

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

LORENNALINO SANTOS

**ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DAS
ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch
(Juglandaceae)**

Alfenas / MG

2018

LORENNALINO SANTOS

**ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DAS
ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch
(Juglandaceae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação como parte dos requisitos necessários para aquisição do título de mestre em Ciências Farmacêuticas na área de Obtenção e Avaliação de Insumos Farmacêuticos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNIFAL/ MG.

Orientador: Marcelo Aparecido da Silva

Alfenas / MG

2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central – Campus Alfenas

S237e Santos, Lorena Lino.
Estudo da composição química e avaliação das atividades biológicas de
Carya illinoensis (Wangenh.) K. Koch (Juglandaceae) / Lorena Lino
Santos. -- Alfenas/MG, 2018.
87 f.: il. --

Orientador: Marcelo Aparecido da Silva.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade
Federal de Alfenas, 2018.
Bibliografia.

1. *Carya*. 2. Diabetes Mellitus. 3. Ácidos Graxos. 4. Antimicóticos.
I. Silva, Marcelo Aparecido da. II. Título.

CDD- 615.321

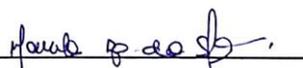
LORENNÁ LINO SANTOS

**“ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DAS
ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *Carya illinoensis* (WANGENH.) K.
KOCH (JUGLANDACEA)”**

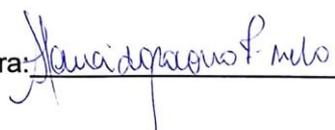
A Banca examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação apresentada como
parte dos requisitos para a obtenção do
título de Mestre em Ciências Farmacêuticas
pela Universidade Federal de Alfenas.

Aprovada em: 18 / 06 / 2018

Prof. Dr. Marcelo Aparecido da Silva
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

Dra. Maria do Socorro Fernandes Melo
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

Profa. Dra. Cristiane da Silva Marciano
Grasselli
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

Alfenas / MG

2018

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Deus e à Nossa Senhora por sempre iluminarem meu caminho, mostrando-me que sou capaz de qualquer coisa e por permitirem a conclusão desse mestrado.

À minha família, em especial aos meus pais, Sueli e Hilton, e à minha tia Solange, por todo o amor, apoio, carinho e compressão, que foram essenciais nessa trajetória. Agradeço também pelo investimento financeiro.

Ao meu namorado Luís Felipe, que além de todo o carinho, a compreensão e seu apoio nos momentos mais difíceis, também me ajudou nos experimentos desse trabalho. Obrigada por tudo, amo você.

Às minhas amigas, insubstituíveis, Natália e Vanessa que mesmo longe sempre me deram apoio e me mostraram a melhor saída. Obrigada por estarem comigo em todos os momentos.

Ao meu querido orientador Prof. Dr. Marcelo Aparecido da Silva, pela amizade, compreensão, paciência, respeito e exemplo de profissional ético e extremamente qualificado. Só posso agradecer pela oportunidade concedida e dizer que foi uma honra trabalhar com você todo esse tempo.

A todos do laboratório de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos da UNIFAL, em especial ao Renan, não somente pela ajuda durante todo o mestrado, mas também pela amizade que levarei pelo resto da minha vida. Obrigada também a Marildinha e Ana Flávia pelas conversas e momentos de descontração e de apoio. A minha querida amiga Bê, que indiretamente faz parte do laboratório, mesmo que de coração, e foi mais uma pessoa importantíssima na minha vida em Alfenas, obrigada.

Aos meus alunos de iniciação científica, Pedro e Carla, pela valiosa ajuda e colaboração em grande parte dos experimentos desse trabalho. Tenham certeza que vocês fizeram toda a diferença, obrigada.

Ao Prof. Dr. Mateus Leite, pela amizade, carinho e palavras nos momentos em que mais precisei. Tenha certeza que nunca me esquecerei de você.

À Iolanda pelo carinho, apoio e por ser uma excelente profissional que me fez ver a vida de um ângulo diferente e mais feliz.

À Prof^a. Dr^a. Sandra Veiga e ao seu tio Paulo, pelo carinho, disponibilidade e fornecimento da noz pecã.

À Prof^ª. Dr^ª. Hudsara Aparecida pelo auxílio na parte nutricional e a disponibilidade na utilização do laboratório de Nutrição Experimental da UNIFAL.

Ao Lellis, por toda sua ajuda e palavras de consolo e também por ser um grande exemplo para mim.

À Prof^ª. Dr^ª. Ana Lúcia Moraes pela colaboração na parte da composição centesimal e disponibilidade na utilização do laboratório de Bromatologia da UNIFAL.

À Prof^ª. Dr^ª. Amanda Latércia pelo auxílio nos experimentos microbiológicos.

À Prof^ª. Dr^ª. Vany Ferraz, da UFMG, pela colaboração nas análises da cromatografia gasosa.

Aos professores Dr. Marcelo José e Dr. Wagner Vilegas da Universidade Estadual Paulista (UNESP – Campus Litoral Paulista, São Vicente – SP) pela colaboração nos experimentos de espectrometria de massas.

À Prof^ª. Dr^ª. Fernanda Borges e a doutoranda Carla Miguel pelo auxílio nas análises bioquímicas realizadas na UNIFAL.

À CAPES e à FAPEMIG, pelo apoio financeiro para o desenvolvimento desse trabalho.

À Universidade Federal de Alfnas (UNIFAL) pela acolhimento e oportunidade para realizar a graduação e o mestrado.

Aos demais que, de alguma maneira, contribuíram para que esse trabalho pudesse ser realizado.

RESUMO

O aumento do diabetes, as mudanças alimentares e o sedentarismo populacional são problemas mundiais de grande preocupação que têm despertado o interesse por pesquisas na tentativa de buscar tratamentos alternativos visando melhorar a qualidade de vida para as pessoas. Nesse contexto, surge a espécie *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch, conhecida popularmente como noz pecã, que é originada da América do Norte, porém, podendo ser encontrada em outros locais como o Chile, a África, a Argentina e o Brasil. Ela é um alimento funcional, do grupo das oleaginosas, que apresenta uma composição predominantemente lipídica, cerca de 65-75%, além de outros componentes como as proteínas, as fibras, os carboidratos de baixo índice glicêmico, os minerais (zinco, fósforo, cobre, magnésio e manganês) e alguns metabólitos secundários (compostos fenólicos, os esteróis e os tocoferóis). O objetivo do projeto foi estudar o perfil químico e as atividades biológicas das amêndoas de *C. illinoensis*. A espécie foi coletada no município de Campo do Meio – MG e sua exsicata foi depositada e registrada no Herbário da Universidade Federal de Alfenas. As amêndoas da noz pecã foram separadas das cascas por processo manual, secas e trituradas em moinho de facas para somente então serem utilizadas em três metodologias diferentes no trabalho. A primeira, foi realizada por meio da produção da ração de tratamento de ratos machos *wistar* através da incorporação da noz pecã em concentrações de 6 e 10% na ração comercial Nuvilab[®]. Essa, também serviu para análise de composição centesimal de umidade, proteína, lipídeo, cinza, carboidrato e energia. A segunda metodologia foi aplicada no processo extrativo de maceração que resultou no extrato hidroetanólico 70% (v/v) das amêndoas de *C. illinoensis*, que foi a amostra utilizada para avaliação da atividade antimicrobiana e também do perfil químico em espectrometria de massas. A terceira e última metodologia empregou o óleo fixo das amêndoas da noz pecã, por meio de dois processos extrativos diferentes, objetivando determinar a composição dos ácidos graxos presentes na espécie. Os resultados mostraram que as amêndoas da noz pecã na concentração de 10% apresentam atividade hipoglicêmica no diabetes *mellitus* e que os mecanismos responsáveis por esse efeito estão relacionados com a composição graxa da espécie. O extrato hidroetanólico foi classificado como muito ativo pois exibiu atividade antifúngica em concentrações abaixo de 100 µg/mL e melhores que o controle positivo fluconazol, para a *Candida glabrata* e a *Candida krusei*. O resultado da cromatografia gasosa demonstrou a presença de ácidos graxos insaturados, destacando-se os ácidos graxos oleico e linoleico, confirmando que esses lipídeos são, possivelmente, os responsáveis pelas atividades

determinadas da espécie. Entretanto, além de não ter sido possível identificar os metabólitos secundários do extrato hidroetanólico como relatados na literatura, o perfil lipídico dos ratos tratados com as amêndoas da noz pecã à 6% não apresentou dados confiáveis. Assim, pode-se afirmar que as amêndoas da espécie apresentam benefícios ao serem inseridas na dieta, contribuindo para o binômio dieta/saúde.

Palavras-chave: *Carya illinoensis*. noz pecã. atividade antidiabética. atividade antifúngica. ácidos graxos insaturados.

ABSTRACT

Increased diabetes, dietary changes, and population sedentary lifestyle are major global concerns that have sparked interest in research into seeking alternative treatments aimed at improving the quality of life for people. In this context, the species *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch, popularly known as pecan, comes from North America, but can be found in other places such as Chile, Africa, Argentina and Brazil. It is a functional food of the group of oilseeds, which has a predominantly lipid composition, about 65-75%, in addition to other components such as proteins, fibers, low glycemic index carbohydrates, minerals (zinc, phosphorus, copper, magnesium and manganese) and some secondary metabolites (phenolic compounds, sterols and tocopherols). The objective of the project was to study the chemical profile and biological activities of *C. illinoensis* almonds. The species was collected in the municipality of Campo do Meio - MG and its exsicata was deposited and registered in the Herbarium of the Federal University of Alfenas. The pecan nut almonds were separated from the husks manually, dried and ground in a knife mill to be used only in three different methodologies at work. The first one was carried out through the production of the treatment ration of male Wistar rats through the incorporation of pecan nut in concentrations of 6 and 10% in the Nuvilab commercial ration. This was also used for analysis of the centesimal composition of moisture, protein, lipid, ash, carbohydrate and energy. The second methodology was applied in the extractive process of maceration that resulted in the 70% (v / v) hydroethanolic extract of the *C. illinoensis* almonds, which was the sample used to evaluate the antimicrobial activity and also the chemical profile in mass spectrometry. The third and final methodology employed the fixed oil of pecans of walnuts, by means of two different extractive processes, in order to determine the composition of the fatty acids present in the species. The results showed that the almonds of the pecan walnut in the concentration of 10% present hypoglycemic activity in diabetes mellitus and that the mechanisms responsible for this effect are related to the grease composition of the species. The hydroethanolic extract was classified as very active because it exhibited antifungal activity at concentrations below 100 µg / mL and better than the positive control fluconazole for *Candida glabrata* and *Candida krusei*. The results of gas chromatography showed the presence of unsaturated fatty acids, especially oleic and linoleic fatty acids, confirming that these lipids are possibly responsible for the specific activities of the species. However, in addition to the fact that it was not possible to identify the secondary metabolites of the hydroethanolic extract as reported in the literature, the

lipid profile of rats treated with 6% pecan nut almonds did not present reliable data. Thus, it can be affirmed that the almonds of the species present benefits to be inserted in the diet, contributing to the binomial diet / health.

Keywords: *Carya illinoensis*. pecan nut. antidiabetic activity. antifungal activity.
unsaturated fatty acids.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	PLANTAS MEDICINAIS	16
2.2	ALIMENTOS FUNCIONAIS	18
2.3	LIPÍDEOS	21
2.4	<i>Carya illinoensis</i> (Wangenh.) K. Koch	26
2.5	COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E BENEFÍCIOS DA NOZ PECÃ	26
2.6	ATIVIDADES BIOLÓGICAS RELACIONADAS À ESPÉCIE	27
2.6.1	Diabetes Mellitus	27
2.6.2	Atividade antimicrobiana	29
1.6.2.1	Fungos	30
3	OBJETIVOS	32
3.1	OBJETIVO GERAL	32
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1	COLETA DA ESPÉCIE	33
4.2	DEPÓSITO DA EXSICATA	24
4.3	SECAGEM E MOAGEM.....	34
4.4	DELINEAMENTO DAS CONCENTRAÇÕES DA AMÊNDOAS DA NOZ PECÃ.....	35
4.5	PRODUÇÃO DA RAÇÃO.....	37
4.6	OBTENÇÃO DO (ENP).....	41
4.7	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA	41
4.7.1	Caracterização química por espectrometria de massas (HPLC-ESI-IT- MSⁿ e FIA-ESI-IT- MSⁿ)	41
4.7.2	Perfil de ácidos graxos	42
4.7.2.1	Perfil de ácidos graxos – Análise por cromatografia gasosa	43
4.8	AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA	43
4.9	ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	44
4.9.1	Umidade	45
4.9.2	Cinzas	45
4.9.3	Proteínas	45
4.9.4	Lipídeos Totais	45
4.9.5	Carboidratos totais	46

4.9.6	Valor energético	46
4.10	AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM MODELO ANIMAL	46
4.10.1	Indução do Diabetes <i>Mellitus</i>	48
4.10.2	Obtenção das amostras biológicas.....	49
4.10.3	Análise dos parâmetros bioquímicos.....	49
4.11	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	49
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
5.1	AVALIAÇÃO DA ANÁLISE CENTESIMAL	51
5.2	AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM MODELO ANIMAL	53
5.2.1	Determinação da glicemia de jejum	53
5.2.2	Avaliação da função renal – ureia e creatinina	56
5.2.3	Avaliação do perfil lipídico	57
5.3	AVALIAÇÃO DA PESAGEM DOS ANIMAIS	60
5.4	DETERMINAÇÃO DA PERDA POR SECAGEM.....	62
5.5	ANÁLISE DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS POR CG	63
5.6	RENDIMENTO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO	66
5.7	AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA ENP.....	67
5.8	ANÁLISE DOS COMPOSTOS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS	70
6	CONCLUSÃO	73
	REFERÊNCIAS.....	74

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

AG	- Ácidos graxos
AGEs	- Produtos finais de glicacoo avançada
AIDS	- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	- Association of Official Analytical Chemists
ATCC	- American Type Culture Collection
ATP	- Adenosina trifosfato
CD	- Controle diabético
CND	- Controle não diabético
CT	- Colesterol total
D6	- Diabéticos tratados com a noz na concentrao de 6 %
D10	- Diabéticos tratados com a noz na concentrao de 10 %
DM	- Diabetes <i>Mellitus</i>
DM1	- Diabetes <i>Mellitus</i> do tipo 1
DM2	- Diabetes <i>Mellitus</i> do tipo 2
DMG	- Diabetes <i>Mellitus</i> gestacional
DMSO	- Dimetilsulfóxido
dL	- Decilitro
ENP	- Extrato Hidroetanólico 70% (v/v) das amêndoas de noz pecã
EUA	- Estados Unidos
FDA	- Food and Drug Administration
g	- Gramas
GLUT-4	- Transportador de glicose tipo 4
HDL	- Lipoproteína de alta densidade
HIV	- Vírus da imunodeficiência humana
IC ₉₀	- Concentrao inibitória mínima de 90% do crescimento microbiano
IC ₅₀	- Concentrao inibitória mínima de 50% do crescimento microbiano
IDL	- Lipoproteína de densidade intermediária
IG	- ndice Glicêmico
Kg	- Quilo (s)
LDL	- Lipoproteína de baixa densidade
LP	- Lipase proteica
LPS	- Lipopolissacarídeos
mg	- Miligrama(s)
µg	- Micrograma (s)
mL	- Mililitro (s)
MOS	- Micro-organismo (s)
MUFAs	- Ácidos graxos monoinsaturados
ND6	- Não diabéticos tratados com a noz na concentrao de 6 %
ND10	- Não diabéticos tratados com a noz na concentrao de 10 %
n-HDL	- Lipoproteína de não alta densidade (não HDL)
NP	- Noz Pecã
OEN	- leo obtido do extrato hexânico da noz pecã

OMS	- Organização Mundial da Saúde
ON	- Óleo obtido da prensagem da noz pecã
OSN	- Óleo obtido do extrato hexânico da ração comercial Nuvilab®
PUFAs	- Ácidos graxos poli-insaturados
PPARs	- Proliferadores de peroxissomas
PTP1B	- Proteína tirosina fosfatase 1B
RT	- Tempo de retenção
SAFAs	- Ácidos graxos saturados
SBC	- Sociedade Brasileira de Cardiologia
SBD	- Sociedade Brasileira de Diabetes
SPE	- Extração em fase sólida
TAG	- Triacilgliceróis ou Triglicerídeos
TFG	- Taxa de filtração glomerular
UFC	- Unidade Formadora de Colônia
UNIFAL	- Universidade Federal de Alfenas
VLDL	- Lipoproteína de densidade muito baixa
~	- Aproximadamente
n-3 ou C18:3	- Ácido Linolênico
n-6 ou C18:2	- Ácido Linoleico
n-9 ou C18:1	- Ácido Oléico

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), as plantas medicinais são aquelas que possuem ação terapêutica devido a atividade de seus componentes químicos presentes (ANVISA, 2014). Esses, são denominados metabólitos secundários, ou especiais, e são produzidos em quantidades mínimas pelos vegetais para auxiliarem na defesa contra predadores, proteção de fatores ambientais e na regulação do crescimento da planta (SILVA, 2013). Como esses metabólitos são fontes de fitoterápicos e também servem como padrões na síntese de diversos fármacos, eles atraem a atenção de muitos pesquisadores no desenvolvimento de estudos científicos (BRASIL, 2012).

