

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIBACTERIANA DE ÓLEOS VEGETAIS

ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF VEGETABLE OILS

Mariana Moreira Figueira

Farmacêutica, Universidade Vila Velha, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Vila Velha – Espírito Santo, marianamoreiraf12@gmail.com

Marcio Guidoni

Farmacêutico, Universidade Vila Velha, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Vila Velha – Espírito Santo, marcioguidoni@hotmail.com

Marcio Fronza

Farmacêutico, Universidade Vila Velha, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Vila Velha – Espírito Santo, marcio.fronza@uvv.br

RESUMO

Os derivados vegetais sempre despertaram a curiosidade da comunidade científica em virtude de seu uso popular para os mais diversos propósitos. Pesquisas têm demonstrado interesse na investigação da capacidade de produtos naturais atuarem como antioxidantes ou antimicrobianos, ações possíveis de serem aplicadas no tratamento e prevenção de diversas patologias. Devido a vasta utilização de óleos vegetais pela população em geral, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial sequestrante de radicais livres e, antibacteriano de seis óleos vegetais, bem como, o efeito sinérgico em uma mistura padronizada. Para este fim, foram utilizados diversos testes reconhecidos pelo meio acadêmico, que revelaram um considerável potencial antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva), destacando-se o óleo de oliva e linhaça que apresentou valor de Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 250 µg/mL. Por outro lado, os óleos de girassol e linhaça apresentaram efeito antibacteriano contra a bactéria Gram-negativa testada, *Escherichia coli*, apresentando um valor CIM de 1000 µg/mL. Além disso, os óleos vegetais demonstraram moderada ação sequestrante do radical óxido nítrico, com destaque para o

óleo de oliva e o blend de óleos vegetais. Com base nos resultados apresentados, conclui-se que os óleos vegetais possuem potencial atividade antioxidante, especialmente sobre as espécies reativas de nitrogênio e atividade antibacteriana, com ênfase para a bactéria Gram-positiva *S. aureus*. Esses resultados são importantes para a utilização de óleos vegetais como alternativa natural no tratamento e prevenção de patologias.

Palavras-chave: óleos vegetais; antioxidante; antibacteriana.

ABSTRACT

Vegetable derivatives have always aroused the curiosity of the scientific community due to their popular use for various purposes. Research has shown an interest in investigating the ability of natural products to act as antioxidants or antimicrobials, actions that can be applied to the treatment and prevention of various pathologies. Due to the widespread use of vegetable oils by the general population, this study aimed to evaluate the free radical scavenging and antibacterial potential of six vegetable oils, as well as the synergistic effect in a standardized mixture. For this purpose, various tests recognized by the academic community were used, which revealed a considerable antibacterial potential against *Staphylococcus aureus* (Gram-positive), with olive and flaxseed oil standing out with a Minimum Inhibitory Concentration (MIC) value of 250 µg/mL. On the other hand, only sunflower and flaxseed oils showed antibacterial effects against the Gram-negative bacteria tested, *Escherichia coli*, with an MIC value of 1000 µg/mL. Additionally, the vegetable oils showed a moderate scavenging action of the nitric oxide radical, with olive oil and the standardized oil mixture standing out. Based on the results presented, it can be concluded that vegetable oils have potential antioxidant activity, especially on reactive nitrogen species, and antibacterial activity, with emphasis on the Gram-positive *S. aureus* bacteria. These results are important for the use of vegetable oils as a natural alternative in the treatment and prevention of pathologies.

Keywords: vegetable oils; antioxidant; antibacterial.

INTRODUÇÃO

Os óleos vegetais são substâncias obtidas a partir de plantas e têm sido utilizados pela humanidade há milhares de anos. Sua origem remonta às civilizações antigas, que utilizavam óleos como o de oliva, para fins culinários e terapêuticos. Atualmente, há uma grande variedade de óleos vegetais disponíveis, com diversas propriedades e usos (FERNANDES, et al. 2018). Os óleos extraídos de espécies vegetais são historicamente

utilizados para os mais diversos propósitos industriais e alimentares. As matérias-primas são variadas, mas o consumo mundial baseia-se principalmente em óleos de palma, soja, canola (colza) e girassol, além da menor utilização de óleos de algodão, amendoim, coco e oliva (ASA, 2015).

Os óleos vegetais são ricos em ácidos graxos essenciais, vitaminas e compostos bioativos, que lhes conferem um alto valor nutricional e terapêutico (ÇELIK, ÖZGEN, 2020). Pesquisas com derivados vegetais direcionaram-se a constituintes químicos relacionados a efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, sendo investigada sua efetividade na redução do risco de aterogênese. Policosanóis, fitoesteróis, esqualeno, álcoois triterpenos, carotenóides e tocoferóis são reconhecidos componentes da fração insaponificável de sementes oleaginosas e podem atuar de forma sinérgica em alimentos ou suplementos como inibidores de radicais livres (CALIGIANI et al., 2010).

A composição dos óleos vegetais varia de acordo com a planta de origem, mas geralmente são ricos em ácidos graxos insaturados, como o ácido oleico, o ácido linoleico e o ácido alfa-linolênico. Além disso, muitos óleos vegetais contêm compostos bioativos, como os polifenóis e carotenoides, que lhes conferem um alto poder antioxidante (LÓPEZ-CORTÉS, et al. 2021).

Óleos vegetais contêm substâncias antioxidantes com potencial efeito protetor dos sistemas biológicos, por inibirem espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, nocivas aos lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos do organismo humano. Além disso, estes compostos protegem os óleos vegetais da ação de radicais livres promotores da peroxidação lipídica, motivo principal da degradação destas gorduras e relevante fonte de prejuízos à indústria alimentícia (CASTELO-BRANCO; TORRES, 2011).

