

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS-FCBA**

**POTENCIAL ANTIFÚNGICO E ANTIOXIDANTE DO
EXTRATO OLEOSO DE *OCOTEA MINARUM***

MATEUS GAMARRA LORENZI

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL**

2022

**POTENCIAL ANTIFÚNGICO E ANTIOXIDANTE DO EXTRATO
OLEOSO DE *OCOTEA MINARUM***

Mateus Gamarra Lorenzi

Orientador: Profa. Dra. Kelly Mari Pires de Oliveira

Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal da Grande
Dourados, como parte dos requisitos para obtenção
do título de Bacharel em Biotecnologia.

Dourados
Mato Grosso do Sul
2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, especialmente a minha mãe, por ter me incentivado bastante no decorrer destes cinco anos de curso.

Agradeço a Universidade Federal da Grande Dourados, a Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, aos professores que participaram desta jornada.

Agradeço à professora orientadora Dra. Kelly Mari Pires de Oliveira, pelo auxílio e dedicação ao decorrer destes três semestres.

Agradeço ao Laboratório de Microbiologia Aplicada por ter me acolhido.

LORENZI, Mateus, Gamarra. **Potencial antifúngico e antioxidante do extrato oleoso de *Ocotea minarum***. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2022.

RESUMO

A *Ocotea minarum* é uma árvore de porte médio nativa do cerrado, já foram isolados compostos bioativos com propriedades antifúngicas e antioxidantes, onde o extrato etanólico dela foi efetivo nas extrações destes compostos. Este trabalho teve o objetivo de avaliar se o **extrato oleoso** de *Ocotea minarum* tem propriedades antifúngicas e antioxidantes. A metodologia foi dividida em cinco partes: preparo do material vegetal, preparo do extrato de óleo, microrganismos, concentração inibitória mínima e teste de captura do radical 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). O extrato oleoso não demonstrou atividade antifúngica, tendo crescimento de leveduras em todas as concentrações de óleo amostradas. Já no teste de DPPH, que é um teste que determina potencial antioxidante, o extrato oleoso demonstrou uma baixa atividade antioxidante, possivelmente pela degradação de seus compostos bioativos pelo calor da extração ou pela extração não ter sido eficiente em extraí-los. O extrato oleoso de *Ocotea Minarum* extraído pelo método quente Soxhlet, não demonstrou atividade antifúngica em nenhuma das concentrações testadas. Apesar de ter apresentado baixa atividade antioxidante, outras atividades biológicas podem ser exploradas.

Palavras-chave: *Ocotea minarum*. Antioxidante. Antifúngico. Soxhlet.

ABSTRACT

A *Ocotea minarum* é uma árvore de porte médio nativa do cerrado, já foram isolados compostos bioativos com propriedades antifúngicas e antioxidantes, onde o extrato etanólico dela foi efetivo nas extrações compostas. Este trabalho teve o objetivo de avaliar se o extrato oleoso de *Ocotea minarum* tem propriedades antifúngicas e antioxidantes. A metodologia foi capturada do vegetal em cinco partes: preparo do material, preparo do extrato de óleo, microrganismos, concentração em radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). O extrato oleoso não desenvolveu atividade antifúngica, crescimento de leveduras em todas as tendas como produto de óleo amostradas. Já o DPPH, que é um teste que determina um potencial antioxidante, o extrato oleoso não foi testado, possivelmente pela degradação de seus compostos bioativos pelo calor da resposta ou pela atividade não ter sido eficiente em uma baixa atividade antioxidante. O extrato oleoso de *Ocotea Minarum* extraído pelo método Soxhlet, não foi o método escolhido em todas as atividades anti-quentes quentes. Apesar da baixa atividade antioxidante, outras atividades biológicas podem ser exploradas.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	7
2.1	OBJETIVOS GERAIS	7
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
3	METODOLOGIA EXPERIMENTAL	8
3.1	PREPARO DO MATERIAL VEGETAL	8
3.2	PREPARO DO EXTRATO DE ÓLEO	8
3.3	MICROORGANISMOS	9
3.4	CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA	9
3.5	TESTE DE CAPTURA DO RADICAL 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)	9
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	14
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15

1 INTRODUÇÃO

1.1-*Ocotea minarum*

Ocotea minarum (Meissn.) Mez, uma das cerca de 350 espécies do gênero *Ocotea* (*Lauraceae*), dentre essas, 170 são endêmicas da região centro-oeste, especialmente no cerrado e regiões de transição com cerrado. É um gênero que habita clima predominantemente tropical, tendo poucas espécies em clima subtropical. Trata-se de uma árvore de porte médio, que pode chegar a 10 metros de altura, possui nome popular de “canelinha”, “canela vassoura” e “canelinha do cerrado”(MORAES et al., 2005).