Nesse contexto, o entendimento desses compostos, os diversos nutrientes existentes nos alimentos e os benefícios por eles trazidos representam um novo e atual modelo de estudo, correlacionando a dieta com a saúde (CASADO, 2010; SIMÕES, 2015). Esses componentes benéficos são conhecidos por alimentos funcionais e, ao serem inseridos na dieta humana são capazes de prevenir e/ou tratar infecções e doenças crônicas, como a obesidade e o diabetes (COSTA; ROSA, 2016).

A heterogeneidade dos compostos funcionais possibilita o seu consumo por meio de vários alimentos, como hortaliças, leguminosas, frutas, bebidas lácteas, carnes, cereais e oleaginosas. (REIS, 2016). Esse último grupo, representado pelas amêndoas, macadâmias, amendoins, avelãs, nozes, castanhas e a linhaça (BRAGA; BARLETA, 2017; CARDOZO; MAFRA, 2015), possui em sua constituição compostos fenólicos, ácidos graxos insaturados, proteínas, carboidratos de baixo índice glicêmico, fibras e os micronutrientes (vitamina E e minerais como selênio e magnésio), que são os responsáveis pelos benefícios trazidos pelo alimento (SILVA et al., 2016).

Nesse contexto, a espécie *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch, também conhecida como noz pecã (NP), é uma representante do grupo das oleaginosas. Ela é uma noqueira nativa da América do Norte, pertencente à família Juglandaceae, e considerada uma das árvores mais altas e antigas do mundo (MATTISON et al., 2017). A NP é bastante consumida nos Estados Unidos, desde os séculos XVI e XVII, principalmente pelos indígenas, entretanto, somente foi introduzida no Brasil em meados de 1870 (PAULUS, 2015). A região Sul do País, mais especificamente o estado do Rio Grande do Sul, é considerada a segunda maior produtora da América do Sul, ficando atrás apenas do Chile (STELLA; LUCCHESI, 2015).

Na constituição nutricional da NP pode-se inferir que os componentes majoritários são os lipídeos, representando cerca de 65-75%, sobretudo por ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs) e poli-insaturados (PUFAs), como o oleico e o linoleico, respectivamente (CHACÓN-GARZA et al., 2016). A NP ainda é composta por metabólitos secundários como os fitoesteróis, tocoferóis, ácidos fenólicos, taninos, lignanas e antocianidinas (DOMÍNGUEZ-AVILA et al., 2015; GARDEA; MATÍNEZ-TÉLLEZ, 2011). Na literatura é relatado que o seu consumo contribui positivamente para a saúde pois é capaz de diminuir o risco de desenvolvimento de Diabetes *Mellitus* (DM) pois tem um bom efeito no controle da glicemia através de vários mecanismos (ATANASOV et al., 2018).

O Diabetes *Mellitus* (DM) é considerado um distúrbio metabólico que ocorre por um defeito na ação ou excreção de insulina, dificultando a entrada de glicose nas células e, conseqüentemente, impedindo a metabolização dessa. É considerada uma doença que se instala silenciosamente, que além de elevar a glicemia, causa muitas complicações no organismo (CUNHA, 2015; SBD, 2017/2018). Essa patologia representa hoje uma grande preocupação mundial pois a sua prevalência aumentada tem sido relacionada a mudanças no estilo de vida e no comportamento da população, principalmente na alimentação e sedentarismo, o que é bastante preocupante (CHAYAROP et al., 2017).

Devido a esse grande número de pessoas diabéticas e também pelo tratamento medicamentoso da patologia causar efeitos colaterais graves, como distúrbios gastrointestinais e complicações renais, alternativas complementares, como suplementos alimentares e plantas medicinais, estão sendo estudadas e utilizadas no tratamento do DM (CHAYAROP et al., 2017; GHIRAVANI et al., 2016).

Analogamente, o problema atual de resistência aos antifúngicos e antimicrobianos enfrentado, principalmente, pelos hospitais, tem despertado a busca por produtos naturais com atividade contra esses micro-organismos (MOS) (Dos SANTOS et al., 2016; LIMA et al., 2006). De acordo com Andrade et al. (2015) e Prado et al. (2014), a espécie *C. illinoensis* possui ação antimicrobiana devido à presença dos seus constituintes.

Em suma, os problemas na saúde pública relatados acima e também à escassez de trabalhos publicados envolvendo a noz pecã, contribuíram para o interesse de estudar a espécie *Carya illinoensis* para comprovar o seu uso etnofarmacológico e garantir que a mesma tenha eficácia e segurança quanto ao uso para, futuramente, torna-se uma possibilidade de escolha na terapia complementar no tratamento das doenças citadas anteriormente.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PLANTAS MEDICINAIS

O conceito de plantas medicinais segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) pode ser resumido em uma planta, ou parte dessa que contém componentes responsáveis pela ação terapêutica (ANVISA, 2014; BRASIL, 2012). O uso desses vegetais faz-se presente desde os tempos mais remotos quando o homem primitivo os utilizava na alimentação, na conservação de alimentos, no preparo de óleos e unguentos e, também, como prática de tratamento e prevenção de doenças (PELICER, 2013).

No Brasil, o emprego das plantas medicinais surgiu do conhecimento de indígenas que as utilizavam para a cura de muitas patologias que, com o processo de colonização, essa cultura e suas informações valiosas foram passadas para os portugueses tornando as plantas amplamente difundidas no uso popular (LIMA et al., 2012; ROCHA et al., 2015). O País dispõe de uma rica reserva de produtos naturais e detém a maior diversidade de toda a flora mundial, possuindo um total de 13% das 1,9 milhões de plantas existentes no mundo, sendo que, somente na Amazônia são catalogadas 55.000 espécies (AMARAL; FIERRO, 2013; SOUSA, 2016). Portanto, esses fatores favorecem o interesse e o desenvolvimento por pesquisas científicas de todo o mundo voltadas para a área de plantas medicinais.

As plantas produzem metabólitos, podendo esses serem primários ou secundários. Os primeiros são representados por proteínas, lipídeos, carboidratos e ácidos nucléicos, e eles contribuem tanto para a estrutura da célula vegetal como para o metabolismo energético. Já os secundários, ou também chamados de especiais, que não são considerados componentes nutricionais, no sentido clássico, estão em pequenas quantidades e atuam na defesa contra herbívoros e microrganismos no ambiente, proteção de fatores externos e como reguladores de crescimento da planta (SILVA, 2013). Os metabólitos especiais tiveram sua descoberta com o isolamento da morfina no início do século XIX (NAKABAYASHI; SAITO, 2013) e hoje, também podem ser chamados de fitoquímicos, sendo a classificação desses baseada tanto na estrutura química quanto nas características dos grupos funcionais (LEITZMANN, 2016). Os principais representantes dos metabólitos especiais são os ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, alcaloides, óleos essenciais, terpenos, saponinas, dentre outros (BEGASHAW et al., 2017).

Porém, o uso indiscriminado dessas espécies vegetais vem demonstrando que as mesmas possuem substâncias que são potencialmente perigosas para aqueles que as utilizam, e a falta de conhecimento e embasamento teórico a respeito das espécies podem causar sérios danos ao organismo humano e até mesmo levar à óbito (ARAÚJO et al., 2014; VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

2.2 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Mudanças sociais, demográficas, econômicas, culturais e tecnológicas afetaram, significativamente, o padrão da dieta populacional e, conseqüentemente, o estilo de vida e a saúde das pessoas. Essas transições nutricionais (ou também denominada mudanças negativas nos padrões alimentares) dos brasileiros, caracteriza-se por um alto consumo de alimentos industrializados, ricos em gorduras, açúcares e sal, e uma ingestão deficiente de carboidratos complexos e fibras, além do sedentarismo (REIS et al., 2016; SBC, 2015).

A primeira definição de alimentos funcionais surgiu em 1980, no Japão, devido ao consumo de alguns produtos em dietas que além da sua função nutricional, tinham benefícios no organismo e também reduziam o risco de algumas doenças crônicas. Entretanto, a definição exata do termo costuma variar bastante dependendo da legislação vigente em cada país e os órgãos responsáveis. A ANVISA, apesar de não conceituar alimento funcional ela avalia e aprova as propriedades funcionais desse e estabelece uma orientação para sua utilização (COSTA; ROSA, 2016; SALGADO, 2016).

Os alimentos funcionais podem ser encontrados em diversos alimentos como hortaliças, leguminosas, frutas, bebidas lácteas, carnes, cereais e oleaginosas (REIS, 2016). De acordo com Salles (2013), a ANVISA reconhece até o momento os seguintes compostos presentes nos alimentos funcionais: ácidos graxos (AGs) (ômega 3), carotenoides (licopeno, luteína e zeaxantina), fibras alimentares (dextrina resistente, frutooligossacarídeo, goma guar parcialmente hidrolisada, inulina, lactulose, polidextrose, beta glucana, psillium), fitoesteróis, proteína da soja, quitosana, polióis (manitol, xilitol, sorbitol) e probióticos.

O aumento do consumo desses alimentos nutritivos para evitar ou mesmo corrigir problemas de saúde, como a obesidade e o diabetes, contribui para o binômio dieta-saúde, que hoje representa um novo modelo de estudo dos alimentos que envolve a compreensão do valor

nutricional e os benefícios fisiológicos trazidos pelos mesmos (CASADO, 2010; SIMÕES, 2015).

A dieta Mediterrânea, um grande exemplo de inserção dos alimentos funcionais, apresenta uma redução da taxa de doenças crônicas devido aos hábitos alimentares da população. Ela é representada por uma baixa ingestão de produtos derivados do leite, carnes vermelhas e processadas, doces, e um alto consumo de azeite, frutas, nozes, vegetais e cereais. O vinho é consumido diariamente, em pequenas quantidades, junto com as refeições (BERTOLANI; VENTRIGLIO; DAVANÇO, 2014; ESTRUCH et al., 2013).

Dentre os alimentos funcionais com maior importância na prevenção do diabetes, destaca-se o grupo das oleaginosas, que é representado pelas amêndoas, macadâmias, amendoins, avelãs, nozes, castanhas e a linhaça (BRAGA; BARLETA, 2017; CARDOZO; MAFRA, 2015). As oleaginosas contêm além de AGs essenciais (que não podem ser sintetizados no organismo humano e, portanto, devem ser incluídas na dieta), também importantes macronutrientes (lipídeos, proteínas, carboidratos e fibras), micronutrientes, como a vitamina E e os minerais (selênio, manganês, magnésio, zinco, ácido fólico e cobre), e os metabólitos secundários (compostos fenólicos - ácidos fenólicos, taninos e flavonoides) (SILVA et al., 2016).

Os inúmeros componentes presentes nas oleaginosas além de protegerem o organismo contra o estresse oxidativo, modificam positivamente o perfil lipídico, melhoram a sensibilidade à insulina e também reduzem os fatores de risco para diversas doenças crônicas. A porção ideal para consumo das oleaginosas variam de acordo com a idade, gênero, necessidades energéticas e o objetivo nutricional (EAGAPPAN; SASIKUMAR, 2014).

Nesse sentido, os diversos constituintes das nozes agregam benefícios para o alimento e tornam o grupo das oleaginosas importantes na prevenção e no tratamento de várias patologias.

2.3 LIPÍDEOS

Os lipídeos são compostos químicos representados por grandes cadeias orgânicas de carbono e hidrogênio que lhes conferem caráter hidrofóbico, ou seja, insolubilidade em água. Essas cadeias podem ser apenas de hidrocarbonetos ou ainda acrescidas de grupos funcionais como álcoois, ácidos carboxílicos, ésteres, éteres, fenóis, amidas, entre outros. Esses compostos

são utilizados pelo homem desde a antiguidade, não somente como parte da dieta, mas também como fontes de combustíveis líquidos, na produção de sabões e tintas (LENHARD et al., 2015; RAMALHO; SUAREZ, 2013).

No organismo, essas substâncias lipofílicas têm funções na construção de membranas biológicas, na reserva de energia, fornecimento de moléculas precursoras de hormônios esteroidais e prostaglandinas, na conservação do calor corporal e na proteção das vísceras (GONZÁLVEZ; Da SILVA, 2017). Os lipídeos são necessários para absorção de algumas vitaminas lipossolúveis e carotenoides e constituem a maior fonte de energia do organismo, oferecendo cerca de 9kcal por grama de alimento, representando de 20 a 35% do total calórico ingerido numa dieta normal. As principais fontes desses compostos são encontradas nos produtos lácteos, em pescados, na carne bovina, nos cereais, nas oleaginosas, nos óleos e gorduras vegetais (KURECK, 2014; VIANA; DANTAS; MENEZES, 2016).

Os lipídeos mais importantes em termos fisiológico e clínico são os fosfolipídeos, o colesterol, os triacilgliceróis ou triglicerídeos (TAGs) e os ácidos graxos (AGs). Os primeiros, possuem em sua composição os AGs, o glicerol e o fosfato, atuando na formação das membranas e como participantes nas vias de sinalização de diversos tipos de estímulos (BURTIS; BRUNS, 2016; REIS, 2016). Já o colesterol, é um elemento essencial no organismo animal para a formação estrutural das membranas celulares, além de atuar na síntese de ácidos biliares, hormônios sexuais e vitamina D. Esse tipo de lipídeo está presente em alimentos oriundos de gorduras animais como ovo, leite e seus derivados e carne vermelha (SBC, 2015). Os TAG são compostos por uma molécula de glicerol que está ligada a três AGs por meio de ligações do tipo éster e sua principal função é de armazenamento energético. Eles podem ser do tipo simples, onde há uma única espécie de AG ligado ao glicerol, ou compostos (mistos), contendo dois ou mais AGs diferentes (REIS, 2016; SBC, 2015; SIMAS, 2010; TRIGUERO et al., 2012).

Os AGs são formados por uma longa cadeia de hidrocarbonetos que na sua porção terminal tem ligado um grupamento carboxila. As suas principais funções estão relacionadas também à composição estrutural das membranas, além de atuarem como precursores de mensageiros intracelulares gerando ATP (adenosina trifosfato) (FERREIRA et al., 2012; GOIS et al., 2016). Eles podem ser classificados de acordo com: o tamanho da cadeia em curta (de 2 a 4 carbonos), média (de 6 a 12 carbonos) e longa (acima de 12 carbonos); pelo número de ligações simples e duplas (saturados, monoinsaturados e poli-insaturados); e também pela configuração das ligações duplas (*cis* e *trans*) (REIS, 2016). Os principais tipos de AGs encontrados na natureza estão listados na tabela 1.

