salmonella* sp. e halo de inibição de crescimento médio de 8,5 mm, frente à cepas de *Escherichia coli*. A utilização do óleo bruto de pequi (100%) e a formação de halos de inibição são contraditórias, uma vez que pela composição do meio utilizado (ágar *Mueller Hinton*), este possivelmente não apresente permeabilidade a óleos sem a utilização de solventes (ANVISA, 2004).

Da mesma forma foram encontrados resultados positivos no estudo de Amaral et al (2012), que avaliaram a atividade antimicrobiana de um produto de higiene pessoal utilizando o extrato de pequi (*C. brasiliense* Camb.) obtido por CO₂ supercrítico através do teste de difusão em disco, obtiveram-se para o extrato contendo sabão líquido as medidas de halo de formação de 11 mm (*Staphylococcus aureus*), 13 mm (*Escherichia coli*) e 9 mm (*Pseudomonas aeruginosa*). Já quando avaliada a loção para mãos contendo extrato, as medidas dos halos foram de 11 mm (*Staphylococcus aureus*), 12,6 mm (*Escherichia coli*) e 8,2 mm (*Pseudomonas aeruginosa*). O método de extração do óleo de pequi usado pelo referido autor é bastante diferente da forma de extração artesanal, o que pode interferir nos resultados dos estudos, sendo no modo artesanal utilizada a cocção, com alta temperatura e umidade. Porém, este método foi adotado na presente pesquisa, por ser ele o utilizado na extração de óleos que são vendidos comercialmente e utilizados pela população, o que garantia neste estudo uma maior reprodutibilidade e comparação adequada.

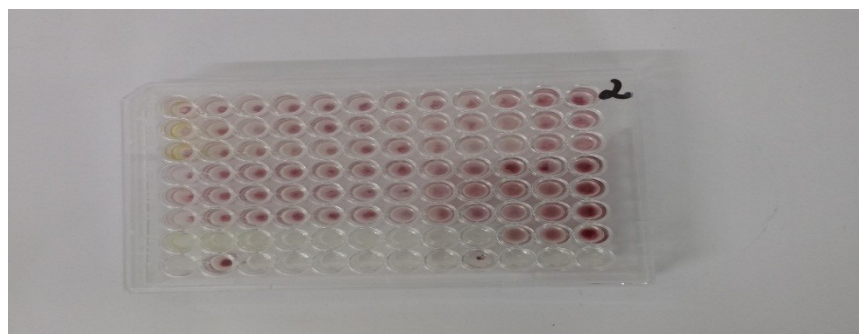
Distinta forma de extração também foi empregada no estudo de Costa et al (2011), avaliando as propriedades antibacterianas do óleo de pequi (*C. coriaceum* Wittm.) utilizando o procedimento de difusão em ágar, entretanto o óleo de pequi foi extraído através do método de solventes usando o hexano. Foram feitas soluções nas concentrações 10, 5, 2,5 e 1,25% com o óleo e DMSO e o controle negativo

empregado foi apenas água destilada estéril. Observou-se que o óleo de pequi não inibiu o crescimento bacteriano em nenhuma concentração das cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Shigella flexneri*, já em relação às cepas de *Staphylococcus aureus* apresentou-se halo de inibição de 13.7 ± 1.0 a 10%, 10 ± 0.7 a 5% e 10.7 ± 1.2 a 2,5%, não formando halo de inibição na concentração 1,25%.

Ainda sobre a cocção dos frutos como forma de extração do óleo de pequi, o método utilizado no presente estudo possivelmente modificou as características do fruto e do óleo extraído, podendo influenciar nos resultados das análises de atividade antibacteriana obtidos. Uma vez que no estudo de Gonçalves et al. (2010), concluiu-se que o cozimento de frutos do pequi provocou possível desorganização da estrutura celular, e ainda aumento da espessura da parede e redução do número de estruturas esféricas (prováveis vesículas de gordura). Além disso, Burg; Fraile (1995) afirmam que o cozimento de alimentos envolve alteração significativa de nutrientes e de suas características sensoriais.

Tratando-se do teste de microdiluição, os resultados alcançados confirmaram que o óleo de pequi extraído em laboratório artesanalmente e o óleo de pequi comercial não apresentaram inibição bacteriana para as cepas testadas (FIGURA 8). No momento de realização das análises observou-se que no período de repouso o extrato permaneceu nos orifícios das microplacas e houve separação de fases, tonando a solução não mais homogênea, o que pode ter influenciado nas respostas. Além disso, na linha G da microplaca pode-se perceber que os extratos testados não se apresentaram contaminados, uma vez que os poços permaneceram incolores.