Os óleos vegetais têm sido estudados quanto às suas propriedades medicinais, e a pesquisa tem demonstrado um grande potencial dessas substâncias. Os óleos vegetais são conhecidos por suas propriedades terapêuticas, que incluem efeitos anti-inflamatórios, analgésicos, antifúngicos e antibacterianos. Além disso, esses óleos podem ser utilizados para o tratamento de uma ampla gama de condições de saúde, como doenças cardíacas, diabetes, distúrbios digestivos, problemas de pele e artrite (ROOPCHAND, et al., 2020).

Um estudo feito por ORHAN et al. (2011) avaliou a capacidade antimicrobiana de diversos óleos vegetais comestíveis, determinando atividade antibacteriana de diversos ácidos graxos, com ação inibitória sobre inúmeras cepas bacterianas (incluindo o *Staphylococcus aureus* resistente à Meticilina – MRSA). Destaca-se a ação de ácidos

graxos insaturados de cadeia longa (ácidos oleico e linoleico), não atuando, porém, mediante um mecanismo de ação específico como agentes antimicrobianos (ORHAN et al., 2011).

Devido a ampla utilização dos óleos vegetais, frequentemente empregados pela indústria farmacêutica e cosmética, este trabalho selecionou o Óleo de Rosa Mosqueta (*Rosa aff. Rubiginosa*), o Óleo de Oliva (*Olea europaea sativa*), Óleo de Groselha Negra (*Ribes nigrum L.*), Óleo de Girassol (*Helianthus annuus L.*), Óleo de Macadâmia (*Macadamia integrifolia Maiden & Betche*) e o Óleo de Linhaça (*Linum usitatissimum L.*) para a investigação dos seus possíveis efeitos antimicrobianos e antioxidantes.

A rosa mosqueta (*Rosa aff. rubiginosa*), planta do gênero *Rosa* e da família *Rosaceae*, é natural do Mediterrâneo e Europa Central, chegou à América do Sul por intermédio dos colonizadores espanhóis, e se desenvolveu na região sul e central do Chile como uma planta selvagem, em solos secos de baixo valor agrícola (SANTOS et al., 2009). De suas sementes é extraído o óleo, rico em ácidos graxos mono, poli-insaturados e saturados, além de flavonoides, proantocianidinas, carotenoides e catequinas, estes polifenóis com intenso potencial antioxidante (SANTOS et al., 2009). Destaca-se ainda uma alta concentração de ácido trans retinóico ou tretinoína, substância conhecida por sua eficiência como queratolítico, cicatrizante, antipsoriático (FRANCO et al., 2007) e utilizada há mais de quarenta anos no tratamento da acne vulgar (BALDWIN et al., 2013). Devido à sinergia das substâncias citadas, atribui-se ao óleo de rosa mosqueta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias (por inibição in vitro da quimiotaxia de neutrófilos humanos), potencial atividade bacteriostática (SANTOS et al., 2009) e antiviral (FRANCO et al., 2007).

O azeite de oliva é um óleo extraído do fruto da *Olea europaea sativa*, planta que se espalhou a partir do Oriente Médio para o Ocidente. É composto por uma fração glicérica, contendo alto teor de ácidos graxos monoinsaturados (Ex: ácido oléico) e uma fração não-glicérica insaponificável, onde encontram-se os compostos fenólicos, como tirosol, hidroxitirosol e oleuropeína (CICERALE et al., 2010). Estudos demonstraram potente inibição in vitro da oxidação de LDL promovida pelo conteúdo fenólico do óleo de oliva, além de reduzirem a taxa de peroxidação de ácidos graxos, neutralizarem espécies reativas de oxigênio, reduzirem marcadores de inflamação e demonstrarem possuir in vitro atividade antimicrobiana e redutora da atividade plaquetária humana (CICERALE et al, 2010). Outro estudo demonstrou que os ácidos oleico e linoleico podem ser utilizados em feridas como agentes pró-inflamatórios durante a fase inflamatória do processo de cicatrização, contribuindo para acelerar o processo de reparo (HATANAKA et al., 2006).

A groselha negra (*Ribes nigrum* L.) é originária do nordeste asiático, sendo também encontrada no centro e leste europeu (GOPALAN et al., 2012). O óleo extraído de suas sementes, contém uma das mais altas concentrações de ácido gama-linolênico, um ácido graxo ômega-6 essencial, capaz de atuar como intermediário na biossíntese de prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos, além de serem relatadas ações antiproliferativas, redutora da gordura corporal, facilitadora da beta-oxidação de ácidos graxos no fígado e efetivo como agente citotóxico em câncer superficial de bexiga. Também é rico em tocoferóis (vitamina E), reconhecidas substâncias antioxidantes, responsáveis por manter a integridade do ácido gama-linolênico no interior da semente, protegendo-o contra a peroxidação lipídica (GOFFMAN; GALLETI, 2001).

O girassol é uma dicotiledônea oriunda da América do Norte, exportada posteriormente para a Europa (TELLES, 2006). Assim como grande parte dos óleos de origem vegetal, o óleo de girassol é, principalmente, composto por dois ácidos graxos poli-insaturados: alta concentração de ácido linoleico (TELLES, 2006), mais vulnerável à oxidação (MASUCHI et al., 2008), porém de grande importância na dieta humana (ALVES et al., 2012), e em menor concentração o ácido linolênico. Essas variações de teor ocorrem devido às variações do clima, cultivo e maturação (TELLES, 2006). De acordo com PROTTEY et al. (1977) “ácidos linoleico e araquidônico, são importantes na manutenção da barreira cutânea para evitar a perda de água e como precursores de prostaglandinas, os quais estão ambos envolvidos na regulação da divisão celular e diferenciação da epiderme, e conseqüentemente no controle do processo de descamação da pele”. O ácido linoleico é o mais potente mediador pró-inflamatório pois auxilia na migração de granulócitos e macrófagos (PROTTEY, et al., 1977).