Tabela 1 - Principais ácidos graxos existentes

Símbolo numérico	Fórmula química	Nome comercial	Nome popular	Tipo AG
C 4:0	CH ₃ -(CH ₂) ₂ -COOH	Butanóico	Butírico	Saturado
C 6:0	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -COOH	Hexanóico	Capróico	Saturado
C 8:0	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -COOH	Octanóico	Caprílico	Saturado
C 10:0	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -COOH	Decanóico	Cáprico	Saturado
C 12:0	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -COOH	Dodecanóico	Láurico	Saturado
C 14:0	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -COOH	Tetradecanóico	Mirístico	Saturado
C 16:0	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -COOH	Hexadecanóico	Palmítico	Saturado
C 16:1	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -COOH	9-Hexadecenóico	Palmitoléico	Monoinsaturado
C 18:0	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -COOH	Octadenóico	Estearico	Saturado
C 18:1	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -COOH	9-Octadecenóico	Oleico	Monoinsaturado
C 18:2	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -COOH	9,12-Octadecadienóico	Linoleico	Poli-insaturado
C 18:3	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -COOH	9,12,15-Octadecatrienóico	Linolênico	Poli-insaturado
C 20:0	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -COOH	Eicosanóico	Araquídico	Saturado
C 20:4	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -COOH	5,8,11,14-Eicosatetraenóico	Araquidônico	Poli-insaturado
C 22:0	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -COOH	Docosanóico	Behênico	Saturado
C 24:0	CH ₃ -(CH ₂) ₂₂ -COOH	Tetracosanóico	Lignocérico	Saturado

Fonte: Adaptado de MERCON (2010)

Os AGs que apresentam ligações do tipo simples são nomeados saturados e possuem como característica um maior ponto de fusão se comparados com os AGs insaturados (VIANA; DANTAS; MENEZES, 2016). Pode-se encontrar esses lipídeos em maiores quantidades nos alimentos de origem animal (carnes vermelhas, manteiga, leite e derivados), embora também podem estar presentes nos de origem vegetal (coco, azeite, entre outros). Uma dieta com elevado consumo dessas gorduras é maléfica para a saúde pois esses AGs são capazes de elevar o risco de doenças como o DM, além de aumentar o peso corporal e subir os níveis de colesterol (HIPÓLITO; FRANCISCO, 2015). De acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC, 2015) os AGs saturados mais importantes e encontrados no estado sólido à temperatura ambiente são o mirístico (14:0), o palmítico (16:0) e o estearico (18:0).

Já os denominados AGs insaturados, que caracterizam-se por uma ou mais duplas ligações ao longo da cadeia principal de carbonos, são benéficos para a saúde. Os AGs monoinsaturados (MUFAs) apresentam apenas uma ligação dupla na molécula e estão presentes, principalmente, em óleos de canola e oliva, oleaginosas (amendoim, amêndoa, nozes) e abacate. Os PUFAs (AGs poli-insaturados), contém duas ou mais insaturações, que

são caracterizadas pela localização das duplas ligações, e são encontrados no azeite, no óleo de girassol, no de milho, no grão de soja, em peixes e nas oleaginosas (castanhas, nozes, avelãs) (BIESEK; ALVES; GUERRA, 2015).

Dentre os PUFAs que merecem destaque estão o ácido linoleico (n-6 (insaturação no carbono 6) ou C18:2) e o ácido linolênico (n-3 (primeira insaturação no carbono 3) ou C18:3) que são lipídeos pertencentes à família dos ômegas e também chamados de essenciais por não poderem ser produzidos pelo homem e, portanto, devendo ser inseridos na dieta regularmente (COSTA; JORGE, 2011; REIS, 2016;). O ácido oleico (n-9 (primeira insaturação no carbono 9) ou C18:1) é um MUFA que como é sintetizado pelo organismo não pode ser classificado como um AG essencial, entretanto, o seu consumo apresenta benefícios nas doenças crônicas pois atuam como potentes antioxidantes (ATANOSOV et al., 2018).

De acordo com Ley et al. (2014), a preocupação do consumo dos lipídeos não está na quantidade ingerida diariamente, mas sim, no tipo de AGs presentes na dieta. A troca das gorduras saturadas pelas insaturadas é capaz de estimular a secreção de insulina em células do pâncreas de ratos, aumentando a sensibilidade desse hormônio insulínico, conseqüentemente, diminuindo o risco de desenvolvimento do DM (ATANOSOV et al., 2018; GUASCH-FERRÉ et al., 2017).

Em resumo, como os lipídeos possuem importantes funções na nutrição e na saúde, é necessário o conhecimento bioquímico desses compostos para a compreensão de certas patologias, incluindo a obesidade e diabetes *mellitus* (RODWELL et al., 2016).

2.4 *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch

A espécie *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch, também conhecida como noz pecã (NP), é nativa da América do Norte e pode ser encontrada, principalmente, nos Estados Unidos (EUA) e no México, sendo esse primeiro país o líder do ranking de maior produtividade mundial da NP (MATTISON et al., 2017). É possível ainda encontrar esse tipo de noz em outras localidades, como no Chile, na África do Sul, no Peru, na Austrália, em Israel, no Egito, no Canadá, na Argentina e no Brasil (BHARDWAJ; SHARMA, 2017; RECKZIEGEL, 2011).

A espécie, nogueira pecã (Figura 1), pertence à família Juglandaceae, é considerada uma árvore alta podendo atingir de 25 a 45 metros de altura e diâmetro de copa e 5 metros de

circunferência de tronco. Ela também é apontada como uma das mais antigas árvores, chegando a 100 anos de idade e produzindo mais de 100 kg de nozes por planta. A família pertence à ordem Fagales que é composta por oito gêneros de plantas, destacando-se além da *Carya*, as *Juglans* (OZCARIZ FERMOSELLE, 2016; ROBBINS, 2012).

Figura 1 – Nogueira (árvore noz pecã)



Fonte: Do autor

Essas árvores são classificadas como heterodínamos, monóicas e de folhas decíduas, que apresenta digamia, produzindo flores femininas e masculinas no mesmo pé, mas em lugares separados e que maturam em momentos diferentes. O fruto é uma drupa que se agrupa em cachos de três a sete unidades, com epicarpo que se separa do fruto na maturação, em formatos oblongos e elipsoides que variam de 3 a 5 cm de comprimento (PAULUS, 2015; VIDAL;

PINTOS, 2013). Ele está envolvido por um tegumento espesso que, inicialmente tem coloração esverdeada, mas com o processo de maturação torna-se mais escuro, se abre e libera a NP (MOKOCHINSKI, 2015) (Figura 2).

Figura 2 – Partes constituintes da noz pecã



Fonte: Do autor

Legenda: A – Folhas; B - frutos verdes e maduros ; C – noz pecã; D - Amêndoas da noz pecã

As exigências climáticas da noqueira, segundo Bhardwaj e Sharma (2017), são clima temperado e tropical, com baixas temperaturas no inverno para que ocorra o repouso vegetativo e valores elevados no verão favorecendo o florescimento e a frutificação de *C. illinoensis*. A perda de suas folhas acontece na estação do inverno quando as amêndoas estão maduras para o consumo (De LIMA, 2011; ROVANI; WOLLMANN; MONTEIRO, 2015).

A palavra pecã, ou também conhecida por outras nomenclaturas como pecan ou noz pecã, é de origem indígena “*pacaon*” que significa: fruto que para ser quebrado necessita de uma pedra (MOKOCHINSKI, 2015; ORO, 2007; VENKATACHALAM, 2004). Segundo Ozcariz Fermoselle (2016) o uso dessa espécie pelos seres humanos é bastante antigo, pois foram encontrados restos de sementes e folhas da noqueira próximos a ferramentas humanas em uma caverna no Texas referentes ao ano 6.100 a.C. Em relatos históricos de colonizadores espanhóis no século XVI, é descrito características dos frutos de *C. illinoensis* que eram amplamente usados e comercializados por índios no Colorado, Novo México, Arizona e Texas. Os indígenas norte-americanas utilizavam a NP como principal ingrediente no preparo de “powhohicoria”, uma bebida tóxica, consumida em festas típicas de algumas tribos (ORTIZ, 2000; PRADO, 2013).

A espécie era amplamente cultivada nos Estados Unidos nos séculos XVI e XVII, mas somente em meados de 1870 que ela foi introduzida no Brasil por meio de imigrantes norte-americanos oriundos da Guerra de Secessão (1861-1865), nas cidades de Santa Bárbara D’Oeste e Americana, no Estado de São Paulo (GRAUKE; THOMPSON, 1996; PAULUS, 2015). Na região Sul do País, a noz foi inserida em, aproximadamente, 1910 e como é uma espécie de clima temperado encontrou nesse local um bom lugar para seu cultivo. Atualmente, o estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor do Brasil, com 3.400 hectares cultivados e uma produção em torno de 1.700 toneladas de frutos (RECKZIEGEL, 2011; ROVANI; WOLLMANN; MONTEIRO, 2015). Entretanto, o Chile é considerado o grande produtor da América do Sul, gerando cerca de 12.000 toneladas e exportando 10.000 dessas (STELLA; LUCCHESI, 2015).

Segundo Ozcariz Fermoselle (2016) existem mais de 500 tipos de cultivares registradas no mundo todo, e os principais tem origem nos EUA e são nomeadas: Stuart, Mahan, Frotscher, Schley, Success, Moneymaker, Barton, Shawnee, Cape Fear, Chickasaw e Choktaw, Desirable, Melhorada, Imperial, Importada, Burkett, Chpecear, Shoshone (AGROLINE, 2010; POLETTI et al., 2012; ROVANI; WOLLMANN; MONTEIRO, 2015). Dentre essas, as quatro principais comercializadas no Brasil são a Barton, Choktaw, Shawnee e Stuart. A maturação acontece no período de março a maio, mas pode variar de acordo com as condições climáticas e genéticas das plantas (MOKOCHINSKI, 2015; VENKATACHALAN, 2004).

As cultivares diferem entre si em vários aspectos, principalmente nas características físicas, de rendimento na produção e na resistência a pragas. Mokochinski (2015) e Venkatachalan (2004) afirmam que a Stuart apresenta uma maior massa de amêndoa e de casca, portanto, exibem um menor rendimento, diferentemente da Shawnee e Barton, que possuem

uma maior produção em decorrência do menor peso de suas cascas. Já a Choctaw, tem um rendimento intermediário por apresentar uma massa maior de amêndoa, porém, menor de casca. A figura 3 ilustra alguns tipos de cultivares.

Figura 3 – Amêndoas das principais cultivares da noz pecã



Fonte: OZCARIZ FERMOSELLE (2016)

Como praticamente todas as partes da NP são aproveitadas, existe uma gama de aplicações desse alimento funcional. A amêndoa pode ser consumida *in natura*, utilizada em molhos, sobremesas (tortas, bolos, sorvetes) e em produtos cosméticos. Já o óleo fixo, obtido por meio de prensagem das amêndoas da noz, é aproveitado como azeite (COSTA, 2011; ORO et al., 2008; OZCARIZ FERMOSELLE, 2016). A casca do fruto, um subproduto do processo industrial, é vendida em pedaços ou triturada para o preparo de chás na prevenção e tratamento de patologias como o diabetes, obesidade, hipertensão, dislipidemia e também como vermífuga, diurética, desintoxicante e digestiva (HILBIG et al., 2017; KURECK, 2014; PRADO, 2013).

A NP é extremamente valorizada não somente pelas suas características nutricionais, mas também pelo cheiro e gosto agradáveis da noz (MATTISON et al., 2017). Nos últimos

anos aumentou o interesse pela espécie e pelos seus metabólitos secundários, pois parecem reduzir o risco de doenças metabólicas e ainda, diminuir o colesterol. Todas as partes da NP, as amêndoas, o óleo, as folhas, as raízes e a casca têm sido utilizadas como tratamento alternativo ou preventivo do diabetes *mellitus* na população, mesmo que ainda não tenha sido totalmente elucidado esse feito (PORTO et al., 2015).

2.5 COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E BENEFÍCIOS DA NOZ PECÃ

A NP possui diversos componentes que são responsáveis por inúmeros benefícios para o organismo humano, variando desde macronutrientes, micronutrientes até metabólitos secundários. Segundo Luo et al. (2014), a ingestão diária das nozes pode melhorar a saúde de várias formas, podendo citar: redução do risco da doença cardiovascular e do DM pela quantidade elevada de boas gorduras; relação positiva com a adiponectina plasmática, contribuindo com a perda de peso; além da presença de proteínas, fibras, fitoesteróis e minerais (cálcio, magnésio e potássio) que também colaboram para uma dieta equilibrada e saudável. Os mecanismos relacionados podem ser explicados, como na doença cardiovascular através da modulação da expressão de receptores LDL no fígado (SCHERR et al., 2015); no DM, em que os AGs alteram a composição dos fosfolípidos nas membranas celulares, modulando a ação e a homeostase da insulina (RAJARAM; SABATE, 2006); e a ação da adiponectina que pode ser regulada através de AGs insaturados e a presença de compostos fenólicos que aumentam a expressão gênica de alguns fatores relacionados com o hormônio (TIAN et al., 2013)

Na composição centesimal da NP Bhardwaj e Sharma (2017) citam que os teores podem variar em cada componente, sendo de umidade de 2,1-6,4%, de proteína de 6-11,3%, lipídeos de 65,9-78%, carboidratos totais de 3,3-5,3% e cinzas de 1,2-1,8%. O valor de ingestão calórica em 100 gramas de produto tem um total de 726,8 kcal (BHARDWAJ; SHARMA, 2017; PORTO et al., 2013).

A espécie é bem conhecida pelo seu elevado conteúdo lipídico, em que os valores podem variar não somente de cultivar para cultivar, mas também com o ano da safra, a idade das árvores, os métodos de produção, o nível de irrigação e as características genéticas da planta. Esses lipídeos da NP são compostos, principalmente, por AGs insaturados, possuindo um teor considerável do MUFA oleico (de 52,52 a 74,09%) e do PUFA linoleico (de 17,09 a 37,52%) (BHARDWAJ; SHARMA, 2017; OZCARIZ FERMOSELLE, 2016).

Os ácidos graxos saturados (SAFAs) palmítico, esteárico e aracdônico também são encontrados na oleaginosa, porém, em menor concentração. A relação PUFA/SFA na NP é considerada benéfica representando um total de 2,6 bem semelhante ao encontrado no azeite. O valor de ômega 3 (α -linolênico) em 100g de NP está em torno de 0,45 g, que representa um total de 8% de todo o conteúdo lipídico da pecã (CHACÓN-GARZA et al., 2016; PORTO et al., 2013).

Outra fração da espécie *C. illinoensis*, representada pelos metabólitos secundários, é composta por ácidos fenólicos (ácido elágico e gálico), flavonoides (antocianinas), estilbenos, lignanas, fitoesterol, taninos hidrolisáveis e condensados (catequinas e proantocianidinas) (De La ROSA et al., 2014; DOMÍNGUEZ-AVILA et al., 2015; OZCARIZ FERMOSELLE, 2016). Segundo Pasini et al. (2013) a NP é classificada dentre os alimentos, com maior conteúdo de compostos fenólicos, presentes tanto na casca do fruto quanto na amêndoa sendo, portanto, investigada para o tratamento e/ou prevenção de inúmeras patologias, destacando-se o diabetes e as infecções microbiológicas (PORTO et al., 2016; PRADO, 2013).

