

## CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO FIXO DA AMÊNDOA DE *Orbignia speciosa*.

Jean F. Machado<sup>1\*</sup>, Maria S. Machado<sup>2</sup>, Fábio F. G. Rodrigues<sup>2</sup>, José G. M. Costa<sup>3</sup>, Erlânio O. Sousa<sup>4</sup>

1. Estudante de graduação da Faculdade de Tecnologia em Alimentos da FATEC / CENTEC Cariri
2. Estudante de graduação da Universidade Regional do Cariri - URCA
3. Pesquisador da Universidade Regional do Cariri - URCA
4. Pesquisador da Faculdade de Tecnologia em Alimentos da FATEC / CENTEC Cariri

### Resumo:

*Orbignia speciosa* (babaçu) é uma importante palmeira cujo óleo fixo extraído da polpa é empregado, sobretudo na alimentação, remédios, além de ser alvo de pesquisas para a fabricação de biocombustíveis. O objetivo desse trabalho foi analisar a caracterização físico-química do óleo fixo da polpa extraído a frio e atividade antibacteriana frente a linhagens padrão Gram negativas e positivas por teste de microdiluição em caldo. Na análise da composição química verificou-se um teor elevado de ácidos graxos saturados (76,90%). O ácido láurico (56,28%) e o ácido oléico (23,10%) foram os majoritários. No teste antibacteriano observou-se uma atividade mais relevante para *Klebsiella pneumoniae* (CIM = 406,37 µg/mL), mas no geral o óleo não apresentou atividade relevante em termos clínico (CIM ≥ 1024 µg/mL). Os dados indicam o óleo como uma valiosa fonte nutricional de ácidos graxos, com alto conteúdo energético e potencial antibacteriano.

**Palavras-chave:** Babaçu; ácidos graxos, antibacteriano.

**Apoio financeiro:** Os autores agradecem ao apoio financeiro concedido pela Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP.

### Introdução:

Devido à diversidade molecular das plantas serem muito superior em relação a produtos sintéticos, as plantas têm tornado-se alvos de estudo no que concerne as suas propriedades microbiológicas (BEZERRA et al., 2011). O aumento da incidência de resistência bacteriana a antibióticos tem conduzido ao estudo de plantas não só pela atividade antibacteriana, mas também como um agente modificador da atividade antibiótica (COUTINHO et al., 2008). Nesse sentido, metabólitos secundários das plantas podem alterar o efeito de antibióticos, seja

umentando ou reduzindo a atividade o que pode ser uma alternativa viável para a questão da resistência (SILVA et al., 2007).

A espécie *Orbignia speciosa* (babaçu) apresenta-se como importante recurso utilizado há séculos para produção de óleo, sendo uma espécie em destaque para mais de 300 mil famílias extrativistas que têm na quebra manual do coco, para retirada da amêndoa, sua principal fonte de renda (SILVA, 2011).

As amêndoas normalmente são usadas para extração de óleo de forma artesanal, extraído através de fervura intensa do fruto em uma panela de ferro com água, por algumas horas, até obter um sobrenadante da parte gordurosa (SARAIVA, 2008). Os resíduos gerados são uma fonte de matéria orgânica que servem como fonte de proteínas, fibras, sais minerais e vitaminas (COELHO et al., 2001).

No entanto, a extração mecânica do óleo é a mais utilizada atualmente pelas indústrias e cooperativas. Ela é realizada através da prensa da amêndoa até a total extração do óleo (LUTZ, 2008). Essa forma é menos agressiva, o que certamente minimiza a oxidação do óleo e possibilita a maior vida de prateleira e maior tempo de conservação (AQUINO, 2011).

Desta feita, o objetivo desse trabalho é avaliar a caracterização físico-química, a atividade antibacteriana e moduladora do óleo fixo de *O. speciosa* obtido por prensagem a frio.