O gênero *Ocotea* (*Lauraceae*) possui uma predominância de alcalóides aporfinóides e neolignanós na sua composição química, porém é rara a ocorrência de sesquiterpenos que possuem atividade antimicrobiana. Sesquiterpenos são compostos difíceis de serem extraídos por meio da destilação a vapor (NOGUEIRA et al., 2021).

Figura 1: Árvore jovem de *Ocotea minarum* que se encontra localizada na Universidade Federal da Grande



Fonte: o autor (2022).

Figura 2: Folha de *Ocotea minarum* com flor.



Fonte: o autor (2022).

Na composição química desta espécie foi identificada 14 alcalóides aporfínicos: leucoxilonina, ocoteína, ocopodina, dicentrinona, ocotominarina, nor-leucoxilonina, 4-hidroxidicentrina, dicentrina, leucoxina, predicentrina, talicminina, ocominarina, isso-oconovin e ocominarona (VECCHIETTI et al., 1979). Foram detectados em extrato etanólico dos frutos, folhas e casca: alcalóides aporfínicos, alcalóide indólico, flavonóides, cumarina, lignina, alquifenóis, sesquiterpeno e esteróide (GARCEZ et al., 2005).

Os extratos etanólicos de folha e casca de *Ocotea minarum* possui atividade antimicrobiana, principalmente contra leveduras do gênero *Cândida* e atividade antioxidante superior ao do ácido ascórbico (RODRIGUES et al., 2018). É relatado que a casca de *Ocotea minarum* tem o uso popular no tratamento de candidíase (RODRIGUES et al., 2014).

1.2-Antioxidante

Oxidação é definida comumente quando um átomo perde elétrons, onde este elétron fica livre no meio em que está podendo ser transferido para outros átomos. O átomo quando perde um ou mais elétrons, fica altamente reativo (SILVERSTEIN et al., 2011).

As mitocôndrias, que estão localizadas dentro das células, têm uma extrema importância no metabolismo, pois são elas as responsáveis pela produção de radicais livres, regulação do cálcio, apoptose celular e também na produção de adenosina trifosfato (ATP). A principal função das mitocôndrias é a produção de ATP, onde é produzido por meio da respiração celular (BHATTI et al., 2016).

Nas reações da respiração celular, são produzidas espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS), que são moléculas com um ou mais elétrons desemparelhados em decorrência da oxidação, estas moléculas reativas são radicais livres. A síntese de ROS e RNS é algo que não pode ser evitado, porém as células possuem inúmeros sistemas de combate a esses radicais. Quando tem a superprodução de ROS superando a capacidade dos mecanismos de combate, as células entram em estresse oxidativo. O estresse oxidativo associa-se a danos em proteínas e ao ácido desoxirribonucleico (DNA), estando associado a várias doenças, como: câncer, disfunções cardíacas, envelhecimento acelerado, doenças neurodegenerativas (HALLIWEL et al., 2006; FLINKEL et al. 2000)

Os antioxidantes são moléculas orgânicas capazes de retardar, diminuir e inibir os processos oxidativos em outras moléculas. Estas moléculas têm uma grande importância, pois elas protegem nosso corpo contra os radicais livres que são produzidos durante um período de estresse oxidativo (GOCER et al., 2013).

A ingestão de frutas e vegetais é uma boa fonte de antioxidante. O consumo de vegetais está associado à diminuição de algumas doenças, como o câncer e a doenças relacionadas com a idade. Estes benefícios à saúde estão relacionados à composição destas fontes naturais, tendo foco nos compostos fenólicos e nos flavonóides (BOCCO et al., 1998, RIMM et al., 1996).

A procura por agentes antioxidantes produzidos por plantas medicinais é algo que vem crescendo atualmente. Um dos métodos utilizados para o estudo e determinação de atividade antioxidante é o do Sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), que é utilizado para medir a atividade antioxidante em compostos isolados, extratos e óleos. Este método detecta flavonóides, antocianinas, compostos fenólicos e cumarinas (CHOI et al., 2002).