A atividade antimicrobiana de *C. illinoensis* contra bactérias Gram positivas, Gram negativas e leveduras, também é relatada na literatura e justificada, na maioria dos trabalhos, pela presença de compostos fenólicos como os ácidos fenólicos, flavonoides e taninos (BHARDWAJ; SHARMA, 2017). Os mecanismos de ação desses estão relacionados à complexação de íons metálicos essenciais, inibição de enzimas extracelulares ou oxidação de membranas celulares microbianas (BORGES et al., 2013; CAXAMBU et al., 2016). Entretanto, a composição lipídica da espécie, também colabora com a atividade antimicrobiana.

2.6 ATIVIDADES BIOLÓGICAS RELACIONADAS À NOZ PECÃ

2.6.1 Diabetes *Mellitus*

O Diabetes *Mellitus* (DM) é um distúrbio metabólico que ocorre devido a um defeito na ação ou excreção de insulina dificultando a entrada de glicose nas células e, conseqüentemente, impedindo a metabolização dessa. É uma doença que se instala silenciosamente, que eleva a glicemia e causa muitas complicações no organismo (CUNHA, 2015; SBD, 2017/2018). Os sintomas mais comuns são a poliúria, polifagia, polidipsia, perda de peso e alterações na visão

(SALLES, 2017; VIANA; RODRIGUEZ, 2011). As complicações dessa patologia são divididas em agudas, representadas por hiperglicemia com cetoacidose ou a síndrome hiperosmolar. As de longo prazo, como a retinopatia, perda de visão, nefropatia, insuficiência renal, neuropatia periférica, amputações de membros e disfunção sexual. A hipertensão e anormalidades no metabolismo de lipoproteínas são frequentemente encontradas em diabéticos (ADA, 2017).

O DM pode ser classificado em tipo 1 (DM1), que ocorre devido à destruição ou o não funcionamento normal das células β do pâncreas, resultando em uma deficiência completa de insulina; em tipo 2 (DM2), caracterizada por uma resistência à insulina devido a um aumento da secreção desse hormônio para tentar manter a glicose em níveis normais; em DM Gestacional (DMG), quando a patologia é diagnosticada durante a gravidez; e em outros tipos de diabetes associados a diferentes causas, como por exemplo doenças do pâncreas exócrino e defeitos genéticos na ação da insulina. Dentre esses tipos, o DM1 e DM2 são os mais comuns na população e apresentam o maior índice de morbidade. O DM1 representa 75% dos casos em, principalmente, crianças e adolescentes, entretanto, o DM2 é o mais recorrente (ADA, 2017; SALLES, 2017; SBD, 2017/2018).

A insulina é essencial para que o corpo possa usar a glicose como fonte de energia para as diversas reações no organismo. Quando o ser humano se alimenta, o amido e o açúcar oriundos dos alimentos são processados e convertidos em glicose que, com a liberação da insulina, é convertida em energia ou armazenada na forma de glicogênio ou gordura. Porém, em pessoas diabéticas, há um defeito na ação ou na secreção de insulina que impede que a glicose passe para o interior das células, gerando um acúmulo de açúcar e podendo produzir complicações da doença (ADA, 2017).

Essa patologia é considerada um dos grandes problemas da saúde e possui uma prevalência aumentada no mundo todo devido a mudanças no estilo de vida e no comportamento da população (CHAYAROP et al., 2017). O sedentarismo e as transições dos padrões alimentares durante as últimas décadas levaram a um preocupante ganho de peso na população e contribuíram para o desenvolvimento da doença. As dietas altamente calóricas e pouca saudáveis dos “fast foods”, a ingestão de açúcares e gorduras maléficas e o aumento no tamanho das porções alimentares também auxiliaram na incidência dessa patologia (LEY et al., 2014). De acordo com Malta et al. (2017), a adoção de uma vida mais saudável como a prática de exercícios físicos e alteração alimentar são algumas das intervenções capazes de prevenir o diabetes.

Os fármacos hipoglicemiantes disponíveis e aplicados na terapêutica dessa patologia conseguem reduzir a glicose para níveis normais, porém, muitos deles possuem efeitos colaterais graves que variam desde distúrbios gastrointestinais até severas complicações renais (CHAYAROP et al., 2017). Por esse motivo, alternativas complementares como suplementos nutricionais e plantas medicinais estão sendo cada vez mais utilizadas para o tratamento dessa patologia e de outras (GHIRAVANI et al., 2016). Os principais mecanismos hipoglicêmicos referentes aos produtos naturais incluem a inibição da α -glicosidade e da formação dos produtos finais de glicação avançada (AGEs), o aumento do transportador de glicose tipo 4 (GLUT-4) e da expressão dos proliferadores de peroxissomas (PPARs) e também a atividade antioxidante (GOVERNA et al., 2018).

A literatura relata o uso da espécie *C. illinoensis* para o tratamento do DM e atribui esse efeito aos constituintes da planta, como os metabólitos secundários, micro e macronutrientes. Os compostos fenólicos presentes na noqueira pecã podem atuar de diferentes formas, desde a inibição da digestão do amido, aumento da absorção da glicose pelos tecidos periféricos, até a melhora na sensibilidade à insulina (ATANASOV et al., 2018). Os lipídeos, principalmente AGs insaturados, o teor de magnésio e a presença de carboidratos de baixo índice glicêmico também auxiliam na atividade antidiabética, sendo esses últimos compostos responsáveis pela redução da carga glicêmica da dieta, altamente benéfica para indivíduos diabéticos (VIGUILIOUK et al., 2014).

Tendo em vista que, das poucas pesquisas existentes na literatura, a maioria avalia o efeito da casca *C. illinoensis* em DM2, este trabalho foi delineado objetivando determinar se a parte mais consumida da noz pecã, as amêndoas, também teria atividade no DM1, visando um possível complemento nutricional na expectativa de reduzir a glicemia de pacientes impactados por essa doença.

2.6.2 Atividade antimicrobiana

O termo micro-organismos (MOS) é definido como qualquer forma de vida que é visível em microscópico e inclui organismos unicelulares, multicelulares e os vírus. Os representantes com maior diversidade e importância desse amplo grupo são as bactérias e fungos, que podem apresentar funções bastante significativas em alimentos, nas plantas, nos animais e em humanos, podendo elas serem benéficas ou nocivas (OLIVEIRA, 2015).

Os antimicrobianos, ou também denominados antibióticos, são substâncias que podem matar os MOS patogênicos por meio da sua atividade bactericida ou fungicida, como também paralisar o seu crescimento (bacteriostática ou fungistática), sem causar nenhum efeito maléfico para o hospedeiro. Esses agentes podem diferir não somente no mecanismo de ação como também em propriedades físicas, químicas e farmacológicas (LUCHTENBERG, 2014; MORAES; ARAÚJO; BRAGA, 2016; PRADO, 2013).

Recentemente, grande parte dos medicamentos utilizados no tratamento de doenças infecciosas são desenvolvidos a partir de produtos naturais, especialmente de espécies medicinais, por apresentarem uma gama de compostos com propriedades terapêuticas (CORREIA, 2016). De acordo com Pires (2015), esses metabólitos especiais produzidos pelas plantas influenciam na atividade antimicrobiana através da inibição do crescimento micelial, da germinação de esporos ou multiplicação dos MOS.

Dentre as inúmeras aplicações da *Carya illinoensis*, estudos também relatam a sua atividade antimicrobiana, tanto para as bactérias como para os fungos, que pode variar de acordo com a origem da planta e o tempo de extração de seus metabólitos secundários (ANDRADE et al., 2015; PRADO et al., 2014).

2.6.2.1 Fungos

Os fungos são seres eucarióticos, heterotróficos (saprofitos ou parasitários), simbiontes, aeróbicos (a maioria), que podem formar longos filamentos denominados hifas ou pseudomicélios. A parede celular desses MOS é de consistência porosa e formada essencialmente de celulose e quitina, sendo esse último componente encontrado no exoesqueleto de diversos artrópodes (BENEVIDES; MARINHO, 2015).

Grande parte das infecções fúngicas que acometem os seres humanos são causadas por fungos oportunistas, que habitam normalmente algum local do organismo, de forma comensal, sem que haja prejuízo à saúde do hospedeiro. A *Candida* é um dos MOS oportunistas, que dependendo da integridade do tecido, da microbiota normal e/ou o sistema imune do indivíduo, pode aproveitar e desenvolver a infecção fúngica. Por esse motivo, os pacientes imunocomprometidos têm uma maior probabilidade de serem acometidos por infecções causadas por fungos, principalmente os portadores de leucemias, linfomas, DM e HIV (De ROSSI et al., 2011; LIMA et al., 2006; SZWEDA et al., 2014).

Nos Estados Unidos, as infecções provocadas pelo gênero *Candida* são consideradas a segunda causa mais comum no país e a quarta, no ranking das infecções adquiridas em ambiente hospitalar. A *Candida albicans* é a espécie que causa a maioria das candidíases, seguidas das espécies *C. glabrata*, responsável por cerca de 16% de todas as infecções sanguíneas, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e a *C. krusei*, essa representa 2% de todos os isolados clínicos de *Candida* (KABIR; AHMAD, 2013).

Os medicamentos mais utilizados no tratamento de infecções fúngicas são, disparadamente, a anfotericina B e os azóis. Porém, devido aos problemas de resistência aos antifúngicos, que conseqüentemente constituem obstáculos enfrentados por diversos países atualmente, a busca por novos compostos antifúngicos de origem vegetal, tem despertado o interesse de alguns cientistas, embora a maioria dos antifúngicos disponíveis no mercado atual seja de origem sintética (Dos SANTOS et al., 2017; LIMA et al., 2006).

Portanto, torne-se essencial investimentos adequados nas pesquisas de desenvolvimento de antifúngicos a base de produtos naturais, objetivando contornar os problemas de resistência dos medicamentos, tratar os pacientes acometidos pelos micro-organismos e reduzir os gastos na saúde pública.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o perfil químico e avaliar as atividades biológicas de *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch.

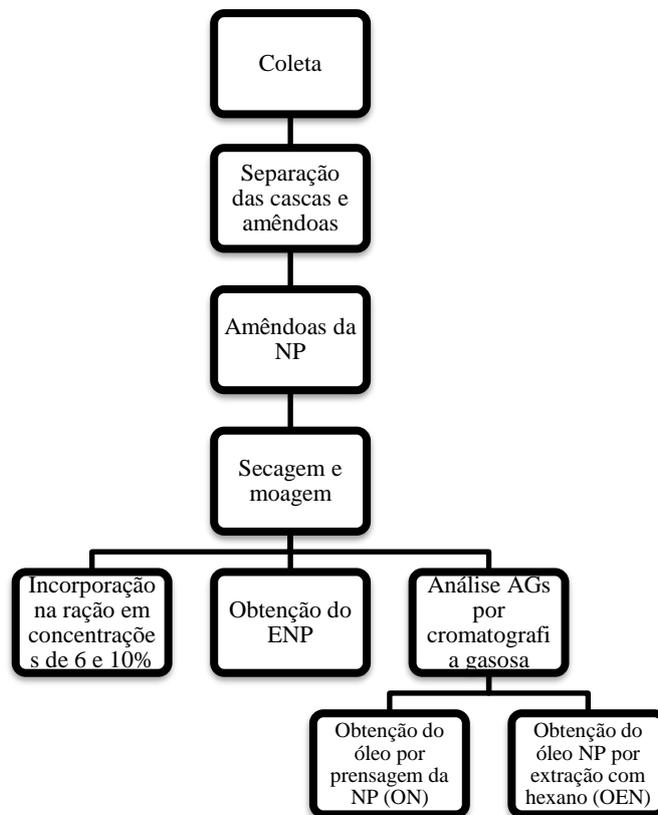
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Produzir rações para tratar os animais no experimento visando a avaliação da atividade antidiabética;
- b) Avaliar o efeito da noz pecã em diferentes concentrações sobre os parâmetros bioquímicos (glicose, triglicerídeos, colesterol total e frações, ureia e creatinina) do ensaio biológico em ratos *wistar*;
- c) Determinar os constituintes químicos do extrato hidroetanólico 70% (v/v) das amêndoas da noz pecã;
- d) Avaliar a atividade antimicrobiana do extrato;
- e) Obter a composição química dos ácidos graxos da pecã e da ração;
- f) Determinar a composição centesimal das rações.

4 MATERIAS E MÉTODOS

Todos os processos realizados com a NP estão detalhados nos itens a seguir, e o esquema resumido encontra-se na figura (4) abaixo.

Figura 4: Fluxograma dos processos realizados com a noz pecã



Fonte: Do autor

4.1 COLETA DA ESPÉCIE

O material vegetal de *Caya illinoensis* foi coletado no mês de junho de 2017, no município de Campo do Meio, região sudeste de Minas Gerais com as seguintes coordenadas:

-21.100120 de latitude e -45.822392 de longitude. A quantidade coletada das nozes inteiras foi de aproximadamente 4kg.

4.2 DEPÓSITO DA EXSICATA

A espécie foi identificada pelo Prof. Dr. Geraldo Alves da Silva, e a exsicata foi depositada e registrada no Herbário da Universidade Federal de Alfenas, campus Alfenas sob os números de registros 2967 e 2968.

A pesquisa foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) com o registro ACFB4BF.

4.3 SECAGEM E MOAGEM

Após a coleta, as amêndoas da noz pecã foram separadas da casca por processo manual e passaram pela secagem em estufa de ar circulante (Solab[®] SL 102), a uma temperatura de aproximadamente 40° C, durante 24h (Figura 5). Em seguida, passaram pelo processo de pulverização por meio de moinho de facas (Cienlab[®] CE 430), obtendo-se ao final um particulado que não pode ser padronizado devido as características físicas do material e da sua composição lipídica.

Figura 5 – (A) Amêndoas da pecã (B) Estufa de ar circulante utilizada no processo de secagem



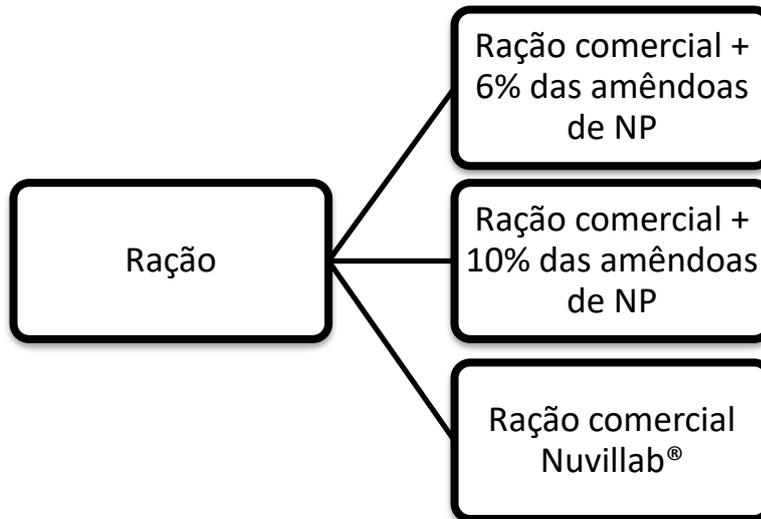
Fonte: Do autor

4.4 DELINEAMENTO DAS CONCENTRAÇÕES DAS AMÊNDOAS DA NOZ PECÃ

É imprescindível destacar que a espécie *Carya illinoensis* apesar de ser uma das árvores mais antigas, somente de uns anos para cá que a mesma vem sendo estudada cientificamente. A escassez de trabalhos publicados na literatura utilizando a NP dificulta a proposta do trabalho e a discussão de resultados obtidos por falta de embasamento teórico concreto. Mas isso torna esse trabalho inovador na área de investigação de espécies com relatos etnofarmacológicos.