A noqueira macadâmia (*Macadamia integrifolia* Maiden & Betche), tem origem na Austrália Oriental. Possui amêndoa de coloração creme localizada dentro do fruto da macadâmia (PIZA; MORIYA, 2014), dispondo de farto teor de óleo com reconhecida qualidade, classificado como “gourmet oil” (PIZA; MORIYA, 2014). Possuem pequena oferta e diversas formas de uso, podendo atingir preços elevados (DE SOUZA et al., 2007). As amêndoas de Macadâmia possuem mais de 75% de seu peso em óleo, abundante em ácidos graxos monoinsaturados (como ácido oleico), capazes de reduzir o colesterol LDL e triglicérides séricos, diminuindo o risco de infarto agudo do miocárdio (DE SOUZA et al., 2007, AKHTAR et al. 2006 e KAIJSER et al., 2000). Testes feitos com óleo de macadâmia, mostraram que este é de fácil rancificação durante o armazenamento à temperatura ambiente, talvez devido a um baixo conteúdo de tocoferol, insuficiente para contribuir em sua estabilidade (KAIJSER et al., 2000 e PIMENTEL et al., 2005). O óleo de macadâmia,

por conter ácidos palmitoleico e oleico, é utilizado para tratar ferimentos e como cosmético, sem serem conhecidos os mecanismos de ação e o efeito do mesmo sobre células envolvidas no reparo tecidual. Imagina-se uma atuação sobre os queratinócitos que formam as camadas celulares mais externas da epiderme e importantes na integridade da pele, por participarem da resposta imune e cicatrização, expressando citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento (HATANAKA, E., 2006).

Herbácea pertencente à família das Lináceas, a Linhaça ou Linho (*Linum usitatissimum* L.), é nativa da Europa, Ásia e Região Mediterrânea (FRANCO, 2011 e MARQUES et al., 2011). Sua semente é usada na produção de óleo e farelo, rico em fibras, proteínas e gordura. Embora usada na alimentação humana, a maior parte de seu cultivo é destinado às indústrias de óleo para tintura e para ração animal (MARQUES et al., 2011). Cerca de 40% do peso das sementes de linhaça é óleo, dotado de um dos mais abundantes teores de ácidos graxos poli-insaturados – 56,6% de ácido linolênico (ômega 3) e 13,2% de ácido linoleico (ômega 6) -, além de ácidos graxos monoinsaturado – 17,8% de ácido oleico (FRANCO, 2011). O ácido linolênico, pode ser convertido no organismo humano em ácido eicosapentaenoico e docosahexaenóico, estes transformados em prostaglandinas e leucotrienos com atividade imunomoduladora. Também compõe a fonte energética e matéria-prima do tecido nervoso, forma substâncias reguladoras da pressão arterial e frequência cardíaca, da coagulação, da dilatação dos vasos e da lipólise (FRANCO, 2011). Mas apesar de abundante, o ácido linolênico é sensível a luz, ao aquecimento e à presença de oxigênio – causando sua perda de qualidade devido à sua oxidação (MARQUES et al., 2011).

Com base no exposto acima, e embasados na ampla utilização desses óleos vegetais na indústria farmacêutica e cosmética, este trabalho teve como objetivo principal avaliar o efeito antioxidante e antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* de seis óleos vegetais isoladamente, bem como, o efeito sinérgico deles em um blend padronizado de óleos vegetais.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção da amostra vegetal

Os óleos vegetais de rosa mosqueta, oliva, groselha negra, girassol, macadâmia e

linhaça foram gentilmente cedidos pela Farmácia Vivence (Colatina - ES) acompanhados de seus respectivos laudos analíticos comprovante alto grau de pureza e características básicas atestadas pelo laudo do fabricante Florien. Foram investigadas amostras isoladas dos óleos, além de uma mistura, um blend padronizados dos óleos vegetais. O blend de óleos vegetais foi preparado pela mistura direta de óleo de linhaça (15%), óleo de groselha (10%), azeite de oliva (20%), óleo de rosa mosqueta (10%), óleo de macadâmia (15%) e óleo de girassol (30%). O blend e os óleos foram armazenados em frasco de vidro âmbar na ausência de luz e umidade em temperatura ambiente.

Reagentes e solventes

Os seguintes reagentes foram utilizados para a execução dos testes biológicos: dimetilsulfóxido (DMSO), álcool etílico 95 %, Naftiletlenodiamino Dihidroclorídrico (NEED), Sulfanilamida, Ácido Gálico, Caldo Mueller-Hinton, Ampicilina e Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (CTT). Todos os solventes e reagentes utilizados apresentavam grau analítico e foram adquiridos comercialmente das marcas Sigma-Aldrich, NEON, Vetec e Dinâmica.

Atividade antioxidante determinada pela análise do sequestro do radical óxido nítrico (NO)

A capacidade sequestrante dos óleos vegetais sobre o radical NO foi determinada utilizando nitroprussiato de sódio (NPS) como doador de nitrito de acordo com as metodologias de MAIA et al. (2010) e BOORA et al. (2014) com modificações. Um volume de 75 µL de NPS 1,25 mM em água foi adicionado a diferentes concentrações da amostra (62,5; 125 e 500 µg/mL) e incubada sob luz ultravioleta (9w) em temperatura ambiente por 10 minutos. O ácido gálico 500 µg/mL foi usado como controle positivo. Para a quantificação de nitrito, a amostra foi misturada ao mesmo volume de reagente de Griess (1% sulfanilamida em ácido fosfórico 5% e 0,1 % de diidrocloreto de naftiletlenodiamina em água; 1:1) (GREEN et al., 1982). A concentração de nitrito gerado a partir da decomposição espontânea do NPS foi calculada por regressão linear utilizando-se uma solução padrão de nitrito de sódio (200 µM – 3,13 µM). A leitura da absorbância das placas para a quantificação de nitrito foi realizada em espectrofotômetro (Molecular Devices Spectra MAX 190), e a absorbância do cromóforo medida a 540 nm. Os resultados foram expressos porcentagem

de inibição.