### Metodologia:

Coleta e identificação botânica

Frutos de *Orbignia speciosa* foram coletados em uma área da Chapada do Araripe (Sítio Arajara), Município de Barbalha, Ceará, Brasil. Uma exsicata (#9709) da espécie encontra-se no Herbário Caririense Dárdano Andrade Lima (HCDAL) da Universidade Regional do Cariri (URCA).

### Obtenção do óleo fixo

O óleo fixo da amendoa foi obtido por extração a frio em prensa hidráulica descontínua utilizando separadamente 100 g da amêndoa. As amostras foram adicionadas em um cilindro de aço inox e levado a prensa sob uma pressão de 15 toneladas, durante aproximadamente por 2 horas.

### Caracterização físico-química

A análise físico-química do óleo fixo foi realizada em relação aos seguintes parâmetros: umidade, pH, acidez (ácido oleico), densidade relativa, índice de peróxido, impureza em ester, índice de refração a 40 °C e cinzas (LUTZ, 2008).

### Determinação de ácidos graxos

Os ésteres metílicos foram obtidos após a derivatização dos óleos usando KOH-2N em metanol, conforme os métodos padrões da IUPAC. Os constituintes voláteis foram analisados por cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massas CG/EM *Hewlett-Packard*, Modelo 5971 equipado com coluna capilar não polar DB-1, de sílica fundida (30 m x 0,25 mm i.d., película de 0,25 µm); carregado por gás hélio; velocidade de fluxo 0,8 mL/min e modo de divisão. A temperatura do detector e do injetor foi de 280 °C. A temperatura do forno foi programada para 180 °C com gradiente de temperatura de 180 a 220 °C em 3 °C/min. Um 1 µL de solução de óleo em acetona (5 mg/mL) foi injetado. Os componentes individuais foram identificados por correspondência de seus espectros de massas e utilizando índices de retenção (IR) como uma pré-seleção, bem como por comparação visual da fragmentação padrão com aqueles relatados na literatura (ADAMS, 2001).

### Teste de antibacteriano

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada em triplicata pelo método de microdiluição em *Brain Heart Infusion* (BHI) 10 %, usando uma suspensão de 10<sup>5</sup> UFC/mL em placas de microdiluição com 96 poços, com diluições em série 1/1, utilizando um inóculo de 100 µL e uma quantidade de 100 µL do produto, que foi diluída de maneira seriada variando em 512 – 8 µg/mL (JAVADPOUR et al., 1996). As CIMs foram registradas como as menores concentrações para a inibição do crescimento.

Nas análises foram utilizadas sete linhagens de bactérias padrão cedidas pela Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus cereus* ATCC 33018, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027,

*Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Shigella flexneri* ATCC 12022 e *Proteus vulgaris* ATCC 13315, as quais foram mantidas em infusão de coração em Agar (HIA, Difco Laboratories Ltda.). Antes dos ensaios foram cultivadas por 24 h a 35 °C em caldo de infusão de cérebro e coração (BHI, Difco Laboratories Ltda). A leitura foi realizada com 20 µL de resazurina sódica (Sigma), um indicador colorimétrico de oxidorredução (MANN; COX; MARKHAM, 2000).

### Resultados e Discussão:

Os resultados da caracterização físico-químicas estão expressos na tabela 1.

Tabela 1: Propriedades físico-químicas do óleo fixo da polpa de *O. speciosa* – OFPOs.

Análises	*OFPOs
Umidade (% p/p)	0,09
pH	6,41
Acidez (% ácido oléico)	4,60
Densidade relativa (g/cm <sup>3</sup> )	0,30
Índice de peróxido (meq/Kg)	4,40
Índice de refração (40 °C)	1,45
Cinzas (% material mineral)	0,18

\*Valores correspondem à média das análises em triplicatas.

O teor de umidade foi inferiores a 1,0%, sugerindo uma durabilidade, estabilidade e qualidade química do óleo (CECCHI, 2003). O valor da acidez de 4,60% também reflete estabilidade contra a neutralização. O valor para o índice de peróxido foi baixo, 4,40 meq/Kg, indicando uma maior resistência à oxidação.