Em virtude disso, as concentrações de NP usadas na avaliação da atividade hipoglicemiante foram determinadas com base em dois aspectos, sendo o primeiro em alguns poucos estudos desenvolvidos em ratos e relatados na literatura, e o segundo por meio do documento AIN93 que estabelece as necessidades nutricionais para roedores (FARIAS, 2010). No fluxograma abaixo (figura 6), encontra-se o detalhamento das rações e concentrações utilizadas nos experimentos hipoglicemiante e da composição centesimal.

Figura 6: Cromatograma das rações de tratamento



Fonte: Do autor

O primeiro estudo, de Ghorbani et al. (2014), utilizou nozes inglesas (*Juglans regia*) nas concentrações de 6, 9 e 12% com o objetivo de avaliar os efeitos da ingestão de nozes sobre hormônios sexuais em ratos machos *Wistar* diabéticos induzidos por estreptozotocina. Nos experimentos de Willis et al. (2009), que avaliou os efeitos do consumo de nozes (*Juglans regia*) sobre a capacidade motora e cognitiva em ratos idosos, os valores foram de 2, 6 e 9%. E no estudo de Poulouse, Bielinski e Shukitt-Hale (2013), as concentrações de 6 e 9% de nozes *Juglans regia* foram avaliadas na homeostase proteica e inflamações poliamiquitinadas no cérebro de ratos.

Como a noz pecã por si só já apresenta teores elevados de lipídeos e ainda precisava ser incorporada na ração comercial Nuvillab®, foi preciso levar em consideração às necessidades nutricionais dos ratos e obedecer às devidas quantidades dos nutrientes (lipídeo, proteína, cinza, água e fibra). Por essas razões, as concentrações de 6 e 10% foram adotadas para a produção da ração nos experimentos da avaliação do diabetes com substituição total da dieta, ou seja, retirou-se as devidas quantidades da ração comercial e as trocou pela noz pecã. A concentração de 10% escolhida é considerada adequada pois não excede o limite diário para ingestão de lipídeos em dietas saudáveis para ratos que, segundo Farias (2010), a quantidade é de 10%.

4.5 PRODUÇÃO DA RAÇÃO

A ração de tratamento dos animais foi produzida em grande quantidade (aproximadamente 30kg) e congelada para sua maior durabilidade e conservação das propriedades nutricionais. A sua composição centesimal foi calculada e encontra-se, detalhada nos resultados e discussão. Ela foi preparada a partir da ração comercial Nuvilab[®], disponibilizada pelo Biotério Central da UNIFAL (Tabela 2), onde foi triturada em liquidificador industrial e em seguida tamisada. A noz pecã foi incorporada em duas diferentes concentrações (6% e 10%), separadamente, com o auxílio de água deionizada e homogeneização manual (Tabela 3). As rações foram moldadas em seringas de plástico de 20 e 25 mL para formação dos peletes, que é a forma ideal para ingestão de ratos. A secagem desse material foi realizada em estufa de ar circulante na temperatura de 60° C, durante 24h e ao final obteve-se a ração na forma desejada (Figura 7) para o tratamento dos ratos. A composição centesimal da determinação da perda por secagem de água e/ou compostos voláteis foi também calculada.

Tabela 2 – Dados da ração comercial Nuvilab®

NOME COMERCIAL	Nuvilab CR1- Irradiada
FABRICAÇÃO	12/07/2017
VALIDADE	08/01/2018
LOTE	0012071705
EMPRESA	Quintia S.A
COMPOSIÇÃO	Milho integral moído, farelo de soja, farelo de trigo, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, cloreto de sódio vegetal, vitamina A, vitamina D3, vitamina E, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina B12, niacina, pantotenato de cálcio, ácido fólico, biotina, cloreto de colina, sulfato de manganês, sulfato de zinco, sulfato de cobre, iodato de cálcio, selenito de sódio, sulfato de cobalto, lisina, metionina, BHT
VALOR ENERGÉTICO	330 kcal/100g de produto
UMIDADE (MÁX)	125 g/kg de produto
PROTEÍNA BRUTA (MÍN)	220 g/kg de produto
LIPÍDEOS (MÍN)	50 g/kg de produto
CINZAS (MÁX)	90 g/kg de produto
FIBRA BRUTA (MÁX)	70 g/kg de produto
CÁLCIO (MÍN-MÁX)	10-14 g/kg de produto
FÓSFORO (MÍN)	6.000 mg/kg de produto

Fonte: Adaptado de Quintia S.A.

Tabela 3 – Dados da noz pecã (NP) em 100 gramas de produto

Dados	Valores
Valor energético (kcal)	620
Umidade (%)	6,2
Proteínas (g)	14
Lipídeos (g)	59,4
Carboidratos (g)	18,4
Fibras (g)	7,2
Cinzas (g)	2,1
Cálcio (mg)	105
Magnésio (mg)	153

Fonte: Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO (2011)

Figura 7 – (A) Amêndoas moídas incorporadas na ração comercial e (B) Produção dos peletes.



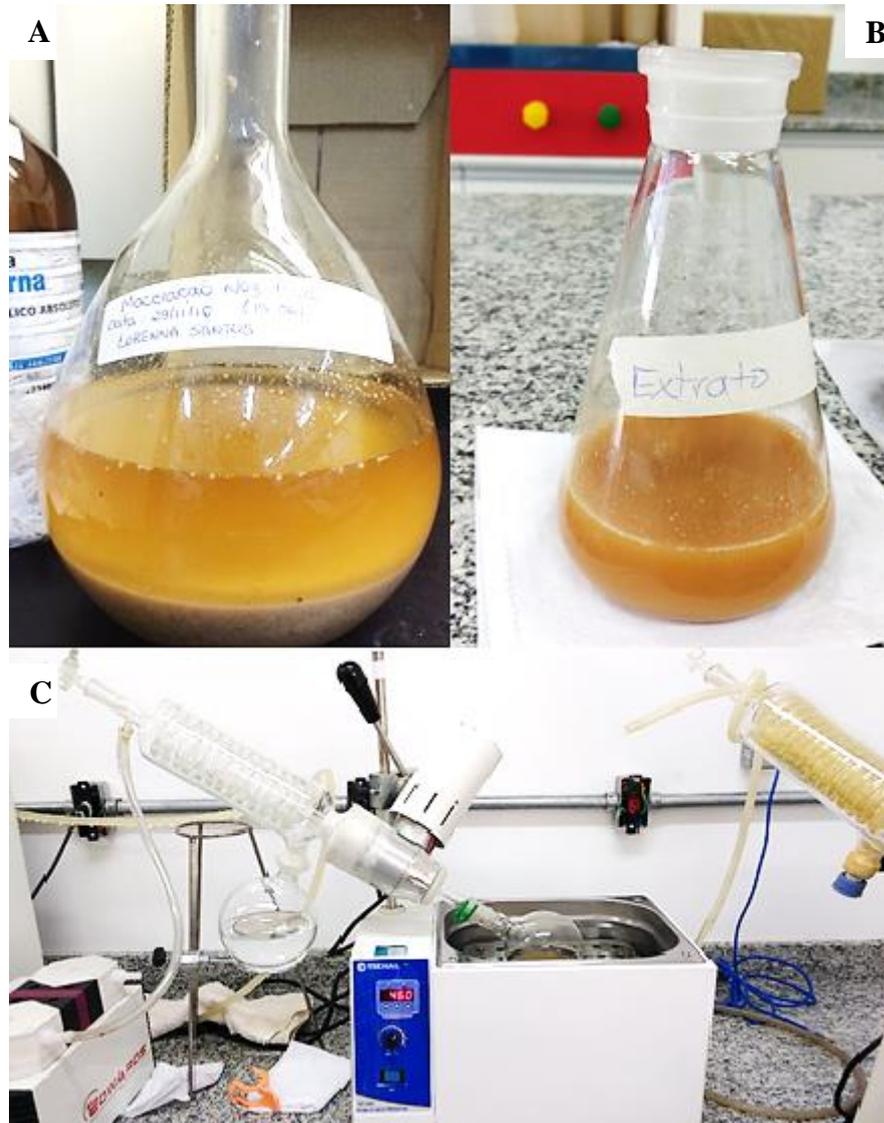
Fonte: Do autor

4.6 OBTENÇÃO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO 70% (v/v) DAS AMÊNDOAS DE *Carya illinoensis* (ENP)

O extrato hidroetanólico foi obtido por meio do processo extrativo de maceração utilizando como líquido extrator o etanol 70% (v/v). Adicionou-se a um balão 200 g da amêndoa moída da noz pecã e 1 litro (L) de álcool etílico 70%. Esse recipiente foi agitado esporadicamente por um período de três dias obtendo ao final um macerado que foi armazenado em vidro âmbar. O mesmo procedimento foi repetido mais duas vezes, com renovação do líquido extrator e ao final dos processos os macerados obtidos foram reunidos em um mesmo recipiente. Esse produto foi concentrado em rota-evaporador (Fisatom[®] 801), à temperatura de 45-50°C para eliminação do etanol e, para a retirada da água residual do extrato, o mesmo foi congelado e submetido ao processo de liofilização (Liotop[®] L101) nas condições ideais de pressão (380 µHg), de temperatura (- 40°C) e de tempo do procedimento (72 horas). A figura 8 ilustra os passos para a obtenção do extrato. O rendimento final do extrato foi calculado por meio da equação (1):

$$\text{Rendimento (\%)} = (\text{massa do extrato/massa do material vegetal}) \times 100.$$

Figura 8 – Obtenção do extrato: (A) Maceração, (B) Extrato, (C) Rota-evaporação.



Fonte: Do autor

4.7 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

4.7.1 Caracterização química por espectrometria de massas (UPLC-ESI-IT- MSⁿ e FIA-ESI-IT- MSⁿ)

A caracterização química dos constituintes do ENP foi realizada no Laboratório de Prospecção de Produtos Naturais da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus Experimental do Litoral Paulista (São Vicente- SP), sob supervisão e colaboração do Prof. Dr. Wagner Vilegas e o Prof. Dr. Marcelo José Dias Silva.

A amostra foi preparada por meio de extração em fase sólida (SPE) com determinado tamanho de cartucho, seguindo a metodologia de Bovanová, Brandšteterová e Baxa (1998), onde 5 mg do extrato hidroetanólico 70% das amêndoas de *Carya illinoensis* (ENP) foi dissolvido em 3 mL de metanol, grau massas. Essa solução foi filtrada em cartucho Sepak RP-18[®] eluído com metanol/água na proporção de 9:1 (v/v) e, posteriormente em um disco de membrana de Nylon (Flow Supply[®]), com as dimensões de 22,25 mm de diâmetro e 0,22 µm de tamanho de poro.

Após o preparo, o ENP foi analisado online por UPLC-ESI-IT-MSⁿ em um espectrômetro de massas LCQ Fleet, Thermo Scientific[®]. A separação por HPLC foi realizada utilizando uma coluna cromatográfica Waters Acquity XBridge TM BEH C₁₈[®] de tamanho de partícula igual a 2,5 µm e dimensões de 2,1 x 100 mm. A fase móvel era constituída de água (A) e metanol (B), acrescida de 0,1% de ácido fórmico, em gradiente, iniciando com 5% a 100% de B em 10 minutos, em um fluxo de 0,4 mL/min. O volume de injeção da amostra foi ajustado para 20 µL e o eluente da coluna foi analisado online, por ESI-MS, nos modos positivo e negativo, porém, devido à instabilidade dos picos gerados no espectro positivo, optou-se por trabalhar somente com o último modo.

Na análise do extrato por injeção direta, a amostra foi injetada de forma direta em fluxo contínuo (FIA), sendo ionizada por electrospray (ESI) e fragmentada em múltiplos estágios (MSⁿ) por meio do Íon-Trap (IT). O modo negativo foi selecionado para gerar os espectros de massa e as condições experimentais determinadas foram: voltagem do capilar -35 V, voltagem do spray -5000 V, temperatura do capilar a 350°C, gás de arraste (N₂) e fluxo 60 (unidades arbitrárias). A faixa de aquisição foi de *m/z* 100-2000, com dois ou mais eventos de varredura realizados simultaneamente no espectro.

4.7.2 Perfil de ácidos graxos

Para avaliar a composição do óleo fixo presente nas amêndoas da NP, extraiu-se a parte lipídica da noz de duas formas: prensagem da oleaginosa com auxílio de uma seringa de

plástico, obtendo-se a amostra ON; e, por meio de maceração, usando como líquido extrator o hexano, conseguiu-se o OEN. Para fins de comparação da noz com o óleo da ração comercial Nuvilab[®], foi executado o processo extrativo da ração de forma idêntica ao do OEN, obtendo-se o OSN. O perfil de ácidos graxos dessas três amostras foi realizado no Laboratório de Cromatografia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) sob a orientação e supervisão da Prof^a. Dr^a. Vany Ferraz.

Para o preparo das amostras, 10 mg de cada exemplar sofreram hidrólise pela dissolução em 100 µL de solução de etanol 95% (v/v) e hidróxido de potássio 1 mol/L (5%) em microondas doméstico (Panasonic NN-ST254W[®]) à potência de 60% (420W), durante 6 minutos. Após o resfriamento do tubo, adicionou-se 400 µL de ácido clorídrico (20%), 20 mg de cloreto de sódio e 600 µL de acetato de etila. Coletou-se uma alíquota de 300 µL da camada orgânica formada em tubos de microcentrífuga, obtendo-se assim os ácidos graxos livres (CHRISTIE, 1989). Esses foram metilados com 100 µL de BF₃ / metanol (14%) em banho maria à 60° C, por 10 minutos. Os AG metilados foram extraídos com 500 µL de hexano e analisados por cromatografia gasosa.

4.7.2.1 Perfil de ácidos graxos - Análise por cromatografia gasosa com detector de ionização por chama (CG-FID)

As análises foram realizadas em um cromatógrafo a gás HP7820A (Agilent[®]) equipado com detector por ionização de chama com o programa de aquisição de dados EZChrom Elite Compact (Agilent[®]). Utilizou-se uma coluna SUPELCOWAX-10 15 metros x 0,2 milímetros x 0,2 micrômetros (SUPELCO[®]) com gradiente de temperatura: 120°C, 0 min, 10°C/min até 240°C; injetor (split de 1/50) a 250°C e detector a 260°C. O Hidrogênio foi usado como gás de arraste (4,0 mL/min) e o volume de injeção determinado de 1 µL. A identificação dos compostos foi feita por comparação com padrões de ácidos graxos metilados Supelco37 Fame mix[®] (Supelco cat no 47885-U) (CHRISTIE, 1989).

4.8 AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DO ENP

A avaliação antimicrobiana foi realizada no Laboratório de Microbiologia da UNIFAL sob a orientação e supervisão da Prof^a. Dr^a. Amanda Latércia Tranches Dias. No perfil de sensibilidade, os valores das concentrações inibitórias mínimas de 50% do crescimento (IC₅₀) e 90% (IC₉₀) foram avaliadas segundo a metodologia de microdiluição em caldo RPMI 1640 suplementado com 2% de glicose para fungos, como determinado no documento E.DEF 7.3.1 (EUCAST, 2017a), e para bactérias, em caldo Mueller Hinton ajustado com cátions conforme documento ISO 20776-1:2006 (CLSI, 2014; EUCAST, 2017b; ISO, 2006).

O ENP foi solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) e avaliado nas concentrações de 1,95 a 1000 µg/mL, utilizando como controles positivos o Fluconazol[®] e Cloranfenicol[®], nas concentrações de 0,125 a 64 µg/mL, respectivamente, e o DMSO como controle negativo. Os orifícios das microplacas (96 poços) foram preenchidos com 80 µL de Caldo Mueller-Hinton e 100 µL das soluções do ENP nas diluições seriadas (1000 a 1,95 µg/mL). Adicionalmente foram distribuídos 20 µL das suspensões dos microrganismos em cada orifício e os controles positivo e negativo. As microplacas foram incubadas em estufa a 37°C, por 24 horas, e todos os testes foram realizados em triplicata.