Análise da atividade antibacteriana

A análise da atividade antibacteriana foi realizada pelo método de micro diluição em caldo, onde foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) contra as cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 8739) conforme metodologia CLSI, 1999 (M26A). Para a determinação da CIM, os óleos foram preparados na concentração de 100 e 20 mg/mL em DMSO e subsequentemente diluídos em PBS. As bactérias utilizadas foram repicadas e cultivadas em ágar Müeller-Hinton e incubadas na estufa a 36 °C, para seu crescimento, por 24 horas. Primeiro, produziu-se uma solução com as bactérias, cuja concentração inicial foi ajustada pela escala McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) em solução salina (0,85%).

Em seguida, foi transferido 1 mL da solução contendo as bactérias para outro tubo contendo 9 mL de salina 0,85%. Homogeneizou-se, e realizou-se novamente uma diluição (1:10) com caldo Müeller-Hinton, seguido da adição de mais 10 mL de caldo, gerando uma concentração de 1×10^6 UFC/mL. Reservou-se na microplaca poços para controle positivo, contendo somente caldo com inóculo; controle negativo com caldo estéril; controle DMSO com inóculo mais DMSO a 10%; com antibiótico (ampicilina) e inóculo e os poços restantes usados para as amostras. O experimento foi feito utilizando 150 µL de todos os componentes. Para as amostras, foi realizada a diluição seriada, sendo desprezados 150 µL nos últimos poços para manter a equivalência nos volumes. Após a adição do inóculo e amostras, as placas foram incubadas a 36 °C por 24 h, e posteriormente adicionado 50 µL do indicador CTT (0,1 % em solução salina 0,85%). Após 6 h de incubação, a CIM foi determinada como a menor concentração capaz de inibir o crescimento visível de bactérias, visualizada pela ausência da coloração avermelhada CLSI 1999 (M26A).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade antioxidante dos óleos vegetais avaliados pela capacidade sequestrante do radical NO

Os óleos vegetais apresentaram atividade sequestrante do radical NO em diferentes

intensidades e, em alguns casos, de forma dose-dependente. O ácido gálico foi utilizado como controle positivo neste experimento, na concentração de 500 µg/mL, e apresentou uma atividade inibitória de aproximadamente 50%. Nos gráficos seguintes, são apresentados os efeitos dos óleos testados isoladamente e do blend desenvolvido no presente estudo.

O óleo de girassol apresentou uma inibição do radical NO de forma dose dependente, observando-se um efeito inibitório que variou de 11% até 44% nas concentrações de 62,5 a 500,0 µg/mL, respectivamente, conforme pode ser observado na Figura 1.

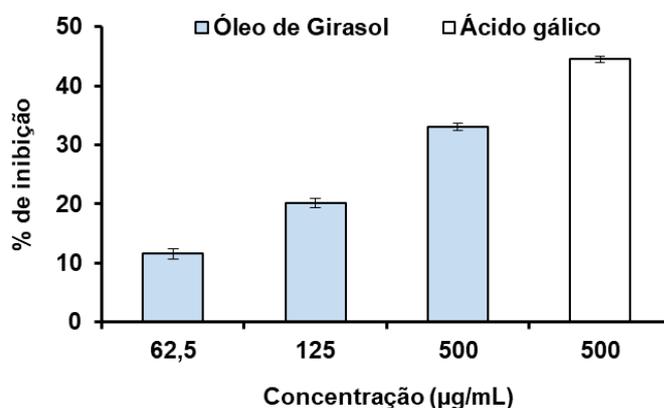


Figura 1: Atividade antioxidante do óleo de girassol nas concentrações de 62,5 - 500 µg/mL, avaliado pela capacidade sequestrante do radical óxido nítrico (NO). Ácido gálico (500 µg/mL), foi utilizado como controle positivo. Os resultados são expressos como média de pelo menos 2 experimentos independentes em porcentagem de inibição do radical NO.

O óleo de macadâmia apresentou uma atividade antioxidante evidenciado pela sua capacidade de sequestrar o radical NO. Verificou-se que em todas as concentrações testadas, houve um efeito inibitório percentual de aproximadamente 25%, sem apresentar um efeito dose-dependente, como ilustrado na Figura 2.

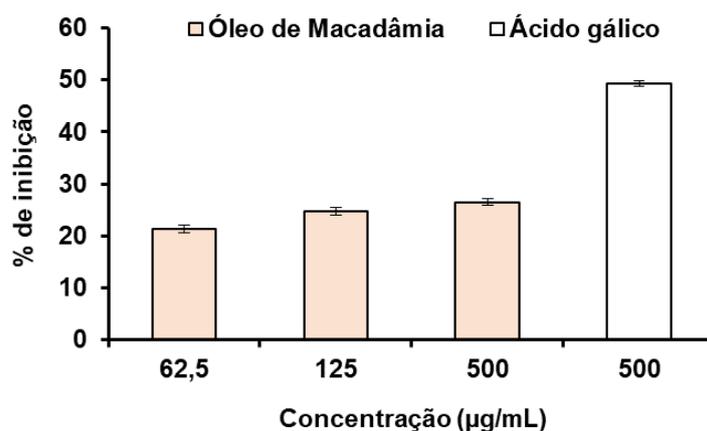


Figura 2: Atividade antioxidante do óleo de macadâmia nas concentrações de 62,5 - 500 µg/mL, avaliado pela capacidade sequestrante do radical óxido nítrico (NO). Ácido gálico (500 µg/mL), foi utilizado como controle positivo. Os resultados são expressos como média de pelo menos 2 experimentos independentes em porcentagem de inibição do radical NO.

Assim como no caso do óleo de macadâmia, o óleo de groselia negra demonstrou uma significativa atividade antioxidante, comprovada pela sua capacidade de sequestrar o radical NO. Os resultados dos testes revelaram um efeito inibitório percentual de aproximadamente 25% em todas as concentrações avaliadas, sem evidenciar um efeito dose-dependente, conforme representado na Figura 3. Esses resultados sugerem que tanto o óleo de macadâmia quanto o óleo de rosa mosqueta possuem propriedades antioxidantes.