Figura 8 - Placa de teste de microdiluição em caldo com os poços corados em rosa confirmando contaminação bacteriana



Fonte: EMERENCIANO, 2016. Resultado da pesquisa.

Realizando o mesmo teste de análise de CIM, Amaral et al (2012) avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato de pequi (*C. Brasiliense* Camb.) obtido por CO₂ supercrítico e um produto de higiene pessoal utilizando o mesmo, e observaram que realizando o teste pelo método de 96 poços o extrato de pequi obtido por CO₂ supercrítico apresentou frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* os valores de 1.25, 1.25 e 2.50 % de CIM respectivamente

Desta forma, percebeu-se que as condições de execução deste estudo envolveram muitas variáveis, as quais, possivelmente influenciaram diretamente nos resultados da pesquisa. O método de extração artesanal por ser rudimentar e não ter sido alcançado fielmente em relação a recipiente, temperatura e quantidade, provavelmente foi o maior motivador dos resultados.

7 CONCLUSÕES

Dado o exposto, percebe-se que o óleo de pequi foi extraído eficientemente pelo método artesanal, além disso, este e o óleo de pequi comercial não apresentaram atividade antibacteriana frente às cepas testadas. Os resultados obtidos foram negativos utilizando os dois solventes distintos e métodos de avaliação. Novos estudos que abordam esta temática são necessários, além de outros testes utilizando diferentes métodos de extração e espécies.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo apresenta-se apenas como uma etapa inicial de maiores pesquisas. O anseio por eliminação de dúvidas pessoais é o que mais impulsiona para a realização de outras análises. Em um futuro próximo há a pretensão de desenvolver a extração do óleo de pequi por outros métodos, mais sofisticados e distintos do utilizado nesta pesquisa. Muitas das dificuldades encontradas no decorrer deste estudo foram influenciadoras do trabalho final que se apresenta como a falta da base do experimento, transporte dos frutos, de um conhecimento mais próximo da planta, estrutura e equipamentos. Porém, cada novo resultado é essencial para toda e qualquer descoberta.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, S. P.; SILVA, J. A. **Piqui e buriti: importância alimentar para a população dos cerrados**. Planaltina (DF): EMBRAPA/ CPAC, 1994. (Documentos, 54).
- ALMEIDA, S. P. et al. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina (DF): EMBRAPA/ CPAC, 1998.
- ALMEIDA, S. P. de. Frutas nativas do cerrado: caracterização físicoquímica e fonte potencial de nutrientes. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina (DF): EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 247-285.
- AMARAL, L. F. B. et al. Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of *Caryocar brasiliense* (pequi) extract obtained by supercritical co2 extraction as active for personal care products. In: VI SEMANA DE PESQUISA DA FCM, 2012, Campinas. **Caderno de Resumos**. Campinas, 2012.
- ANVISA. **Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos**. 2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_4_2004.pdf> Acesso em: 15 nov. 2016.
- ANVISA. **Interpretação de dados microbiológicos**. 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/atm_racional/modulo2/metodos5.htm> Acesso em: 12 nov. 2016.
- AQUINO, L. P. **Extração do Óleo da Polpa de Pequi (*Caryocar Brasiliense*): Influencia das Variáveis Operacionais**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)- Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 2007.
- BARROS, A.R.C. et al. **Estudo da Atividade Gastroprotetora e Cicatrizante de *Caryocar Coriaceum Wittm.* (Pequi)**. Fortaleza, UFCE, 2009.
- BATISTA, J. S. et al. Avaliação da Atividade Cicatrizante do Óleo de Pequi (*Caryocar Coriaceum Wittm*) em Feridas Cutâneas Produzidas Experimentalmente em Ratos. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v.77, n.3, p.441-447, jul./set., 2010.
- BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento dos alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 2001.
- BRANDÃO, M. et al. **Árvores nativas e exóticas do Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002.
- BRASIL, R.V. et al. **Caracterização física e química do óleo de pequi exposto a diferentes condições de armazenamento**. Goiânia: UFG, 2011.
- BURG, P. FRAILE, P. Vitamin C destruction during the cooking of a potato dish. **Food Science and Technology**, v. 28, n.5, p. 506–514, 1995.
- CARRAZZA, L. R.; D'ÁVILA, J. C. C. **Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto do Pequi (*Caryocar brasiliense*)**. 2. Ed. Brasília (DF): EMBRAPA, 2010.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Paraná: EMBRAPA, 1994. Disponível em: < http://www.cnpf.embrapa.br/pesquisa/efb/temp/index_especies.htm> Acesso em: 15 jun 2016.