Os ensaios foram feitos com leveduras e bactérias oportunistas e/ou patogênicas, dos padrões “*American Type Culture Collection*” (ATCC) que estavam disponíveis do laboratório de microbiologia da UNIFAL. As bactérias utilizadas foram: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. E as leveduras: *Candida* spp.: *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida tropicalis* ATCC 750, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030 e *Candida parapsilosis* ATCC 22019. As suspensões microbianas foram preparadas em soro fisiológico com a turvação correspondente a 0,5 da Escala de Mac Farland (aproximadamente 1,0 x 10⁶ UFC/mL para leveduras e 5,0 x 10⁶ UFC/mL para bactérias).

4.9 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A análise centesimal dos constituintes nutricionais da ração contendo a noz pecã foi realizada segundo a metodologia da “Association of Official Analytical Chemists” (AOAC, 2005), no laboratório de Bromatologia da UNIFAL, sob a supervisão da Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Leite Moraes. A análise é composta pela avaliação de umidade, proteínas, lipídeos totais, minerais (cinzas) e os carboidratos totais.

As amostras utilizadas foram as rações de tratamento dos animais nas concentrações de 6 e 10% e a ração comercial Nuvilab[®]. Elas foram trituradas em liquidificador industrial, homogeneizadas em gal de porcelana, tamisadas e somente depois analisadas em triplicata.

4.9.1 Umidade

A análise foi baseada no documento 925.45b, por meio da perda de peso em estufa à 105 °C, até atingir peso constante.

4.9.2 Cinzas

O resíduo mineral foi determinado pela incineração em mufla à 550 °C, até obtenção de peso constante, de acordo com o documento 923.03.

4.9.3 Proteínas

A proteína foi determinada pelo método de Kjeldahl, conforme o documento 960.52, por meio da digestão das amostras, da destilação e posteriormente a titulação do nitrogênio total e sua conversão em proteína pelo fator 6,25.

4.9.4 Lipídeos Totais

A obtenção do extrato etéreo é realizada segundo o documento 920.39 pelo método extrativo de Soxhlet, utilizando como líquido extrator o éter de petróleo que retira os lipídeos da amostra por meio de sua passagem contínua ou intermitente.

4.9.5 Carboidrato total

A fração glicídica foi determinada pela diferença dos valores encontrados para umidade, cinzas, proteínas e lipídeos em 100g das amostras.

4.9.6 Valor energético

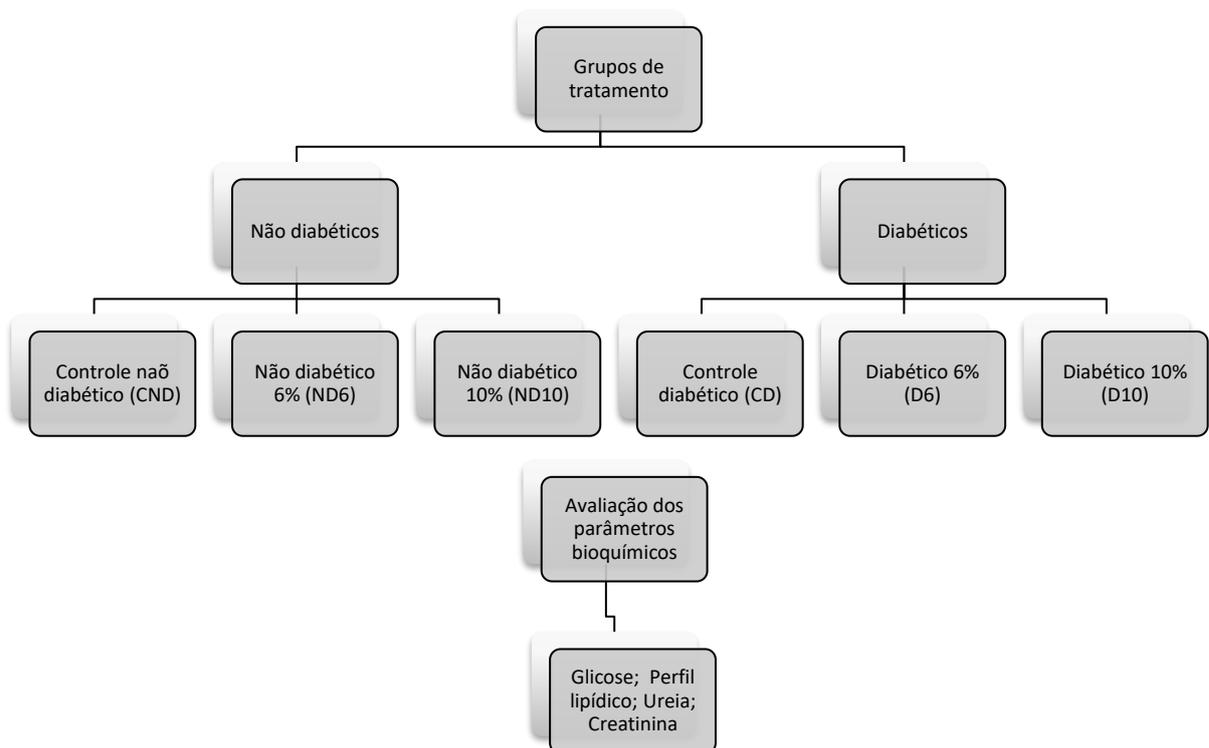
A ingestão calórica foi calculada pela seguinte equação (2):

$$\text{Valor energético} = (\text{proteína} \times 4) + (\text{carboidrato} \times 4) + (\text{lipídeo} \times 9)$$

4.10 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM MODELO ANIMAL

A metodologia utilizada para o experimento em modelo animal foi aprovada pelo Comitê de Ética e encontra-se registrada sob o número 60/2016. A parte experimental foi realizada no Laboratório de Nutrição Experimental (Biotério) sob a supervisão da Prof^a. Dr^a. Hudsara Aparecida de Almeida Paula e, a análise dos parâmetros bioquímicos no Laboratório de Bioquímica Clínica da UNIFAL sob a colaboração e supervisão da Prof^a. Dr^a. Fernanda B. de Araújo Paula. O esquema resumido do método encontra-se abaixo, na figura 9.

Figura 9 – Esquema dos grupos de tratamento e dos parâmetros bioquímicos avaliados no ensaio biológico



Fonte: Do autor

O experimento contou com 36 animais que foram divididos em grupos experimentais, contendo 6 em cada um, distribuídos da seguinte maneira:

- Grupo Não-diabético (CND): ratos não-diabéticos e não-submetidos ao tratamento com a NP, recebendo ração comercial;
- Grupo Controle Diabéticos (CD): ratos que foram induzidos ao diabetes e tratados apenas com ração comercial;
- Grupo Não-diabéticos tratados com ração na concentração de 6% (ND6): ratos não-diabéticos tratados diariamente com a ração contendo essa concentração das amêndoas de NP, durante 30 dias;

- d) Grupo Não-diabéticos tratados com ração na concentração de 10% (ND10): ratos não-diabéticos tratados diariamente com a ração contendo essa concentração das amêndoas de NP, durante 30 dias;
- e) Grupo Diabéticos tratados com ração na concentração de 6% (D6): ratos diabéticos tratados diariamente com a ração contendo essa concentração das amêndoas de NP, durante 30 dias;
- f) Grupo Diabéticos tratados com ração na concentração de 10% (D10): ratos diabéticos tratados diariamente com a ração contendo essa concentração das amêndoas de NP, durante 30 dias.

Utilizou-se ratos machos da linhagem *Wistar*, com peso médio de 300 ± 25 g, obtidos no Biotério da Universidade Federal de Alfnas, que foram mantidos durante todo o experimento no Biotério de Nutrição Experimental em caixas de polietileno, tipo kaefiq, autoclavável, resistente a ácidos, nas medidas de 49 x 34 x 16 cm, sendo 4 animais no máximo em cada uma dessas, mantidos em ciclo claro-escuro normal de 12/12h. Os animais receberam água *ad libitum* e a alimentação foi fornecida diariamente com valores próximos de 25 g por rato, variando a concentração da noz pecã em cada grupo de tratamento, exceto os de controle, que receberam a ração comercial. Ao final de trinta dias os ratos foram sacrificados e os parâmetros bioquímicos determinados. O peso corporal médio dos animais também foi avaliado, porém, semanalmente, durante 30 dias.

4.10.1 Indução do Diabetes *Mellitus*

Para induzir o diabetes foi administrado, por via intraperitoneal, a droga Alozano[®] na dose de 120 mg/kg de peso corporal, dissolvido em salina 0,9% (pH 4,5). Esse agente citotóxico provoca danos nas células β do pâncreas, levando à morte dessas e gerando uma diminuição nos níveis plasmáticos de insulina e, conseqüentemente, aumento da glicose, causando um quadro clínico característico de DM1 (BASTOS, 2016; Da SILVA; NOGUEIRA, 2015).

A patologia foi confirmada pelo teste de glicemia com as tiras reativas, considerando como rato diabético aquele que apresentou glicemia de jejum acima de 250 mg/dL (ABDALLAH et al., 2011). Após a comprovação da glicemia, a ração contendo as amêndoas da NP foi administrada aos animais normais e diabéticos nas concentrações de 6 e 10%.

4.10.2 Obtenção das amostras biológicas

Os animais foram sedados, via intraperitoneal, com os anestésicos Quetamina e Xilazina, dose 100 mg/Kg e 10 mg/Kg, respectivamente (GREEN et al., 1981), e o sangue colhido por punção cardíaca. As amostras sanguíneas foram coletadas em tubos siliconizados, sem aditivo onde, após a coagulação, centrifugou-se à 2500 rpm por 15 minutos, separando-se o soro em dois Eppendorf devidamente identificados e congelados à 4° C. O soro foi utilizado para a avaliação dos parâmetros bioquímicos.

4.10.3 Análise dos parâmetros bioquímicos

O soro obtido de cada amostra foi utilizado para análise de parâmetros bioquímicos. As dosagens da glicemia em jejum, dos triglicerídeos (TAG) e do colesterol total (CT) foram realizadas pelo método enzimático-colorimétrico baseado na reação de Trinder (1969), a de ureia pelo método de Chaney e Marbach (1961) e a de creatinina foi feita pelo método de Jaffé, modificado por Fabiny e Ertinghausen (1971). A concentração sérica do colesterol HDL foi determinada pelo método descrito por Burstein, Scholbick e Morfin (1970) e do não-HDL foi fundamentada na equação (3) proposta por Xavier et al. (2013):

$$n\text{-HDL} = CT - HDL,$$

Sendo CT a concentração de colesterol total e HDL a concentração da lipoproteína de baixa densidade.

As determinações de glicose, ureia, creatinina, colesterol total, HDL e triglicerídeos, foram determinados em aparelho automatizado LabMax Plenno® e todos os experimentos foram feitos em triplicata.

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizada a análise de variância dos valores obtidos nos experimentos anteriores e as médias dos diferentes grupos de tratamento foram comparadas utilizando-se o teste de Turkey, em nível de significância de 5%, no programa BioEstat versão 5.4.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DA ANÁLISE CENTESIMAL DAS RAÇÕES CONTENDO A NOZ PECÃ

A análise centesimal demonstra, de uma forma mais geral, a proporção de nutrientes presentes em 100 g de um determinado alimento. O grupo de substâncias que é apresentado e indicado nesse tipo de análise é composto por: umidade, proteínas, cinzas, lipídeos, fibras e os carboidratos (COSTA, 2011). O objetivo dessa análise foi de comparar o tipo de nutriente presente nas rações inseridas em dietas dos animais tratados no experimento do diabetes, para assim correlacionar os resultados com as funções exercidas pelas substâncias nutricionais.

A tabela 4 apresenta os resultados da composição centesimal das rações contendo a NP nas concentrações de 6% e 10%, e da ração comercial.

Tabela 4 – Composição centesimal (g/100g), em porcentagem, da ração comercial, das rações incorporadas com a noz pecã em duas concentrações diferentes e da noz pecã

Componente (g/100g)	Ração Comercial (%)	Ração Noz Pecã 6% (%)	Ração Noz Pecã 10% (%)	Noz Pecã (%) ****
Umidade	10,81 ± 0,01	_____*	_____*	6,2
Proteínas**	21,11 ± 0,34 ^a	21,12 ± 0,13 ^a	21,26 ± 0,05 ^a	14
Lipídeos	4,50 ± 0,01 ^c	8,31 ± 0,03 ^b	11,45 ± 0,05 ^a	59,4
Cinzas	6,99 ± 0,03 ^a	6,87 ± 0,07 ^a	6,55 ± 0,09 ^b	2,1
Carboidratos totais***	56,58	63,70	60,74	18,4
Ingestão calórica (kcal/100g)	351,26	414,07	431,05	620

Fonte: Do autor

Notas: Os dados representam o valor médio de três repetições ± desvio padrão. Os termos com as mesmas letras dentro da mesma linha indicam que não há diferença significativa entre as variedades em $p < 0,05$.

*Matéria seca **Fator de correção 6,25 ***Obtido pela diferença $100 - (\text{umidade} + \text{proteínas} + \text{lipídeos} + \text{cinzas})$
**** Valores com base na Tabela TACO (2011)

De acordo com os resultados, as proteínas representam uma importante fração tanto da ração comercial (21,11%) quanto das incorporadas com a noz pecã nas concentrações de 6% (21,12%) e 10% (21,26%). Quando se aplica a estatística nos valores, observa-se que eles são iguais, o que pode ser justificado pelo fato da ração comercial por si só apresentar uma elevada quantidade de proteínas (aproximadamente 22%, de acordo com o fabricante) se comparada com a noz sozinha (2,1%). Como a suplementação com a NP substitui uma certa quantidade da ração pelos seus próprios nutrientes (última coluna da tabela), é possível visualizar na tabela 4 que houve um ligeiro aumento das proteínas, porém, não significativo estatisticamente.

O teor de cinzas na NP é de 2,1%, um valor bem pequeno em comparação com a ração comercial, que possui no máximo 9% (de acordo com o fabricante). Na análise centesimal dos minerais da ração comercial foi obtido o valor de 6,99% e, com a retirada de uma parcela dessa para incorporação das concentrações da NP, observa-se que não teve alteração estatisticamente significativa com a ração contendo a NP à 6% (6,87%), porém, na ração com a noz à 10% (6,55%) essa diferença existiu. Isso pode ser explicado pela mínima quantidade de cinzas presentes na NP que não consegue repor a perda da ração comercial diminuindo, portanto, os valores.

A umidade de 10,82% foi determinada para a ração comercial e corrobora com o valor encontrado por Dos Santos (2011), além de estar dentro do limite fornecido pelo fabricante (máximo de 12,5%). Porém, como as rações contendo as duas concentrações da NP se apresentam em matéria seca, a composição centesimal do parâmetro foi realizada apenas para a ração comercial, onde essa sim possui conteúdo úmido.

Os lipídeos na análise centesimal foram os que mais se diferenciaram estatisticamente entre todas as amostras, sendo 4,50% na ração comercial, 8,31% na ração contendo NP na concentração de 6% e 11,45% na ração com a NP de concentração 10%. O teor de extrato etéreo na ração comercial Nuvilab[®], mesmo variando um pouco do valor mínimo fornecido pelo fabricante (5%), devido aos processos de extração utilizados, é aceitável e coerente com o determinado na análise. E, com a incorporação da noz na ração, que também possui uma certa quantidade de lipídeos (59,4%), observa-se um aumento proporcional à medida que a concentração da NP se eleva. Assim, o resultado desse parâmetro da composição centesimal corrobora com o encontrado no perfil químico da cromatografia gasosa, pois esse confirma a

abundância de AGs presentes na NP, confirmando que a oleaginosa possui de fato grande quantidade de lipídeo se comparada com a ração comercial.