O óleo de oliva demonstrou ser um dos compostos mais eficazes em termos de atividade antioxidante. Foi observada uma inibição dose-dependente do radical NO, resultando em um efeito inibitório que variou de 11% a 51% nas concentrações de 62,5 a 500,0 µg/mL, respectivamente. Esses resultados estão claramente representados na Figura 4. Esses dados indicam que o óleo de oliva possui um alto potencial antioxidante, evidenciando sua capacidade de neutralizar os radicais livres e proteger contra o estresse oxidativo.

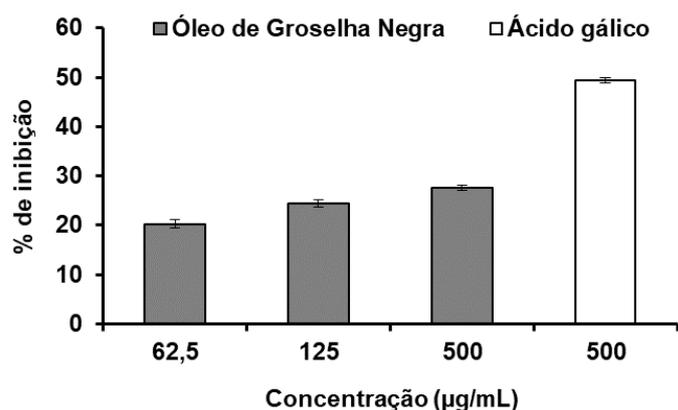


Figura 3: Atividade antioxidante do óleo de groselha negra nas concentrações de 62,5 - 500 µg/mL, avaliado pela capacidade sequestrante do radical óxido nítrico (NO). Ácido gálico (500 µg/mL), foi utilizado como controle positivo. Os resultados são expressos como média de pelo menos 2 experimentos independentes em porcentagem de inibição do radical NO.

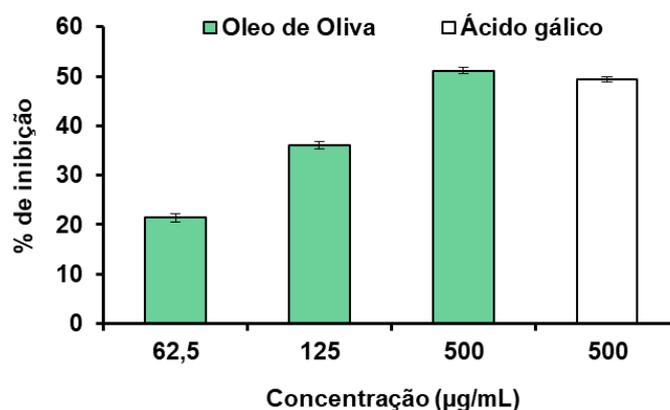


Figura 4: Atividade antioxidante do óleo de oliva nas concentrações de 62,5 - 500 µg/mL, avaliado pela capacidade sequestrante do radical óxido nítrico (NO). Ácido gálico (500 µg/mL), foi utilizado como controle positivo. Os resultados são expressos como média de pelo menos 2 experimentos independentes em porcentagem de inibição do radical NO.

Da mesma forma que o óleo de oliva, o óleo de rosa mosqueta também apresentou uma inibição do radical NO dependente da dose, indicando uma ação inibitória de 23% a 49% nas concentrações de 62,5 µg/mL e 500,0 µg/mL, respectivamente. Esses resultados podem ser observados claramente na Figura 5. Isso sugere que o óleo de rosa mosqueta

possui propriedades antioxidantes comparáveis às do óleo de oliva. Similar aos dois óleos anteriores, o óleo de linhaça apresentou uma inibição do radical NO, dependente da dose, evidenciando ação inibitória de 12% a 48% nas concentrações de 62,5 µg/mL e 500,0 µg/mL, respectivamente, conforme pode ser observado na Figura 6.

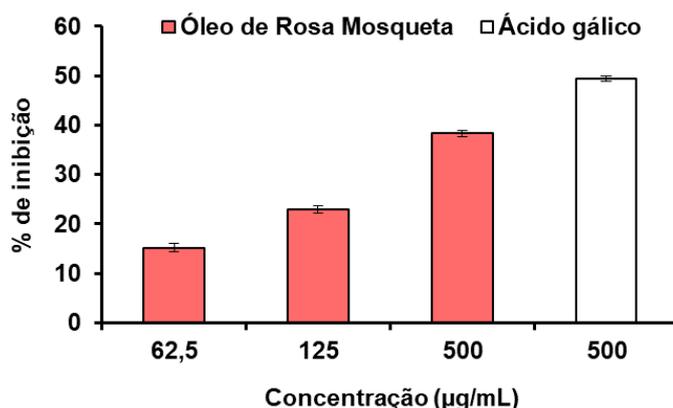


Figura 5: Atividade antioxidante do óleo de rosa mosqueta nas concentrações de 62,5 - 500 µg/mL, avaliado pela capacidade sequestrante do radical óxido nítrico (NO). Ácido gálico (500 µg/mL), foi utilizado como controle positivo. Os resultados são expressos como média de pelo menos 2 experimentos independentes em porcentagem de inibição do radical NO.

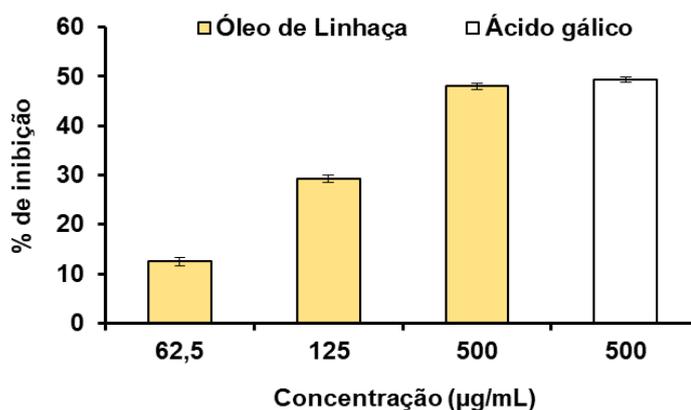


Figura 6: Atividade antioxidante do óleo de linhaça nas concentrações de 62,5 - 500 µg/mL, avaliado pela capacidade sequestrante do radical óxido nítrico (NO). Ácido gálico (500 µg/mL), foi utilizado como controle positivo. Os resultados são expressos como média de pelo menos 2 experimentos independentes em porcentagem de inibição do radical NO.