A literatura mostra que o extrato etanólico de *Ocotea minarum* possui uma grande atividade antioxidante (RODRIGUES et al., 2018). Deste modo, o uso do óleo desta planta com fins terapêuticos é incerto, onde este trabalho terá o objetivo de avaliar se o óleo também apresenta atividade antioxidante.

1.3-Métodos de extração de óleo

Os óleos podem ser obtidos através de diversos métodos extrativos utilizando-se solventes diferentes como, por exemplo, água, metanol, etanol, tetrahidrofurano (THF), hexano e éter, cada um com suas peculiaridades (CARDOSO et al., 2014). O solvente hexano por se tratar de um produto do petróleo tem um alto custo de produção, pois necessita de um grande consumo de energia e água, além de uma alta taxa de resíduos contaminantes. É possível também que essa extração cause uma degradação de componentes bioativos, pois é um método que utiliza altas temperaturas (CZAIKOSKI et al., 2015).

A prensagem mecânica, muito utilizada para extrair óleos comestíveis, tem como desvantagem o baixo teor de extração e a diminuição da vida útil dos compostos ativos, pois é exposta a luz e ao oxigênio (HERRERO et al., 2006). Outra metodologia de extração é a por fluido supercrítico que foi desenvolvida e introduzida como uma alternativa às técnicas convencionais de extração de óleo. O CO₂ é um solvente utilizado em condições supercríticas devido à sua ampla disponibilidade, e quando comparado a solventes orgânicos ser menos tóxico, e não contaminar o meio ambiente na sua extração e produção. Porém o CO₂ supercrítico tem uma menor eficiência na extração de triacilglicerídeos comparado aos solventes orgânicos, devido a sua baixa solubilidade. Além disso, outra barreira em sua utilização em larga escala é o custo de produção, pois tem poucos equipamentos disponíveis no mercado (RAI et al., 2015).

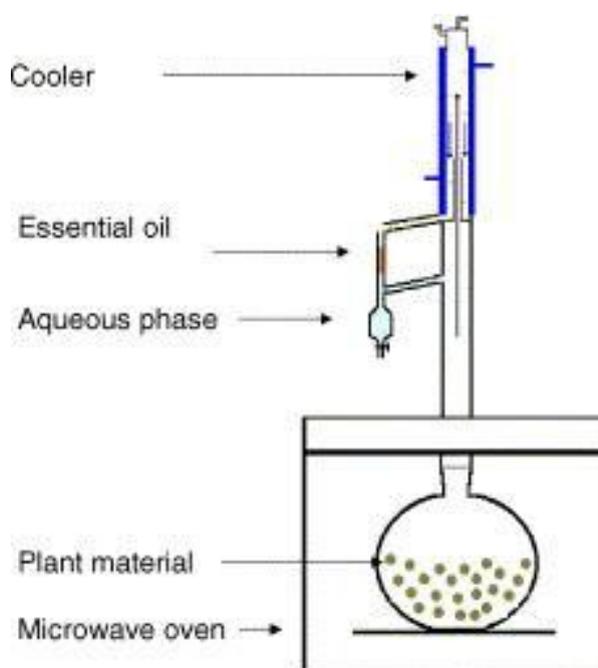
A extração com fluido supercrítico utilizando n-butano é capaz de extrair triacilglicerídeos em baixas pressões, utilizando um menor tempo de extração e uma quantidade menor de solvente. É um modo de extração mais eficiente que o CO₂ supercrítico e outros métodos convencionais, pois tem maior eficiência na extração de compostos ativos como tocoferóis, carotenóides e fitoesteróis (XU et al., 2016).

1.3.1-Arraste a vapor

A extração por arraste a vapor é o método mais utilizado, pois este permite a separação de substâncias mais voláteis, a uma temperatura que esteja menor que seu ponto de ebulição, assim evitando e deteriorando a altas temperaturas. Este tipo de destilação é utilizado para isolar compostos que degradam a altas temperaturas e que são insolúveis em água. Este tipo de extração também é empregado em óleos naturais e resinas que podem ser separados em partes voláteis e não voláteis e na recuperação de sólidos não arrastáveis por vapor de sua dissolução, estando na presença de um solvente (GONÇALVES et al., 2011).