A determinação dos carboidratos presentes nas amostras foi estimada pela diferença entre o somatório de todos os outros nutrientes (umidade, proteínas, lipídeos e cinzas), exceto as fibras, obtendo-se os carboidratos totais. Com isso, observa-se que a porcentagem desse composto variou muito pouco entre as rações, sendo a de 6% da NP a que contém a maior quantidade, seguida da ração com a NP na concentração de 10% e, finalmente a comercial. Entretanto, é importante destacar que mesmo esses valores estando superestimados em decorrência da não determinação das fibras, ainda sim, as três amostras são consideradas alimentos de baixo teor de carboidratos (CAZAL, 2010; SBD, 2017/2018). A NP ainda contribui para a redução desse componente pois é considerada um alimento de baixo índice glicêmico, aproximadamente 20 e, portanto, colabora de forma positiva na dieta de diabéticos (FOSTER-POWEL, HOLT; BRAND-MILLER, 2002).

Os valores de ingestão calórica foram bem semelhantes entre as rações contendo a NP, porém, distintos na ração comercial Nuvilab[®], tendo uma diferença de aproximadamente 63 kcal na concentração de 6% da NP e próximo de 80 kcal na ração contendo a NP de 10%. Comparando-se a ingestão calórica com os resultados obtidos na pesagem dos animais, é importante destacar que mesmo a caloria tendo aumentado nas dietas contendo NP, os valores finais no peso dos ratos não tiveram diferenças estatísticas, mostrando que a oleaginosa possui componentes, como as proteínas, fibras, carboidratos e lipídeos, que contribuem para a manutenção do peso, por meio da saciedade, perda de gordura fecal e efeito termogênico, como explicado anteriormente.

5.2 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM MODELO ANIMAL

Os resultados apresentados a seguir referem-se aos valores encontrados no soro dos ratos tratados com as rações comercial e/ou contendo a NP.

5.2.1 Determinação da glicemia de jejum

Na tabela 5, verifica-se a hiperglicemia dos grupos CD (controle diabético), D6 (diabético 6%) e D10 (diabético 10%), se comparados com os ratos que não foram induzidos ao DM (CND, ND6 e ND10), confirmando assim o efeito diabetogênico do aloxano. O tratamento com a ração mais a noz pecã frente às concentrações glicêmicas dos ratos diabéticos mostrou-se satisfatório apenas na concentração de 10% (D10), pois há uma redução da glicose nesse grupo tratado com a oleaginosa, o que não é observado na concentração de 6% (D6). Nos outros grupos de tratamento não se observam diferenças significativas nos níveis de glicose. Entretanto, é importante também destacar que a noz não apresenta efeito hipoglicêmico em ratos saudáveis, mostrando-se benéfica e evitando episódios de fraqueza, perda de consciência e crises convulsivas, que são comuns no uso de alguns antidiabéticos orais (SBD, 2017/2018).

Tabela 5 – Avaliação do perfil glicêmico em ratos *Wistar* tratados com a ração comercial e/ou ração contendo noz pecã

Grupo	Glicemia de jejum (mg/dL)
CND (Controle Não diabético)	178.33 ± 54.46 ^c
ND6 (Não diabéticos 6%)	246.00 ± 42.35 ^c
ND10 (Não diabéticos 10%)	195.50 ± 34.17 ^c
CD (Controle Diabético)	731.50 ± 76.23 ^a
D6 (Diabéticos 6%)	699.50 ± 130.72 ^a
D10 (Diabéticos 10%)	529.50 ± 72.89 ^b

Fonte: Do autor.

Notas: Os resultados foram analisados separadamente e representam a média ± desvio padrão de cada grupo (n = 6). Os termos com as letras diferentes, na mesma coluna, indicam que há diferença estatística entre as variedades em $p < 0,05$.

A administração da NP demonstrou resultados semelhantes aos de outros estudos da literatura, como por exemplo o experimento de Porto et al. (2015), onde o tratamento por 28 dias do extrato aquoso da casca do fruto de *Carya illinoensis* promoveu uma redução da glicemia de jejum em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina. No de Ghiravani et al. (2016), que avaliou o extrato etanólico das amêndoas de *Juglans regia* L, também conhecida como noz persa, inglesa ou comum, pelo mesmo período de tempo, também confirmou a atividade hipoglicêmica da oleaginosa e a atribuiu, principalmente, aos compostos fenólicos

presentes na espécie. Já nos estudos de Ghorbani et al. (2014), as nozes inglesas nas concentrações de 6, 9 e 12% diminuíram a glicose sérica se comparadas com os controles, porém, não foram valores significativos.

O efeito hipoglicêmico da NP pode ser explicado com base na composição dessa oleaginosa, mesmo os mecanismos não sendo totalmente compreendidos. A maioria dos trabalhos publicados (JIANG et al., 2002; RAJARAM; SABATE, 2006) correlacionam os tipos de AGs da NP com a sensibilidade à insulina no DM2, pois a composição lipídica das células pode influenciar a ação do hormônio insulínico através da alteração da ligação ou afinidade do receptor da insulina, promovendo permeabilidade iônica e sinalização celular. Ou seja, modificando-se o tipo de AG na dieta, pode-se alterar a composição dos fosfolípídeos nas membranas celulares, modulando a ação e a homeostase da insulina.

Os MUFAs têm uma relação com o DM1 pois são capazes de melhorar a eficiência das células β por meio do aumento da secreção de glucagon, regulando assim na liberação de glicose pós-prandial e, conseqüentemente na sensibilidade à insulina (RAJARAM; SABATE, 2006). Esses tipos de AGs se relacionam com a via de sinalização da insulina por meio de uma translocação da membrana dos transportadores de glicose no músculo esquelético e também reduzindo a hiperatividade das células β (VIGUILIOUK et al., 2014). Atanasov e colaboradores (2018), acrescentam ainda que o ácido graxo linoleico estimula a secreção de insulina pelas células pancreáticas de ratos contribuindo, portanto, para a redução do DM.

As dietas contendo AGs insaturados são mais benéficas que aquelas com altas concentrações de SAFAs, e essa substituição, principalmente por MUFAs, além de melhorar o perfil lipídico podem favorecer a entrada de glicose na célula, aumentando assim a sensibilidade da insulina (CASAS-AGUSTENCH et al., 2011). Isso demonstra a importância da qualidade dos lipídios em uma dieta, e não apenas a quantidade de gordura total ingerida (VESSBY et al., 2001).

Além dos AGs, outros constituintes da NP também podem auxiliar de alguma forma na redução da glicemia. Rajaram e Sabate (2006) citam que as fibras, os carboidratos e o magnésio reduzem o risco de DM pois diminuem a demanda e a resistência de insulina em pacientes diabéticos. Jiang et al. (2002) ainda citam que as vitaminas, minerais, antioxidantes e proteínas presentes na NP podem desempenhar papéis importantes na redução do risco do DM.

Como as nozes apresentam baixo índice glicêmico (IG), elas podem reduzir a carga glicêmica da dieta, substituindo os carboidratos de alto IG e, conseqüentemente, diminuir a liberação de insulina, favorecendo assim um melhor controle da glicemia. Já o teor de magnésio, acredita-se que esse micronutriente esteja envolvido na captação de glicose mediada

por insulina, pois uma menor concentração intracelular desse íon resulta em atividade defeituosa da tirosina-quinase no receptor de insulina, prejudicando a ação desse hormônio (VIGUILIOUK et al., 2014).

5.2.2 Avaliação da função renal – ureia e creatinina

Dentre as principais complicações do DM está a nefropatia diabética, que acomete aproximadamente 35% dos pacientes portadores do diabetes. A nefropatia é a causa mais comum de doença renal terminal, e é caracterizada por alterações fisiopatológicas que vão desde a hiperfiltração glomerular, hipertrofia renal, proteinúria, progredindo para a redução da taxa de filtração glomerular progressiva. Os fatores de risco preponderantes para o desenvolvimento desse quadro são, além do DM, a hiperglicemia, hipertensão e a predisposição genética (BRAGA et al., 2016; NETO; ROSA; BARBOSA, 2014).

Com isso, a avaliação da função renal é realizada por meio de exames laboratoriais que determinam a taxa de filtração glomerular (TFG) pelos marcadores renais, como a creatinina e ureia. Essa última, o principal metabólito nitrogenado derivado da degradação de proteínas do organismo, é 90% excretada pelos rins e o restante, eliminada pelo trato gastrointestinal e pela pele. Entretanto, a ureia não é considerada um bom marcador pois, além de grande parte dela retornar para o plasma, subestimando a TFG, fatores como a dieta, patologias e medicação, podem alterar os valores plasmáticos da mesma. Já a creatinina, que é um produto residual da creatina dependente da massa muscular, não apresenta variações diárias e, por ser ativamente secretada, o seu clearance é mais sensível que o da ureia, sendo mais usada na avaliação renal (SISENANDO et al., 2011; SODRÉ; COSTA; LIMA, 2007).

De acordo com os dados da tabela 6, verifica-se que os valores de ureia foram estatisticamente diferentes entre os grupos e que se elevaram nos diabéticos. Essa alteração indica que a indução da patologia em si gerou um aumento do marcador renal, como esperado, e que a NP não diminuiu nem aumentou esse parâmetro em nenhum dos grupos de tratamento. Em contraste, os níveis de creatinina não modificaram entre os grupos, nem mesmo no dos diabéticos, podendo-se inferir que o curto tempo de tratamento não foi capaz de provocar modificações no sistema renal dos roedores diabéticos, necessitando de um período mais longo para a verificação disso. Também é possível concluir que a NP não foi capaz de alterar, positiva

ou negativamente, os marcadores da avaliação renal em nenhum dos grupos, mostrando-se neutra e passível de uso seguro, porém, em um tempo de tratamento de 30 dias.

Tabela 6 – Avaliação da função renal em ratos *Wistar* tratados com a ração comercial e/ou ração contendo noz pecã

Grupo	Ureia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)
CND (Controle Não diabético)	39.33 ± 7.15 ^b	0.72 ± 0.18 ^a
ND6 (Não diabéticos 6%)	39.67 ± 6.65 ^b	0.92 ± 0.11 ^a
ND10 (Não diabéticos 10%)	32.00 ± 6.42 ^b	0.69 ± 0.10 ^a
CD (Controle Diabético)	124.83 ± 26.35 ^a	0.94 ± 0.18 ^a
D6 (Diabéticos 6%)	145.50 ± 46.89 ^a	0.86 ± 0.21 ^a
D10 (Diabéticos 10%)	174.00 ± 48.40 ^a	0.80 ± 0.29 ^a

Fonte: Do autor

Notas: Os resultados foram analisados separadamente e representam a média ± desvio padrão de cada grupo (n = 6). Os termos com as letras diferentes, na mesma coluna, indicam que há diferença estatística entre as variedades em $p < 0,05$.

Esses resultados de ureia elevada e níveis normais de creatinina estão de acordo com os encontrados na literatura, como em um trabalho que avaliou o extrato aquoso da casca do fruto de *Carya illinoensis*. Nesse, além das alterações observadas nos marcadores renais, o extrato ainda apresentou efeito protetor na função renal de ratos diabéticos tratados (PORTO et al., 2015).

5.2.3 Avaliação do perfil lipídico – CT, HDL, n-HDL e TAGs

O perfil lipídico, composto pelo CT, HDL, n-HDL e TAGs, é um parâmetro de grande importância na patologia do DM pois é, geralmente, alterado devido à alta concentração de glicose na corrente sanguínea que, ao invés de entrar na célula e ser convertida em ATP pelo

ciclo de Krebs, é metabolizada em AG. Os resultados do perfil lipídico dos ratos tratados com as rações estão detalhados na tabela 7.

Tabela 7 – Avaliação do perfil lipídico em ratos *Wistar* tratados com a ração comercial e/ou ração contendo noz pecã em duas concentrações

Grupo	CT (mg/dL)	HDL (mg/dL)	n-HDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)
CND (Controle Não diabético)	62.33 ± 17.74 ^a	41.33 ± 13.34 ^a	21.00 ± 5.06 ^a	52.00 ± 23.13 ^a
ND6 (Não diabéticos 6%)	97.83 ± 12.43 ^b	65.00 ± 9.57 ^b	32.83 ± 3.82 ^a	47.67 ± 4.93 ^a
ND10 (Não diabéticos 10%)	72.83 ± 23.05 ^a	48.83 ± 15.70 ^a	24.00 ± 8.22 ^a	40.00 ± 16.43 ^a
CD (Controle Diabético)	88.67 ± 14.11 ^b	66.17 ± 13.88 ^b	22.5 ± 3.39 ^b	93.17 ± 22.96 ^b
D6 (Diabéticos 6%)	124.17 ± 27.48 ^c	81.50 ± 14.52 ^b	38.67 ± 16.59 ^b	279.33 ± 170.24 ^c
D10 (Diabéticos 10%)	111.33 ± 10.91 ^b	81.17 ± 9.15 ^b	30.17 ± 9.89 ^b	145.17 ± 54.78 ^b

Fonte: Do autor

Notas: Os resultados foram analisados separadamente e representam a média ± desvio padrão de cada grupo (n = 6). Os termos com as letras diferentes, na mesma coluna, indicam que há diferença estatística entre as variedades em $p < 0,05$.

A patologia do diabetes apresenta uma consequente ausência ou diminuição de insulina, DM1 e DM2 respectivamente, que leva a um aumento da atividade da lipase adipocitária. Essa, promove elevação da lipólise, que sobrecarrega o fígado de AGs livres que, juntamente com uma alta concentração de glicose plasmática, fornecem o substrato necessário para a formação de VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade). Como isso, a lipase proteica (LPL) tem sua atividade reduzida, gerando um acúmulo de partículas VLDL ricas em triglicerídeos, resultando em uma hipertrigliceridemia associada à redução de HDL (AMARAL, 2015).

Como a constituição do colesterol é lipofílica e ele necessita circular na corrente sanguínea sem sofrer ação do plasma, ele conta com o auxílio de lipoproteínas que farão o seu

transporte no sistema vascular. As LDLs são responsáveis pelo transporte do colesterol hepático para os tecidos periféricos, e as HLDs, removem o excesso de colesterol dos tecidos por meio do transporte reverso do colesterol, que leva esse para o fígado (VAZ, 2010). Os valores para CT foram estatisticamente iguais no CND e no ND10, porém, diferentes no ND6. Essa mesma interpretação pode ser feita com os grupos dos diabéticos, em que CD e D10 são matematicamente iguais e o D6 distinto. O aumento desse parâmetro do perfil lipídico visto nos grupos diabéticos, corrobora com a literatura pois confirma que doenças metabólicas, como o DM, contribuem para o aumento das taxas do CT, LDL e TAG (MCLELLAN et al., 2007).

A análise de HDL nos grupos não diabéticos também é similar ao CT, mostrando que o ND6 é estatisticamente diferente e maior se comparado com ao CND e N10, porém, matematicamente igual aos grupos de tratamento dos diabéticos. Como o CT teve variação na concentração de 6% da NP, isso refletiu nos valores de HDL do mesmo. Também é importante discutir a elevação do HDL nos grupos diabéticos em comparação com os não diabéticos, pois o aumento do colesterol bom não é, necessariamente, benéfico, afinal, existem duas frações do HLD, um funcional e o outro não. Como os ratos apresentam um metabolismo de lipoproteínas diferente dos humanos, exibindo um baixo nível de LDL no plasma e um HDL monodisperso, a determinação do parâmetro LDL em roedores não é baseada na fórmula de Friedewald Levy e Fredrickson (1972) pela subtração do CT, HDL e TAGs dividido por 5, mas sim pelo colesterol não-HDL (lipoproteína de não alta densidade) (SILVA et al., 2009).