É interessante notar que o blend de óleos vegetais demonstrou um efeito aditivo ou

sinérgico, apresentando uma atividade antioxidante significativa, evidenciada pela sua capacidade de sequestrar o radical NO. Os valores de inibição observados foram de 23%, 42% e 65% nas concentrações de 62,5 µg/mL, 125 µg/mL e 500 µg/mL, respectivamente, conforme ilustrado na Figura 7. Esses resultados sugerem que a combinação de diferentes óleos vegetais resulta em um efeito antioxidante potencializado, demonstrando uma sinergia em sua atividade antioxidante.

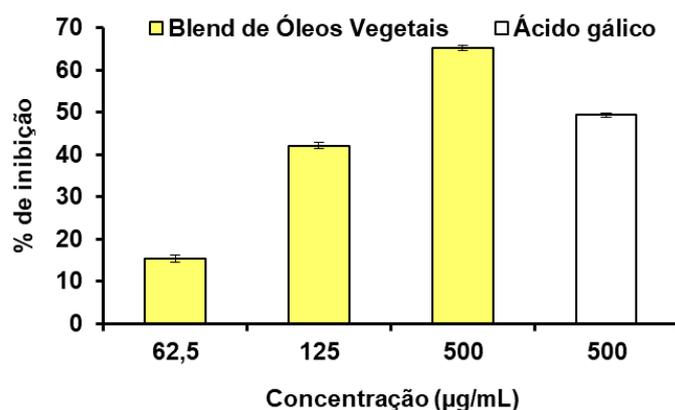


Figura 7: Atividade antioxidante do blend de óleos vegetais nas concentrações de 62,5 - 500 µg/mL, avaliado pela capacidade sequestrante do radical óxido nítrico (NO). Ácido gálico (500 µg/mL), foi utilizado como controle positivo. Os resultados são expressos como média de pelo menos 2 experimentos independentes em porcentagem de inibição do radical NO.

De maneira geral, os óleos apresentaram de moderada a alta atividade antioxidante, quando comparados ao controle positivo ácido gálico. Porém, vale destacar que alguns óleos vegetais apresentaram inibição uniforme em todas as concentrações testadas, não apresentando efeito dose-dependente. A atividade antioxidante dos óleos vegetais é de grande interesse devido aos seus potenciais benefícios para a saúde (ÇELIK et al., 2020). Neste estudo, diferentes óleos vegetais e um blend de óleos vegetais, foram avaliados quanto à sua capacidade de sequestrar o radical NO, um indicador comumente utilizado para medir a atividade antioxidante.

Observou-se que o óleo de macadâmia e o óleo de rosa mosqueta apresentaram atividade antioxidante notável, inibindo o radical NO em uma faixa de concentrações testadas. Isso sugere que esses óleos possuem compostos antioxidantes que podem ajudar

a combater o estresse oxidativo e proteger contra danos celulares. Surpreendentemente, o óleo de oliva mostrou-se ainda mais eficaz em termos de atividade antioxidante, exibindo uma inibição dose-dependente do radical NO. Esses resultados corroboram com dados da literatura e ressaltam a importância do óleo de oliva como uma fonte potencial de antioxidantes naturais. (FRANCO et al., 2014).

Além disso, o blend de óleos vegetais revelou um efeito aditivo ou sinérgico, apresentando uma atividade antioxidante significativa e superior à dos óleos individuais. Isso indica que a combinação de diferentes óleos vegetais pode resultar em um efeito potencializado, onde os compostos antioxidantes de cada óleo se complementam e fortalecem a atividade antioxidante global.

O radical óxido nítrico, embora desempenhe papéis fisiológicos, é capaz de reagir com espécies reativas de oxigênio e gerar moléculas mais reativas e nocivas ao organismo humano, como o Peroxinitrito, potente molécula inflamatória e promotora da oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), mecanismo chave no desenvolvimento da aterosclerose (CHUANG, et al., 2016). Desta forma, produtos com capacidade sequestrante do radical óxido nítrico pode reduzir a taxa de formação do peroxinitrito, atenuando quadros inflamatórios e diminuindo o risco de doenças cardiovasculares.

Determinação da atividade antibacteriana

Após serem reunidos os resultados do ensaio, fica evidente que os óleos vegetais apresentaram atividade antibacteriana mais potente contra bactérias do tipo Gram-positivas do que contra Gram-negativas, representadas no presente experimento por cepas de *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente. A Ampicilina foi utilizada como controle comparativo da atividade dose resposta neste experimento, partindo da concentração de 16 µg/mL.

A atividade antibacteriana avaliada pela concentração inibitória mínima (CIM) destes 6 óleos vegetais está registrada na Tabela 1. Os resultados do ensaio de CIM foram comparados a parâmetros desenvolvidos e estabelecidos por estudos de atividade antibacteriana.

Tabela 1. Concentração inibitória mínima (CIM) dos seis óleos vegetais isoladamente e do blend.

Óleos vegetais	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Girassol	1000	1000
Groselha negra	1000	-
Linhaça	250	1000
Macadâmia	1000	-
Oliva	250	-
Rosa Mosqueta	1000	-
Mistura	>1000	-
Ampicilina	1	4

A atividade antibacteriana dos óleos vegetais foi analisada e classificada de acordo com Duarte et al. (2006). De acordo com o autor, são considerados produtos com atividade antibacteriana forte as amostras que possuem valores de CIM até 500 $\mu\text{g/ml}$, moderada com CIM entre 600 e 1500 $\mu\text{g/ml}$ e fraca com CIM de 1600 $\mu\text{g/ml}$.