O arraste a vapor é feito em um alambique, onde o material vegetal seco é colocado dentro. A água é aquecida e libera vapor, entrando em contato com o material vegetal, quebrando a membrana das bolsas intracelulares onde está localizado o óleo essencial; por se tratar de moléculas leves de óleo, ele evapora junto com o vapor de água, indo através de um tubo ao topo do destilador, onde será resfriado e conseqüentemente condensado junto com a água. Vai ser formada uma mistura de óleo e água condensados, que serão separados depois por meio de decantação. Após todo este processo irá sobrar uma água, que terá compostos extraídos da planta com potencial terapêutico.

Figura 3: Aparelho Clevenger, utilizado no arraste a vapor.



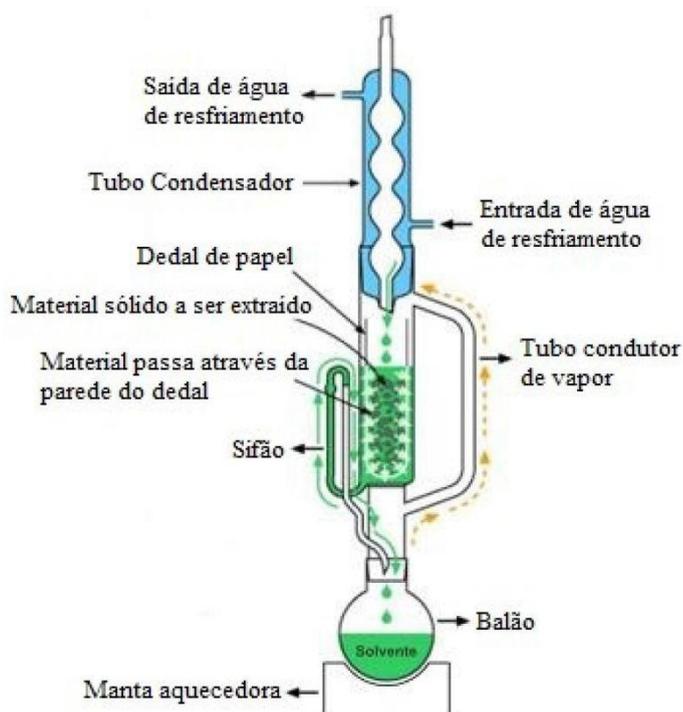
Fonte: Mohamed A. Ferhat 2006

1.3.2-Extração por solvente

Na extração por solvente orgânico, o aparelho Soxhlet é o mais utilizado, tendo uma grande demanda no tempo de extração e na quantidade de solvente (JAHURUL et al., 2014).

No aparelho Soxhlet, o material vegetal deve ser envolto por papel filtro e ser colocado no centro do aparelho. O solvente é aquecido dentro do balão e libera vapor, este vapor sobe até o tubo condensador onde é resfriado e condensado, onde começa a acumular onde se encontra o material vegetal. É um sistema contínuo, o solvente evapora e condensa por horas. Após 4 horas do processo de extração, o óleo extraído estará junto com o solvente dentro do balão. Uma grande vantagem deste método de extração é a maior chance de extração dos compostos presentes na amostra, pois a amostra é triturada tendo um maior contato de superfície e a amostra fica durante toda a extração imersa no solvente (VIROT et al., 2007).

Figura 4: Aparelho Soxhlet



Fonte: Kíssila Costa 2017

2 OBJETIVOS

2.1-Objetivos gerais

Verificar se o óleo de folhas de *Ocotea minarum* possui propriedades antifúngicas e antioxidantes.

2.2-Objetivos específicos

- Extrair óleo presente nas folhas de *Ocotea minarum* com o método de extração com solvente orgânico, utilizando hexano e o aparelho Soxhlet;
- Analisar se o óleo extraído possui atividade antioxidante pelo Teste de Captura do Radical 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH);
- Analisar o potencial antifúngico frente às leveduras: *Candida albicans*(90028), *Candida glabrata*(2001), *Candida krusei*(6558), *Candida tropicalis*(750), *Cryptococcus gattii*(59990) e *Cryptococcus neoformans*(32045) pelo teste de microdiluição em caldo.

3 MATODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.1-Preparo do material vegetal

Foram coletadas folhas de *Ocotea minarum* no estacionamento do FCBA (Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil (latitude de 22 o 14“S e longitude de 54 o 49” W) devidamente identificada com o auxílio da Professora Dra. Zefa Pereira.