COSTA, J. G. M. et al. Antibacterial properties of pequi pulp oil (*Caryocar coriaceum* - wittm.). **International Journal of Food Properties**, v.14, n.2, p. 411-416, 2011.

COUTO, E. M. **Utilização da farinha de casca de pequi (Caryocar brasiliense Camb.)**, 2007, 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras- MG, 2007.

DUARTE, M.C.T. **Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil**. Campinas (SP): Multiciência/ Universidade Estadual de Campinas, 2006.

FACIOLI, N. L.; GONÇALVES, L. A. G. Modificação por via enzimática da composição triglicéridica do óleo de piqui (*Caryocar brasiliense* Camb). **Revista Química Nova**, v.1, n.1, p.16-19, 1998. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/qn/v21n1/3463.pdf>> Acesso em: 22 out 2016.

FIGUEIREDO, P. R. L. **Influência da administração do óleo fixo da polpa de Caryocar coriaceum Wittm. sobre parâmetros bioquímicos e histopatológicos de ratos**. 2012. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular) - Universidade Regional do Cariri, Crato- CE, 2012.

FRANCO, L. M. L., et al. A distribuição do pequi (*Caryocar brasiliense*) na estação ecológica de Itirapina, SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GEÓGRAFOS, 6, 2004, Goiânia. **Caderno de resumos**. Goiânia: AGB, 2004. p. 253.

FERREIRA, F.R. et al. Caracterização física e química de frutos maduros de pequi. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., 1987, Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1987. v.2, p.643-646.

GARCIA, C. C. et al. Thermal stability studies of some cerrado plant oils. **Journal of Thermal Analysis and Colorimetry**. Dordrecht, V.87, n. 3, p. 645-648, 2007.

GRIBEL, R.; HAY, J. D. Pollination ecology of *Caryocar brasiliense* in Central Brazil Cerrado vegetation. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v. 9, n. 2, p. 199-211, 1993.

GONÇALVES, G. A. S. et al. Qualidade do pequi submetido ao cozimento após congelamento por diferentes métodos e tempos de armazenamento. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n.5, p. 581-588, 2010.

HARRI, L. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas de Brasil**. Editora **Instituto Plantarum**, 4 ed., v 1, São Paulo, 2002.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, Brasília, v. 1, n 1, p. 148-155, 2005.

KUSKOSKI, E. M. et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

LIMA, A. et al. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, camb.). **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 29, n. 3, p. 695-698, 2007.

LONDE, L. N. **Caracterização molecular e citogenética de frutos de *Caryocar brasiliense* (Cambes) com e sem espinho no caroço**. 2010. 130 p. Tese (Doutorado em Genética e Bioquímica) - Universidade Federal de Uberlândia-UFU, Uberlândia-MG, 2010.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa (SP): Plantarum, 2000. v 1.

MAGALHÃES, H. G. et al. Estudo Estrutural do Pequizeiro *Caryocar Brasiliense* Camb. Caryocaceae, sob o Aspecto Fármaco-Químico e Botânico. **Revista de Farmácia Brasileira**. V.69, n. 1/3, p. 31-41, 1988.

MAIA, A. R. ; ESCHER, S. K. S. Ensaio in vitro da atividade antibacteriana do óleo de copaíba (*Copaifera* Sp.) e pequi (*Caryocar* Sp.). SALÃO DE PESQUISA E INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO CEULS/ULBRA, 12. Santarém. **Anais...** Santarém: CEULS/ULBRA, 2012. p 69-71.

MARQUES, M. C. S. **Estudo Fitoquímico e biológico dos extratos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 2001, 91p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2001.

MELO, J. T. **Fatores relacionados com a dormência da semente de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 1987. 91 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura de Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1987.

OLIVEIRA, M. E. et al. **Aspectos agrônômicos e de qualidade do Pequi**. Fortaleza: EMBRAPA. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2008.

OLIVEIRA, M. E. et al. Características químicas e físico-químicas de pequis da Chapada do Araripe, Ceará. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 1, p. 114-125, 2010.

OLIVEIRA, M. N. et al. Estádio de Maturação dos Frutos e Fatores Relacionados aos Aspectos Nutritivos e de Textura da Polpa do Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal – Sp. V. 28, n 3, p. 380-386, 2006.

OLIVEIRA, W. L.; SCARIOT, A. **Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável do pequi**. Brasília: EMBRAPA/Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010.

OS FRUTOS da Genética. **Boletim informativo UFMG**, n. 1511, 01/12/2005. Disponível em: <<https://www.ufmg.br/boletim/bol1511/sexta.shtml>> Acesso em: 18 out 2016.