Portanto, os óleos de linhaça e oliva foram os que apresentaram menor concentração para inibir o crescimento bacteriano, com isso podem ser considerados com forte ação antibacteriana, pois apresentaram CIM de 250 $\mu\text{g/mL}$ para inibir o crescimento de *S. aureus*, estando dentro da faixa proposta por Duarte et al. (2006). Todos os seis óleos e a mistura, exibiram baixa ação contra a bactéria Gram-negativa, representada na presente pesquisa por *E. coli*, observação corroborada por Batista et al. (2012), explicada pelo fato de as bactérias Gram-negativas possuírem uma membrana externa que as torna mais resistentes, pela formação de uma barreira adicional contra a ação antimicrobiana. Batista et al. (2012), evidenciou a ação mais intensa de derivados vegetais, contra bactérias Gram-positivas, pois entende-se que os constituintes fitoquímicos dos óleos lhes conferem essa

característica.

Outros estudos realizados por Parker e Luz (2007) demonstraram que o *S. aureus* é suscetível a óleo de alho, copaíba, alecrim, andiroba e vassoura, salientando a maior sensibilidade deste tipo de bactérias quando em contato com óleos vegetais, embora Melhorança Filho & Pereira (2012) afirme que a ação antimicrobiana destes compostos seja devido a diversos mecanismos ainda não detalhados por completo, mas aparentemente relacionados com penetração e ruptura de estruturas bacterianas.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, podemos concluir que os óleos vegetais possuem potencial atividade antioxidante, especialmente sobre as espécies reativas de nitrogênio e atividade antibacteriana, com seletividade para a bactéria Gram-positiva *S. aureus*.

Os resultados da ação sequestrante de óleos vegetais, contra o radical óxido nítrico motiva a realização de mais estudos com estes derivados vegetais, pois esta capacidade lhes daria ampla utilidade no combate e prevenção de patologias causadas pela exacerbada produção de espécies reativas de nitrogênio, a se destacar o potente efeito inflamatório do radical peroxinitrito.

Quanto a ação antibacteriana, mais estudos são necessários para ser descoberto qual o mecanismo de ação antimicrobiana, pois foi detectada uma relevante ação promovida pelos óleos de linhaça e oliva (CIM de 250 µg/mL) frente às cepas de *S. aureus*, bactéria Gram-positiva, que por ser mais suscetível a ação de agentes antimicrobianos, poderiam ser usados em determinados casos em que seja útil o controle do crescimento microbiano.

Em conclusão, os óleos vegetais estudados, como o óleo de macadâmia, óleo de rosa mosqueta, óleo de oliva e o blend de óleos vegetais, demonstraram uma atividade antioxidante relevante. Esses resultados destacam a importância de incluir esses óleos na dieta como fontes naturais de antioxidantes, promovendo a saúde e o bem-estar. Além disso, o efeito sinérgico observado no blend de óleos vegetais ressalta a possibilidade de se obter benefícios ainda maiores ao combinar diferentes fontes de antioxidantes naturais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

FERNANDES, L., CASAL, S., PEREIRA, J.A. et al. Virgin olive oil and health: an overview of the last decade. **Crit Rev Food Sci Nutr** 58, 1–14, 2018.

ÇELIK, S. E., & ÖZGEN, U. A Review on Vegetable Oils: Composition and Health Benefits. **Advances in food and nutrition research**, 91, 229–256, 2020.

ROOPCHAND, D. E., KUHN, P., POULEV, A., OREN, A., LILA, M. A., & STRATTON, S. P. Bioactivity of wild blueberry polyphenols extracted with different solvents against cultured HT-29 colon cancer cells and propagated species of the gut microbiota. **Journal of berry research**, 6(2), 157–168. 2016.

LÓPEZ-CORTÉS, I., SÁNCHEZ-MACHADO, D. I., & LÓPEZ-HERNÁNDEZ, J.. Bioactive compounds, fatty acids profile and antioxidant activity of Mexican walnut (*Juglans mollis*) oil obtained by ultrasound-assisted extraction. **Ultrasonics sonochemistry**, 77, 105736, 2021.

AKHTAR, N., AHMAD, M., MADNÍ, A., BAKHSH, S. Evaluation of basic properties of macadamia nut oil. **The Gomal University Journal of Research**, v. 22, p. 21-27, 2006.

ALVES, F. V., JUNIOR, A. S., SANTANA, D. G., DOS SANTOS, C. M. Composição química e qualidade fisiológica de sementes de girassol de plantas submetidas à competição intraespecífica. **Journal of Seed Science**, v. 34, n. 3, 2012.

ASA - American Soybean Association. Soy Stats 2015: A Reference Guide to Important Soybean Facts and Figures. ASA, 2015. Disponível em <<http://soystats.com/wp-content/uploads/SoyStats-2015.pdf>>. Acesso em Abril de 2016.

BALDWIN, H. E., NIGHLAND, M., KENDALL, C., MAYS, D. A., GROSSMAN, R., NEWBURGER, J. 40 years of topical tretinoin use in review. **Journal of drugs in dermatology: JDD**, v. 12, n. 6, p. 638-642, 2013.

BATISTA, J. S., OLINDA, R. G., MEDEIROS, V. B., RODRIGUES, C. M. F., OLIVEIRA, A. F., PAIVA, E. S., FREITAS, C. I. A., MEDEIROS, A. D. C. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. **Ciência Rural**, v. 42, n. 1, p. 136-141, 2012.

BOORA, F.; CHIRISA, E.; MUKANGANYAMA, S. Evaluation of nitrite radical scavenging properties of selected Zimbabwean plant extracts and their phytoconstituents. **Journal of Food Processing**, v. 2014, 2014.

CALIGIANI, A., BONZANINI, F., PALLA, G., CIRLINI, M., BRUNI, R. Characterization of a potential nutraceutical ingredient: pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil unsaponifiable fraction. **Plant foods for human nutrition**, v. 65, n. 3, p. 277-283, 2010.

CASTELO-BRANCO, V. N., TORRES, A. G. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista de Nutrição**, v. 24, n. 1, p. 173-187, 2011.