O valor do pH foi de 6,41, sendo esse parâmetro importante, pois indica a faixa inibitória de varias linhagens de bactérias (VIEIRA, 1994). O índice de refração foi de 1,46. Esse critério é bastante utilizado como critério de qualidade e identidade do óleo. A densidade encontrada a partir da medição direta foi de 0,30 (g/cm<sup>3</sup>) e o valor de cinzas de 0,18% em material minieral.

As análises dos espectros da CG/EM permitiram a identificação de 4 constituintes, respondendo a 100% dos ácidos graxos presentes (Tabela 2). O óleo fixo caracterizou-se por um elevado teor de ácidos graxos saturados (76,90%), cujo ácido láurico foi o mais representativo (56,28%); e baixo teor de ácido graxo saturado (23,10%), sendo representado pelo o ácido oléico (23,10%).

O padrão de constituintes majoritários observado nesse trabalho é diferente do que foi verificado para o óleo extraído a quente.

Darnet et al. (2011) encontraram os ácidos oléico (75,7%) e palmítico (18,9%) em maiores quantidades na composição química do óleo. Similarmente, Silva et al. (2009) encontraram o ácido oléico (74,0%) e palmítico (16,7%) como principais constituintes deste óleo. Ácidos graxos insaturados foram predominante em ambos trabalhos.

Tabela 2: Ácidos graxos identificados no óleo fixo da polpa de *O. speciosa* – OFPOs.

Constituintes	RT (min)	OFPOs (%)
<b>Saturado</b>		<b>76,90</b>
Ácido láurico (C12:0)	16.94	56,28
Ácido mirístico (C14:0)	21.65	14,38
Ácido palmítico (C16:0)	27.70	6,24
<b>Insaturado</b>		<b>23,10</b>
Ácido oléico (C18:1)	31.18	23,10
<b>Total</b>		<b>100,00</b>

Os resultados mostram que a atividade antibacteriana mais significativa do óleo foi frente a *K. pneumoniae* (CIM = 406,37 µg/mL). Para as demais linhagens não foi observada atividade relevante termos clínico (CIM ≥ 1024 µg/mL), conforme mostrado na tabela 3.

Tabela 3: Valores da Concentração Inibitória Mínima – CIM do óleo fixo da polpa de *O. speciosa* – OFPOs.

Linhagens bacterianas	OFPOs
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	> 1024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	406,37
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	> 1024
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> TCC 9027	> 1024
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536	> 1024
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 33018	> 1024
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	> 1024

A atividade antibacteriana de ácidos graxos de óleo fixos pode ser atribuída às propriedades detergentes dessas moléculas, frente à estrutura anfipática da membrana celular bacteriana. A capacidade que os detergentes têm de solubilizar componentes da membrana (lipídeos e proteínas) ocasiona cortes nessa estrutura que acarretam dificuldades na captação de nutrientes, inibição da atividade enzimática e a geração da peroxidação tóxica (DESBOIS; SMITH, 2010).

Existem vários relatos do potencial antibacteriano de óleos fixos. Costa et al. (2011) mostraram a atividade antibacteriana do óleo fixo da polpa do pequi na inibição do crescimento de várias linhagens de bactérias. Saraiva et al. (2011) observaram também atividade antibacteriana para o óleo fixo da

polpa do pequi, com CIM de 512 µg/mL para as bactérias multirresistentes *S. aureus* e *E. coli*. O óleo da semente da *Malus sp.* (macieira) também mostrou atividade frente a linhagem padrão de *E. coli* e *S. aureus* (CIM = 512 µg/mL) (TIAN; ZHAN; LI, 2010).

### Conclusões:

As propriedades observadas colocam o óleo como uma valiosa fonte de ácidos graxos saturados com alto conteúdo energético e potencial relativo contra as linhas bacterianas analisadas.

### Referências bibliográficas

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy**. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, 2001.