Após a coleta das folhas, estas foram devidamente higienizadas com solução de hipoclorito de sódio (1,5%) por 15 minutos, depois secas sobre papel pardo por dois dias. Posteriormente as folhas foram colocadas em saco de papel e deixadas na estufa a 35 °C por 48 horas.

3.2-Preparo extrato de óleo

O Extrato foi realizado no aparelho Soxhlet, extração quente com solvente orgânico. Foram feitas 3 extrações com 3 gramas de matéria seca triturada, cada extração utilizou 200 mililitros de hexano. A extração durou 5 horas (100 °C), rendendo 0,2425 gramas de óleo.

Figura 5: aparelho em funcionamento



Fonte: o autor (2022).

3.3-Microrganismos

As leveduras selecionadas foram obtidas da American Type Cultura Collection (ATCC, Rockville, MD,EUA). Os microrganismos selecionados foram: *Candida albicans*(90028), *Candida glabrata*(2001), *Candida krusei*(6558), *Candida tropicalis*(750), *Cryptococcus gattii*(59990) e *Cryptococcus neoformans*(32045).

Para fazer o inóculo, as leveduras foram suspensas em solução salina estéril (0,9% NaCl), depois foi medido em espectrofotômetro em transmitância a 530nm, onde corresponde a uma concentração de $2,5 \times 10^8$ UFC/mL.

3.4-Concentração inibitória mínima

O teste foi realizado pela técnica de microdiluição em caldo, de acordo com as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute, a padronização do documento M27-A3 foi utilizada.

O óleo foi diluído com Twin e depois diluído (1: 2) para concentração de 1,9 e 100 μ g/mL. Como controle foi colocado 100 μ L de meio de cultura e 50 μ L de extrato nos poços da primeira coluna da placa de 96 poços. Foi utilizado 100 μ L de inóculo contendo leveduras. Foi usado o meio de cultura RPMI-1640. A placa foi incubada a 35°C por 48 horas. O experimento foi realizado em duplicata.

Foi utilizado apenas o meio de cultivo RPMI-1640 como controle negativo e apenas meio de cultivo RPMI-1640 com os inóculos como controle positivo.

3.5-Teste de Captura do Radical 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

O óleo foi diluído com Twin, e depois diluído (1:2) para concentração de 1,9 e 100 μ g/mL, posteriormente foi feito o teste DPPH com a descrição de (YOA H. et al. 2012).

A solução etanólica de DPPH foi colocada com 200 μ L de controle positivo (ácido ascórbico) e hidroxibutiltolueno (BHT) ou extrato de óleo em concentrações de 0,1-2000 μ g/mL em 80% de etanol. Após incubar por 30 minutos em local escuro, foi lida a absorbância no espectrofotômetro a 517 nm. A absorbância de cada amostra foi transformada em porcentagem de inibição de radicais livres usando a fórmula abaixo. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Radical scavenging (%)=(Abs control-Abs sample)/Abs control x 100

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1-Concentração inibitória mínima do óleo de *Ocotea minarum*

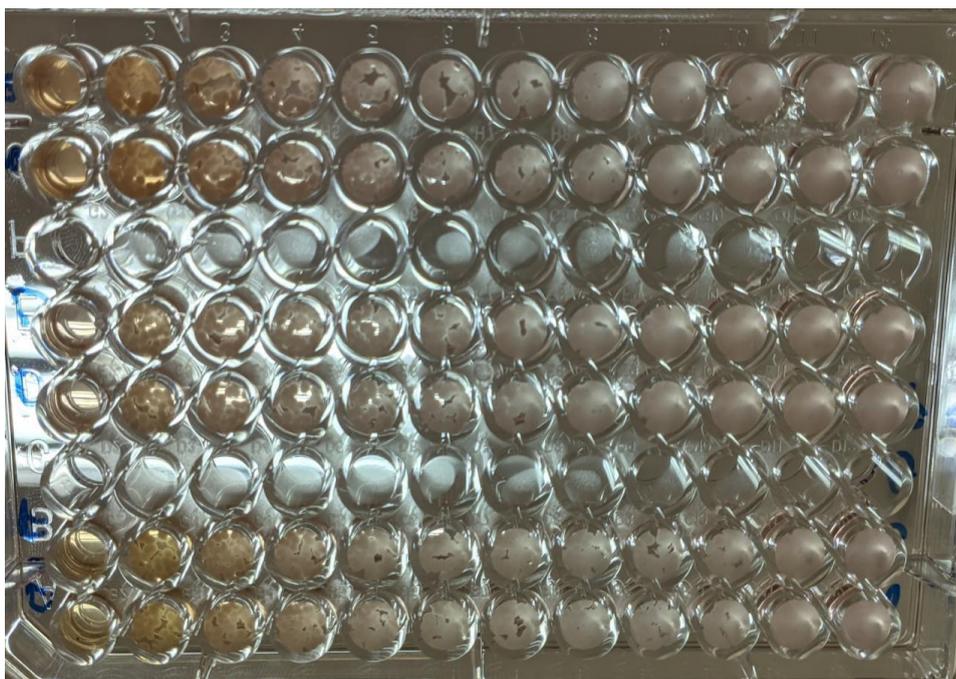
Microrganismos	EOF MIC
<i>Candida albicans</i>	>1000
<i>Candida glabrata</i>	>1000
<i>Candida krusei</i>	>1000
<i>Candida tropicalis</i>	>1000
<i>Cryptococcus gattii</i>	>1000
<i>Cryptococcus neoformans</i>	>1000