CHUANG, C. Y., DEGENDOERFER, G., HAMMER, A., WHITELOCK, J. M., MALLE, E., & DAVIES, M. J. P-30-The potent inflammatory oxidant, peroxyxynitrite, modifies the extracellular matrix of human atherosclerotic lesions. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 96, p. S45, 2016.

CICERALE, S., LUCAS, L., KEAST, R. Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 2, p. 458-479, 2010.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI) 1999. Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents; approved guideline M26A; Approved standard, M26-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

DE SOUZA, D. D. F., ANTONIASSI, R., DE FREITAS, S. C., BIZZO, H. R. Estabilidade oxidativa dos óleos de macadâmia e de pistache. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 25, n. 1, 2007.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Revista MultiCiência**, v. 7, p. 17, 2006.

FERREIRA, A. M.; SOUZA, B. M. V. D.; RIGOTTI, M. A.; LOUREIRO, M. R. D. The use of fatty acids in wound care: an integrative review of the Brazilian literature. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 46, n. 3, p. 752-760, 2012.

FRANCO, D., PINELO, M., SINEIRO, J., NÚÑEZ, M. J. Processing of *Rosa rubiginosa*: Extraction of oil and antioxidant substances. **Bioresource technology**, v. 98, n. 18, p. 3506-3512, 2007.

FRANCO, E.S. **Avaliação pré-clínica da toxicidade dérmica de reparação tecidual de uma formulação semi-sólida do óleo de linhaça (*Linum usitatissimum* L.)**. 2011. 84 f. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica) – Centro de Ciências Biológicas, Inovação Terapêutica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2011.

FRANCO, M. N., GALEANO-DÍAZ, T., LÓPEZ, O., FERNANDEZ-BOLAÑOS, J.G., SANCHEZ, J., DE MIGUEL, C., GIL, M.V., MARTÍN-VERTEDOR, D. Phenolic compounds and antioxidant capacity of virgin olive oil. **Food chemistry**, v. 163, p. 289-298, 2014.

GOFFMAN, F. D., GALLETI, S. Gamma-linolenic acid and tocopherol contents in the seed oil of 47 accessions from several *Ribes* species. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, n. 1, p. 349-354, 2001.

GOPALAN, A., REUBEN, S. C., AHMED, S., DARVESH, A. S., HOHMANN, J., BISHAYEE, A. The health benefits of blackcurrants. **Food & function**, v. 3, n. 8, p. 795-809, 2012.

GREEN, L. C., WAGNER, D. A., GLOGOWSKI, J., SKIPPER, P. L., WISHNOK, J. S., TANNENBAUM, S. R. Analysis of nitrate, nitrite, and [15 N] nitrate in biological fluids. **Analytical biochemistry**, v. 126, n. 1, p. 131-138, 1982.

HATANAKA, E, LEONARDO, M.P., MARTINS, E.F., LIBERTI E.A., FARSKY S.H.P., CURI, R.,CURI, T.C. **Evidências do efeito pró-inflamatório dos ácidos oleico e linoleico no**

processo de cicatrização em ratos. II Simpósio sobre ácidos graxos e saúde. p.70.72, São Paulo, 2006.

KAIJSER, A., DUTTA, P., SAVAGE, G. Oxidative stability and lipid composition of macadamia nuts grown in New Zealand. **Food Chemistry**, v. 71, n. 1, p. 67-70, 2000.

MAIA, R. M., MOURA, C. W., BISPO, V. S., SANTOS, J. L., SANTANA, R. S., & MATOS, H. R. 2010. Avaliação do sequestro do óxido nítrico (NO) pelo extrato metanólico da alga *Bryothamnion triquetrum* (Gmelin) Howe. **Revista brasileira farmacognosia**, v. 20, p. 489-493, 2010.

MARQUES, A. C., HAUTRIVE, T. P., MOURA, G. B., CALLEGARO, M. G. K., HECKTHEUER, L. H. R. Efeito da linhaça (*Linum usitatissimum* L.) sob diferentes formas de preparo na resposta biológica em ratos. **Revista de Nutrição**, v. 24, n. 1, p. 131-41, 2011.

MASUCHI, M. H., CELEGHINI, R. M. D. S., GONÇALVES, L. A. G., GRIMALDI, R. Quantificação de TBHQ (terc butil hidroquinona) e avaliação da estabilidade oxidativa em óleos de girassol comerciais. **Química nova**, v. 31, n. 5, p. 1053, 2008.

MELHORANÇA FILHO, A. L., PEREIRA, M. R. R. Atividade antimicrobiana de óleos extraídos de açaí e de pupunha sobre o desenvolvimento de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 4, 2012.

ORHAN, İ. E., ÖZÇELİK, B., ŞENER, B. Evaluation of antibacterial, antifungal, antiviral, and antioxidant potentials of some edible oils and their fatty acid profiles. **Turkish Journal of Biology**, v. 35, n. 2, p. 251-258, 2011.

PIMENTEL, S. A., KUMAGAI, E. E., CARUSO, M. S. F., TAKEMOTO, E., TAVARES, M. **Composição de ácidos graxo e tocoferóis em óleos especiais.** In: Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel, Minas Gerais: UFLA - Universidade Federal de Lavras Santos, 2005 p.511-515.

PIZA, P. L. B. D. T., MORIYA, L. M. Cultivo da macadâmia no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal**, v. 36, n. 1, p. 39-45, 2014.

PROTTEY C. Investigation of functions of essential fatty acids in the skin. **British Journal of Dermatology**, Oxford, 1977; v. 97, p. 29-47, 1977.

SANTOS, J. S. D., VIEIRA, A. B. D., KAMADA, I. Treatment of open wounds using Mosqueta Rose: a review. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 62, n. 3, p. 457-462, 2009.

TELLES, M.M. **Characterization of three varieties of sunflower (*Heliantus annus* L.) seeds, meals and oil and oxidative stability of the crude oil.** 2006, 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). ProGrama de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC. 2006.