AQUINO, J. S. **Avaliação físico-química e experimental do óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) em ratos e da sua utilização em formulação de biscoitos**. 2011. Tese de Doutorado (Doutorado em Nutrição) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2011.

BEZERRA, D.A.C.; RODRIGUES, F.F.G.; COSTA, J.G.M.; PEREIRA, A.V.; SOUSA, E.O. RODRIGUES, O.G. **Abordagem fitoquímica, composição bromatológica e atividade antibacteriana de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke**. Acta Scientiarum Biological Sciences. v. 33, n. 1, p. 99-106, 2011.

CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Editora da UNICAMP, Campinas, São Paulo. 2003.

COELHO, M.A.Z.; LEITE, S.G.F.; ROSA, M.F.; FURTADO, A.A.L. **Aproveitamento de resíduos agroindustriais: produção de enzimas a partir da casca de coco verde**. Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v. 19, n. 1, p. 33-42, 2001.

COSTA, J.G.M.; BRITO, S.A.; Nascimento, E.M.M.; Botelho, M.A.; RODRIGUES, F.F.G.; Fabíola F. G.; Coutinho, H.D.M. **Antibacterial Properties of Pequi Pulp Oil (*Caryocar coriaceum* - WITTM.)**. International Journal of Food Properties. v. 14, n. 2, p. 411-416, 2011.

COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; LIMA, E. O. **In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-MRSA strains.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18 (Supl). p. 670-675, 2008.

DARNET, S.H.; SILVA, L.H.M.; RODRIGUES, A.M.C.; LINS, R.T. **Nutritional composition, fatty acid and tocopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa*) and patawa (*Oenocarpus bataua*) fruit pulp from the Amazon region.** Food Science and Technology. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 31, n. 2, p. 488-491, 2011.

DESBOIS, A.P.; SMITH, V.J. **Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential.** Applied Microbiology and Biotechnology, v. 85, n. 6, p. 1629-1642, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos.** 1ª Edição. São Paulo: IAL, 2008.

JAVADPOUR, M. M.; JUBAN, M. M.; LO, W. C.; BISHOP, S. M.; ALBERTY, J. B.; COWELL, S. M.; BECKER, C. L.; MCLAUGHLIN, M. L. **De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity.** Journal of Medicinal Chemistry, v. 39, n. 16, p. 3107-3113, 1996.

MANN, C. M.; COX, S. D.; MARKHAM, J. L. **The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC6749 contributes to its tolerance to the essential oil *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil).** Letters in Applied Microbiology, v. 30, n. 4, p. 294-297, 2000.

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. 2008. 115 f.** Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular) – Universidade Regional do Cariri, Crato, 2008.

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. 2008. 115 f.** Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular) – Universidade Regional do Cariri, Crato, 2008.

SILVA, A. P. S. **Caracterização físico-química e toxicológica do pó de mesocarpo do babaçu (*Orbignya phalerata* Mart): subsidio para o desenvolvimento de produtos.** 2011. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, PiauÍ, 2011.

SILVA, J.G.; SOUZA, I.A.; HIGINO, J.S.; SIQUEIRA-JUNIOR, J.P.; PEREIRA, J.V.; PEREIRA, M.S.V. **Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 17, n. 4, p. 572-577, 2007.

SILVA, S.M.; SAMPAIO, K.A.; TAHAM, T.; ROCCO, S.A.; CERIANI, R.; MEIRELLES, A.J.A. **Characterization of oil extracted from buriti fruit (*Mauritia flexuosa*) grown in the Brazilian Amazon region.** Journal of the American Oil Chemists Society, v. 86, n. 7, p. 611-616, 2009.

TIAN, H.L.; ZHAN, P.; LI, K.X. **Analysis of components and study on antioxidant and antimicrobial activities of oil in apple seeds.** International Journal Food Science Nutrition., v. 61, n. 4, 395-403, 2010.

VIEIRA, F.F. **Análise de óleos vegetais.** U.E.P.B. Campina Grande, 1994. 45p.