EOF: Extrato oleoso de folha

MIC: Concentração inibitória mínima

A placa foi incubada por 48 horas a 35°C, foi feita duas leituras, uma nas primeiras 24 horas e outra quando completou 48 horas. As leveduras *Candida albicans*(90028), *Candida glabrata*(2001), *Candida krusei*(6558), *Candida tropicalis*(750), *Cryptococcus gattii*(59990) e *Cryptococcus neoformans*(32045) cresceram em todas as concentrações do extrato oleoso de folha (EOF) foi diluído, apenas no controle negativo não houve crescimento.

Figura: Microdiluição em caldo



Fonte: o autor (2022).

Conforme trabalhos anteriores, o extrato etanólico de *Ocotea minarum* demonstrou atividade antifúngica contra as cepas de *Candida tropicalis* em uma concentração de 64 mg/mL e contra as cepas de *Candida krusei* na concentração de 1024 mg/mL. O extrato não inibiu o crescimento das espécies *Candida albicans* e *Candida glabrata* (RODRIGUES ET AL., 2014).

Os compostos bioativos que já foram identificados nas folhas desta planta são alcalóides, flavonóides, sesquiterpeno e cumarina (GARCEZ et al., 2005).

Foram isolados 9 diferentes sesquiterpenos do extrato etanólico de folhas de *Ocotea minarum*, onde 4 deles apresentaram ação antifúngica contra *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Cryptococcus neoformans*, os outros isolados se mostraram eficientes contra *Candida tropicalis* (NOGUEIRA et al., 2021).

Extrato etanólico de folhas de *Ocotea minarum* foi usado para testar seu efeito de mortalidade em *Spodoptera frugiperda*, pois a planta possui em sua composição alcalóides, porém o extrato não apresentou mortalidade significativa sobre o inseto (RODRIGUES et al., 2008).

A provável explicação para que o extrato etanólico tenha mostrado resultados efetivos contra as cepas de leveduras do gênero *Candida* e o óleo não, é por que a extração de óleo com solvente orgânico não foi eficiente em extrair os componentes bioativos presente nas folhas de *Ocotea minarum*.

4.2.1- Teste de Captura do Radical 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

Concentração	100	50	25	12,5
% Ação antioxidante	9,77%	5,51%	2,83	1,41%

A ação antioxidante do óleo de *Ocotea minarum* pelo Teste de Captura do Radical 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) apresentou ação antioxidante de 9,77% na concentração de 100; 5,51% na concentração de 50; 2,83% na concentração de 25 e 1,41% na concentração de 12,5.

A literatura mostra que o extrato etanólico de casca de *Ocotea minarum* apresenta um grande teor de compostos fenólicos e taninos, já o extrato etanólico de folhas de *Ocotea minarum* apresenta grandes níveis de flavonóides. Foi identificado ácido cafeico, ácido p-cumárico, quercetina, ácido rosmarínico e luteolina no extrato etanólico de folhas de *Ocotea minarum*. A atividade antioxidante dos extratos etanólicos de folha e casca apresentaram resultados ótimos em comparação com o controle (ácido ascórbico e BHT), porém o extrato etanólico de folha de *Ocotea minarum* apresentou um maior potencial antioxidante, tendo 90,12 % de ação antioxidante (BELARMINO-2018).