OSTROSKY E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.2, p.301-307, 2008.

PASSOS, X. S. et al. Atividade antifúngica de *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) sobre *Cryptococcus neoformans*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.35, p.623-627, 2002.

PEIXOTO, A. R. O pequi e a lavoura no Cerrado. In: PEIXOTO, A. R (Ed.). **Plantas oleaginosas arbóreas**. São Paulo: Nobel, 1973. p. 197-226.

PENTEADO, M. V. C. **Vitaminas**: aspectos nutricionais bioquímicos, clínicos e analíticos. Barueri: Manole, 2003.

PEREIRA, N. P. **Estudo Fitoquímico do Óleo da Semente de [Camomilla Recutita (L.) Rauschert] Camomila, com Avaliação de Propriedades Físico-Químicas, Biológicas e Funcionais em Emulsões**. 2008. 192 f. Tese (Doutorado em Ciências farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

PETILLO, A. Pequi no tanque, pé na estrada. **Revista Super Interessante**, n. 205, p. 34, 2004. Disponível em: <<http://super.abril.com.br/tecnologia/pequi-no-tanque-pe-na-estrada/>> Acesso em: 11 nov 2016

PIANOVSKI, A. R. et al. Uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Mato Grosso, v. 44, n. 2, Mato Grosso, 2008.

PINHO L., et al. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim- pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. **Revista Ciência Rural**, v.42, n .2, p 323-331, 2012.

POZO, O. V. C. **O pequi (Caryocar brasiliense): uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do cerrado no norte de Minas Gerais**. 1997. 100 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

RAMOS, K. M. C. et al. Características físicas e químico-nutricionais de frutos de pequi (*Caryocar coriaceum Wittm.*) em populações naturais da região meio-norte do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.2, p.500-508, 2011.

RAMOS, M. I. L. et al. Efeito do cozimento convencional sobre os carotenóides pró-vitamínicos “A” da polpa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v.19, n.1, p. 23-32, 2001.

RIBEIRO, M. C. et al. Uso de miniprensa na extração do óleo de pequi e análise da composição centesimal da torta. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIOCOMBUSTÍVEL, 5., 2008, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2008.

RIBEIRO, M. C. **Óleo de pequi: qualidade físico-química, teor de carotenoides e uso em animais com carência de vitamina A**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2010.

RIBEIRO, R. F. **Pequi**: o rei do cerrado. Belo Horizonte: Rede Cerrado, 2000.

RIZZINI, C. T. **A flora do cerrado**. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 2., 1963, São Paulo. **Anais...** São Paulo: EDUSP, 1963. p.125-177.

RODRIGUES, L. J. **O pequi (Caryocar brasiliense Camb.): ciclo vital e agregação pelo processamento mínimo**. 2005. 168 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)– Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2005.

SANTOS, B.R. et al. **Pequi (Caryocar brasiliense Camb.): Uma Espécie Promissora Do Cerrado**. Lavras, MG : UFLA, 2004.

SARAIVA, R. A. **Efeito anti-inflamatório do óleo fixo do mesocarpo interno de *caryocar coriaceum wittm.* sobre o edema induzido por agentes flogísticos em modelos animais.** 2009, 111 p. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular) - Universidade Regional do Cariri, Crato- CE, 2009.

SEGALL, S. D. et. al. Triacylglycerol analisis of pequi (*Caryocar brasiliensis* Camb.) oil electrospray and a tendem mass spectrometry. **Journal of the Science of food and Agriculture**, Oxford, v.86, p. 445-452, 2006.

SEJAS, L. M. et al. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, p. 27-35, 2003.

SILVA, D. B. et al. Avaliação do potencial da produção do “pequizeiro-anão” sob condições naturais na região sul do Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 726-729, 2001.

SILVA, E.C. **Desenvolvimento de emulsões cosméticas utilizando o óleo de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb).** 1994. 112f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 1994.

SILVA, E. M. **Caracterização farmacognóstica, físico-química e microbiológica das folhas de anani (*Symphonia globulifera* Linn. f, *Clusiaceae*).** 2011. 113f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Pará, Belém-PA, 2011.

SILVA, M. A. P.; FILHO, S. M. Morfologia de fruto, semente e plântula de piqui (*Caryocar coriaceum* Wittm). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.37, n.3, p.320-325, 2006.

SILVA, M. A. P.; MEDEIROS FILHO, S, Emergência de Plântulas de Pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm.) **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v 37, n 3,p-381-385, 2006.

TORRES, M.P.R. et al. Características físicas e nutricionais do pequi e comparação de diferentes métodos de extração de lipídeo. **Scientific Electronic Archives**, v. 1, p. 6-10, 2012.