O extrato de óleo demonstrou uma atividade antioxidante insignificante, e nenhuma das concentrações teve um valor acima de 10%. Uma provável justificativa para a baixa atividade antioxidante é que o método de extração foi ineficiente na extração dos compostos fenólicos, flavonóides e taninos. Outra possível justificativa é o método de extração a quente, pois a literatura mostra que o tempo de extração e a temperatura estão relacionados com a composição final de compostos antioxidantes no extrato, sendo quanto maior o tempo e temperatura menor será a concentração destes compostos (ZANELA J. et al. 2018); e também por se tratar de um solvente tóxico, é possível que a toxicidade do hexano em conjunto com a alta temperatura tenha degradado os compostos bioativos (CZAIKOSKI et al., 2015).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O óleo de *Ocotea Minarum* extraído pelo método quente Soxhlet, não demonstrou atividade antifúngica contra as cepas *Candida* em nenhuma das concentrações testadas. Apesar de ter apresentado atividade antioxidante, foi baixa, onde o uso de seu óleo não será eficiente no uso de ação antioxidante como medicamento tópico, fitocosmético e nem como aditivo em cosméticos, porém outras atividades biológicas podem ser buscadas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOCCO, A; CUVALIER, M.,E; RICHARD, H; BERSET, C. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. J Agric Food Chem 1998.

CARDOSO, W.A.; ALMEIDA, W.B.; GEREMIAS, R.; PUCKOSKI, A.G.; ANGIOLETTO, E. Comparação entre métodos de extração de óleos de microalgas. Revista Iniciação Científica, v. 12, p. 43-54, 2014.

CASTANHEIRA, L.S. Extração de óleo da polpa de pequi utilizando prensa mecânica. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia de Alimentos pela Universidade Católica de Goiás. Goiânia, 2005.

CHOI, CHANG W, et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. Plant Science 2002.

CLSI, *Método de Referência para Teste de Susceptibilidade Antifúngica de Diluição em Caldo de Leveduras. Padrão aprovado. Documento CLSI M27-A3*, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, EUA, 3ª edição, 2008.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N.,J. Oxidants, oxidative stress and the biology of aging. Nature 2000.

GARCEZ, W.S; GARCEZ, F.R; SILVA, L.M; SHIMABUKURO, A.A; Alcaloide indolico e outros constituintes de *Ocotea minarum*. J.Braz.Química Soc, 2005

GOCER, H.; AKINCIOGLU, A.; OZTASKIN, N.; GOKSU, S.; GULCIN, I. Synthesis, antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of sulfonamide derivatives of dopamine related compounds. Arch Pharm 2013.

GONÇALVES, A, S; CARREIRA, F, C; VALADARES, L, F; SANTIS, M, A; MACHADO, M, B. Extração do Limoneno. 2011. 10p. Resumo de um Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Estadual Paulista – UNESP.

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental topic of aerobic life. *Plant Physiol* 2006

JESUS, G.S; MICHELETTI, A.C; PADILHA, R,G; PAULA, J.S; ALVES, F.M; LEAL,C.R; GARCEZ, F.R; GARCEZ, W.S; YOSHIDA, N.C. Potencial antimicrobiano de Óleos Essenciais de Plantas do Cerrado contra Microrganismos Alimentares Multirresistentes.

JAHURUL, M, H; ZAIDUL, I, S; NORULANI, N, N; SAHENA, F; JAFFRI, J; OMAR, A, K. Supercritical carbon dioxide extraction and studies of mango seed kernel for cocoa butter analogy fats. *Journal of Food* 2014.

CZAIKOSKI, K; MESOMO, A, D, P; SCHEER, O, R, D. Kinetics, composition and biological activity of *Eupatorium intermedium* flower extracts obtained from scCO₂ and compressed propane. *The Journal of Supercritical Fluids* 2015.

HERRERO, M; CIFUENTES, E; IBANES, E. Sub-and superficial fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae. *Food Chemistry* 2006.

MANDA, BR; PRASAD, AN; THATIKONDA, NR; LACERDA, JRV; BARBOSA, LR; SANTOS, H.; ROMÃO, W.; PAVAN, FR; RIBEIRO, CM; SANTOS, EA; et ai. Síntese, avaliação antibacteriana e antituberculosa de derivados de β-amino álcool à base de cardanol e glicerol. *J. Braz. Química Soc.* 2018 , 29 , 639.

MORAES, P, L, R, “Sinopse das Lauráceas nos estados de Goiás e Tocantins, Brasil”, *Biota Neotrópica* , vol. 5, não. 2, pp. 1–18, 2005.

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

NOGUEIRA, C.R; CARBONEZI, L.H; OLIVEIRA, C.T; GARCEZ, W.S; GARCEZ, F.R; Sesquiterpene derivatives from *Ocotea minarum* leaves. *Phytochemistry Letters* 2021.

PIGHINELLI, A.L.M.T.; PARK, K.J.; RAUEN, A.M.; BEVILAQUA, G.; FILHO, J.A.G. Otimização da prensagem a frio de grãos de amendoim em prensa contínua tipo expeller. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, p. 66-71, 2008.

RAI, A; MOHANTY, R; BHARGAVA, R. Modeling and response surface analysis of supercritical extraction of watermelon seed oil using carbon dioxide. *Separation and Purification Technology*, 141 (2015), pp. 354-365.

RIMM, E., B.; KATAN, M.,B, ASCHERIO, A.; STAMPFER M.,J.; WILLETT, W. Relation between intake of flavonoids and risk for coronary heart disease in male health professionals. *Ann Intern Med* 125:384–389 1996.

RODRIGUES, A.B; APOLONIO, A.A.A; ALFREDO, T.M; DANTAS, F.G.S; CAMPOS, J.F; CARDOSO,C.A.L; SOUZA, K.P; OLIVEIRA, K.M.P. Chemical Composition, Antimicrobial Activity, and Antioxidant Activity of *Ocotea minarum* (Nees & Mart.) Mez. *Oxidative medicine and cellular longevity*.

RODRIGUES, A.B, BICUDO, B.,P, Wiebusch, L. *et al.* Bioprospecção de *Ocotea minarum* (Laurales: Lauraceae) por extrato etanólico no controle de cepas do gênero *Candida* . *BMC Proc* 8 (Suppl 4), P21 (2014).

RODRIGUES, S.,R; COUTINHO, G., V; GARCEZ, W., S; GARCEZ, F.,R. Activity inseticida os etanolic of plants on *Spodoptera frugiperda*. 2008.

ROBBERS, J.B.; SPEEDIE, M.K.; TULER, V.E. *Farmacognosia e farmacobiotechnologia*. São Paulo: Premier, 1997.

RAISER, A.L; AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE E POTENCIAL ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ÓLEO DE PEQUI EM EMULSÕES COSMÉTICAS (*Caryocar brasiliense* Camb.). Universidade Federal do Mato Grosso.

SARTORI, M.A.; PEREZ, R.; JÚNIOR, A.G.S.; MACHADO, S.R.S.; SANTOS, M.M.S.; MIRANDA, C.A.C. Análise de arranjos para extração de óleos vegetais e suprimento de usina de biodiesel. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, v. 47, p. 419-434, 2009.

SILVA, M, C. Óleos essenciais: caracterização, aplicações e métodos de extração. TCC-Centro Universitário de Formiga, 2018.

QUINET, A. O Gênero *Ocotea* Aubl. (Lauraceae) no Sudeste do Brasil. Tese de doutorado. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008

VIROT, .TOMAO,V.COLNAGUI, G., VISIONONI, F., CHEMAT, F. New microwave-integrated Soxhlet extraction. An advantageous tool for the extraction of lipids from food products
J. Chromatogr. A, 1174 (2007), pp. 138-144.

XU, B; HAN, J; ZHOU, S; WU, Q; DING, F. Características de qualidade de óleo de gérmen de trigo obtido por equipamento experimental inovador de butano subcrítico. *Journal of Food Process Engineering* 2016.

Yao, H., Chen, Y., Shi, P., Hu, J., Li, S., Huang, L., Lin, J., Lin, X., 2012. Screening and quantitative analysis of antioxidants in the fruits of *Livistona chinensis* R. Br using HPLC-DAD–ESI/MS coupled with pre-column DPPH assay. *Food Chemistry* 135, 2802–2807.

ZANELA, J. et al. Extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante em derivados da produção de polpa de araçá Ya-Cy (*Psidium cattleianum* Sabine). *Brazilian Journal of Food Research*, Campo Mourão, v. 9, n. 4, p. 14-26. 2018.