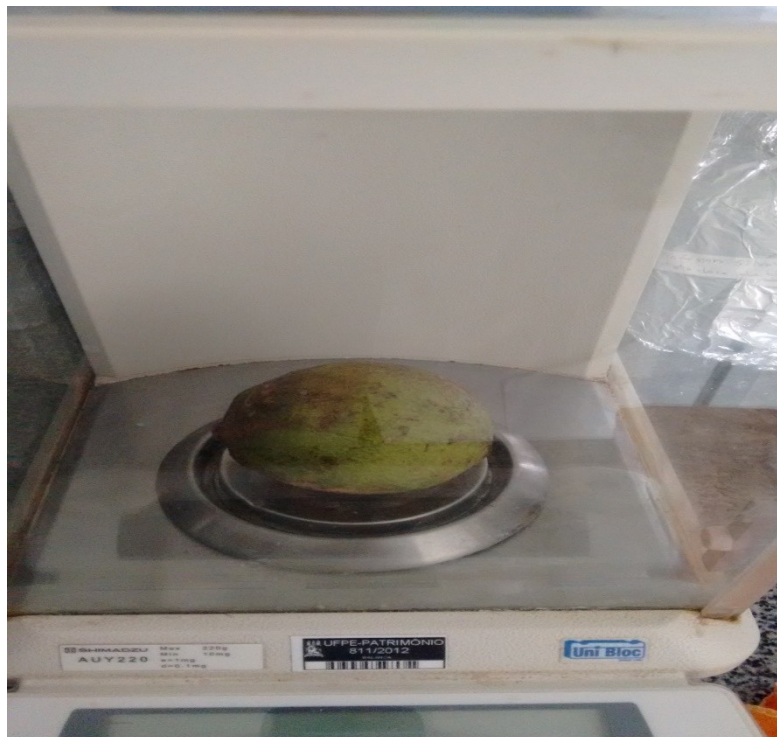
USP. Agência USP de notícias. Laboratório testa biodiesel com óleos de plantas brasileiras em veículos e locomotivas. São Paulo, **Boletim nº 1336**, 12.12.2003.. Disponível em: <<http://www.usp.br/agen/bols/2003/rede1336.htm#primdestaq>> Acesso em: 11 out. 2016.

VERA, R. et al. Caracterização física dos frutos do pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) no Estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 2, p. 71-79, 2005.

VILELA, A. L. M. **Avaliação dos Efeitos Antigenotóxicos, Antioxidantes e Farmacológicos de Extratos da Polpa do Fruto do Pequi (*Caryocar Brasiliense* Camb.).** 2009, 188 p Tese (Doutorado). Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2009.

APÊNDICE A

Pesagem dos Frutos



Fonte: Método da pesquisa

APÊNDICE B

Processamento térmico dos caroços de pequi (MI, EE e A)



Fonte: Método da pesquisa

APÊNDICE C

EE que envolve a amêndoa após a retirada do MI



Fonte: Método da Pesquisa

APÊNDICE D

MI do pequi



Fonte: Método da pesquisa

APÊNDICE E

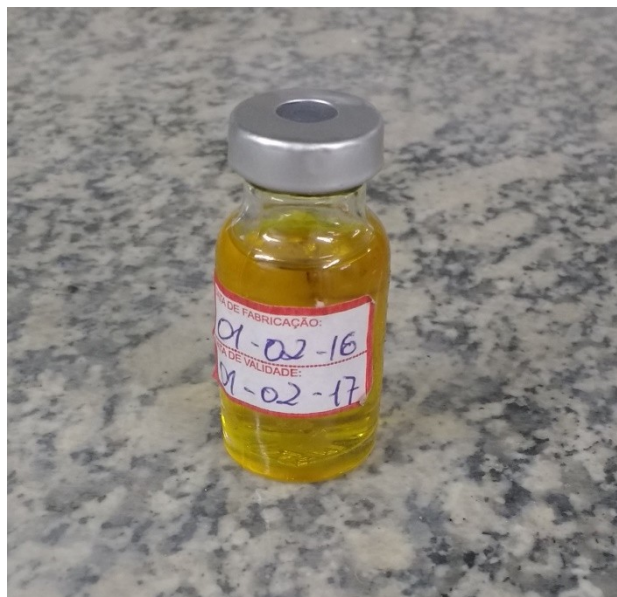
Filtração e armazenamento do óleo de pequi



Fonte: Método da pesquisa

APÊNDICE F

Óleo de pequi artesanal comercializado



Fonte: Método da pesquisa