De acordo com Seki, Matsuo e Seki (2007), o parâmetro n-HDL inclui todo o colesterol presente nas partículas de lipoproteínas consideradas potencialmente aterogênicas, como o LDL, VLDL, IDL (lipoproteína de densidade intermediária) e lipoproteína-A, excluindo o HDL por ser anti-aterogênico. O n-HDL teve variação apenas no D6, sendo os outros grupos de tratamento estatisticamente iguais. Essa alteração provavelmente ocorreu devido ao aumento do CT, que indiretamente também eleva os outros parâmetros do perfil lipídico.

Em relação aos TAGs, os grupos não diabéticos (CND, ND6 e ND10) são iguais, de acordo com a estatística, mas ao se comparar os diabéticos, observa-se que CD e D10 são equivalentes, mas o D6 é discrepante, muito mais alto. Por mais que os valores de TAGs aumentem na patologia do DM, como já explicado acima, os encontrados no experimento estão muito além do permitido, e no caso da concentração de 6%, o desvio padrão está grande, levando a questionamentos no parâmetro TAG.

Esses resultados e observações salientam que a NP, na concentração de 6%, seria considerada prejudicial à saúde, pois além de aumentar o CT, também eleva o TAG, e a de 10%, benéfica na diminuição da hiperglicemia, porém, isenta no perfil lipídico. Entretanto,

esses resultados não estão de acordo com os relatados na literatura, como por exemplo no trabalho de Ghiravani et al. (2016), que menciona que o extrato etanólico das amêndoas de noz pecã apresentou redução significativa nos valores de CT, LDL e TAGs. Nos estudos de Porto et al. (2013), apesar do extrato aquoso das cascas de *C. illinoensis* não ter melhorado o CT e o TAG, ele também não contribuiu para seu aumento incoerente.

Uma das justificativas de não se ter observado o efeito hipolipidêmico da NP, segundo Riccardi, Giacco e Rivellesse (2004), está no tempo de tratamento, pois como a influência dos lipídeos no metabolismo das lipoproteínas é mediada por múltiplos mecanismos, nem sempre é possível observar alterações no perfil lipídico e na glicose em paralelo. Outra provável explicação está na variabilidade dos ratos utilizados, visto que, os animais disponíveis no biotério central não apresentam condições de saúde 100% confiáveis, provocando assim alterações que afetam diretamente nos resultados do experimento, inviabilizando a reprodutibilidade desse último.

5.3 AVALIAÇÃO DA PESAGEM DOS ANIMAIS

Os animais tratados por 30 dias com as rações, sejam elas com ou sem a NP, foram avaliados com relação ao peso corporal segundo a influência da dieta. O resultado de cada grupo está descrito na tabela 8.

Tabela 8 – Alteração de peso dos animais considerando os valores iniciais e finais do experimento

Grupos	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Alteração de peso (g)
CND	279,33	348,50	51,17 ± 42,82 ^a
ND6	310,00	369,67	59,67 ± 25,79 ^a
ND10	311,33	347,00	35,67 ± 23,45 ^a
CD	224,00	200,33	-23,67 ± 43,44 ^b
D6	250,17	236,67	-13,50 ± 23,40 ^b
D10	231,33	204,50	-26,83 ± 17,04 ^b

Fonte: Do autor

Notas: Os resultados foram analisados separadamente e representam a média ± desvio padrão de cada grupo (n = 6). Os termos com as letras diferentes, na mesma coluna, indicam que há diferença estatística entre as variedades em $p < 0,05$.

É possível observar que todos os grupos não diabéticos (CND, ND6 e ND10) tiveram um aumento do peso comparando-se com a primeira semana de tratamento e a última, porém, não houve diferença estatística entre eles, mostrando que mesmo as dietas ND6 e ND10 apresentando uma ingestão calórica maior que o controle CND, a NP não causou elevação no peso corporal dos ratos. Nos grupos diabéticos (CD, D6 e D10), como esperado, o peso dos animais diminuiu em relação ao início do experimento devido à patologia do DM1 que causa esse efeito naturalmente. Entretanto, quando se compara os três tratamentos diabéticos, observa-se também que a NP não alterou o peso dos ratos, mostrando-se estatisticamente igual ao controle.

As possíveis explicações para esses resultados em relação a NP, segundo Casas-Agustench et al. (2011) está no efeito termogênico, no aumento da saciedade e nas perdas de gordura nas fezes dessa oleaginoso. O primeiro efeito deve-se aos compostos graxos insaturados da NP que aumentam a oxidação de gordura devido a termogênese induzida pela dieta, aumentando assim o gasto energético em repouso e, resultando em menor acúmulo de gordura corporal. A saciedade da noz pode ser explicada pela quantidade elevada de proteínas, como já mostrado nos resultados da composição centesimal, e também pela alta concentração de fibras que consegue retardar o esvaziamento gástrico e a absorção subsequente, suprimindo a fome por período mais longos. Por último, o aumento das perdas de gordura pelas fezes, que foi observada durante os experimentos dos animais com a lubrificação dos dejetos, também contribui para a manutenção ou perda de peso dos ratos, possivelmente por uma diminuição da absorção dos lipídeos, favorecendo assim a eliminação desses e também o não armazenamento corporal (BES-RASTROLLO et al., 2009; RAJARAM; SABATE, 2006).

Diferentemente desse resultado encontrado, Ghorbani et al. (2014) verificaram uma diferença significativa na alteração de peso dos animais tratados com a noz inglesa (*Juglans regia* L) nas concentrações de 6, 9 e 12% em ratos diabéticos se comparados com os não diabéticos e diabético controle. Porém, a perda de peso em animais diabéticos é também verificada no estudo dos autores.

Assim, é possível concluir que a NP mesmo contendo uma grande quantidade de AGs e possuindo valores calóricos mais elevados, ela pode ser adicionada em dietas habituais de indivíduos, sem causar ganho de peso.

5.4 DETERMINAÇÃO DA PERDA POR SECAGEM DAS RAÇÕES CONTENDO A NOZ PECÃ

As amostras nas concentrações de 6% e 10% foram pesadas diariamente até obtenção de peso constante e os resultados estão expressos na tabela 9.

Tabela 9 – Perda por secagem das rações contendo a noz pecã

	Peso inicial	Peso final	Perda de umidade
	(g)	(g)	(g)
Ração NP [6%]	24,38	12,57	11,81
Ração NP [10%]	23,22	11,66	11,56
Ração comercial	—	—	10,81
Noz Pecã	—	—	6,2 *

Fonte: Do autor

Notas: Os dados das rações representam o valor médio das três pesagens consecutivas. Ração NP [6%] – ração contendo a noz pecã na concentração de 6%; ração NP [10%] – ração contendo a noz pecã na concentração de 10%; * valor obtido de acordo com a Tabela TACO (2011).

A partir dos resultados da perda por secagem é possível concluir que as rações contendo a NP apresentaram valores muito semelhantes de perda da umidade, sendo 11,81 g na ração de concentração de 6% e 11,56 g na ração à 10%. Essa redução de água está diretamente relacionada com a constituição lipofílica e a taxa de umidade da oleaginosa (6,2 g), além da umidade encontrada na ração comercial (10,81 g). Com isso, é possível determinar que a ração contendo a NP na concentração mais alta, além de possuir menos ração comercial em sua composição, ela contém mais noz e, conseqüentemente, apresenta uma porcentagem de umidade menor. A importância dessa determinação de perda por secagem está correlacionada com a estabilidade microbiológica das rações, pois a presença de água no material favorece o crescimento de bactérias e fungos (BASTOS, 2016).

5.5 ANÁLISE DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA DAS AMOSTRAS ON, OEN e OSN

Os resultados da cromatografia em fase gasosa dos ácidos graxos presentes na fração lipídica obtida da NP e na ração comercial estão apresentados na tabela 10 e na figura 10, abaixo:

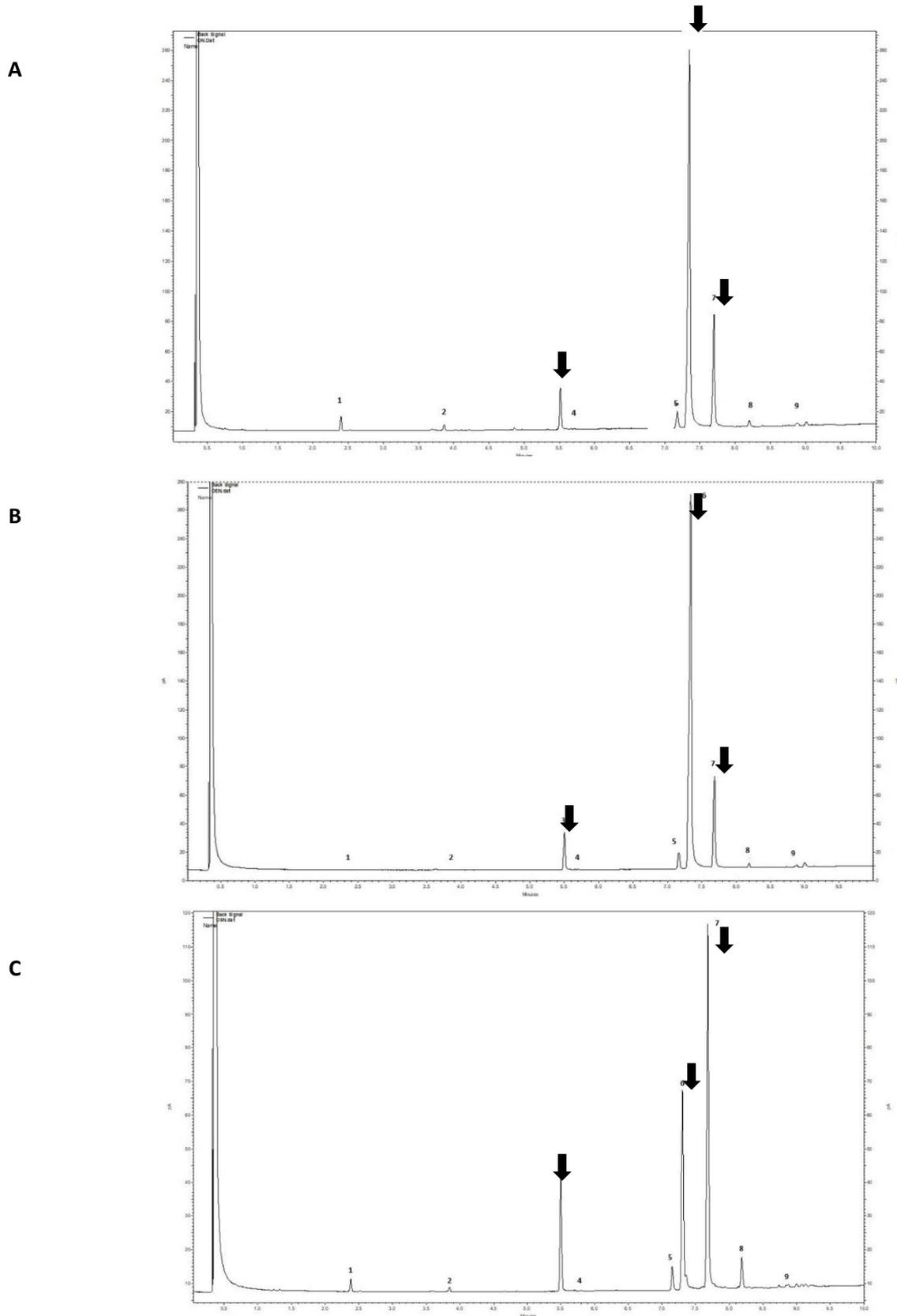
Tabela 10 – Perfil de ácidos graxos, em porcentagem, do óleo da noz pecã (ON e OEN) e da ração comercial (OSN)

Pico	Ácido Graxo	RT	ON	OEN	OSN
1	C12:0	2.40	1.50	0.10	1.10
2	C14:0	3.86	0.70	0.10	0.50
3	C16:0	5.52	5.60	5.20	13.30
4	C16:1	5.71	0.20	0.20	0.40
5	C18:0	7.18	2.70	2.80	3.00
6	C18:1	7.35	67.90	73.50	27.30
7	C18:2	7.70	17.70	15.00	47.60
8	C18:3	8.20	1.10	1.00	4.20
9	C20:0	8.88	0.60	0.40	0.60
10	Outros		1.90	1.80	1.90

Fonte: Do autor

Legenda: RT – tempo de retenção; ON – óleo da noz pecã obtido por prensagem; OEN – óleo da extração hexânica da noz pecã; OSN – óleo da extração hexânica da ração comercial sem noz pecã.

Figura 10 – Cromatogramas: (A) do óleo obtido por prensagem da noz pecã (ON); (B) do óleo obtido por extração hexânica da noz pecã (OEN); (C) do óleo obtido por extração com hexano da ração comercial sem a noz pecã (OSN)



Legenda: 1 - AG Láurico; 2 - AG Mirístico; 3 - AG Palmítico; 4 - AG Palmitolêico; 5 - AG Esteárico; 6 - AG Oleico; 7 - AG Linoleico; 8 - AG Linolênico; 9 - Araquídico.

A análise dos cromatogramas obtidos por cromatografia em fase gasosa foi utilizada para identificar os ácidos graxos. Na tabela 10 e na figura 10 é possível observar que os AGs principais, identificados na NP, foram o oleico (6), seguido do linoleico (7), do palmítico (3) e o esteárico (5). Já na ração comercial, os AGs presentes em maiores concentrações são o linoleico (7), seguido do oleico (6), do palmítico (3) e do linolênico (8). Os lipídeos presentes em *Carya illinoensis* e na ração comercial foram determinados com o objetivo de se conhecer a composição lipofílica desses materiais e de se estabelecer uma correlação dos AGs inseridos na dieta dos animais experimentais com os resultados da atividade biológica e da composição centesimal. A principal diferença entre os AGs da NP e da ração Nuvilab[®] está, principalmente, na concentração de ácidos graxos insaturados, como o oleico e o linoleico, e saturados, como o palmítico. Como os resultados entre o ON e OEN são muito semelhantes, variando apenas nas pequenas quantidades de cada AG, pode-se inferir que o processo extrativo e o líquido extrator utilizados não influenciam significativamente na quantidade extraída dos compostos lipossolúveis do material vegetal.

A análise do perfil dos AGs do óleo da NP demonstrou a presença tanto de MUFAs quanto de PUFAs, sendo o primeiro representado pelo composto majoritário da noz pecã, o AG oleico, e o segundo, pelo AG linoleico. Pelos resultados, os AGs da noz em maior quantidade estão de acordo com a literatura, pois o MUFA se encontra na faixa entre 60,1% a 73,9% e o PUFA de 17,3% a 25% (FIRESTONE, 1999; ORO et al., 2008; SALVADOR et al., 2016; VILLARREAL-LOZOYA; LOMBARDINI; CISNEROS-ZEVALLOS, 2007). De acordo com esses AGs insaturados atuam diminuindo os níveis séricos de LDL e TAG, aumentando os de HDL, diminuição de glicose em jejum de DM, além de influenciar nos efeitos anti-inflamatórios, antitrombóticos, antiarrítmicos e anti-aterogênicos (LINS, 2014). A concentração de AG palmítico, esteárico e das gorduras saturadas também estão de acordo com Scapinello et al. (2017), com valores em média de 6%, 2% e de 6-17%, respectivamente. Entretanto, esses dados variam um pouco dependendo das condições de cultivo da espécie. A quantidade do AG majoritário encontrado no ON e OEN é bastante elevada quando comparada com outros óleos, como por exemplos: no óleo de girassol (21,3%), no de soja (21,1%), no óleo de semente de algodão (33,1%), no de milho (25,8%) e de gergelim (45,4%) (RENGEL et al., 2015).

De acordo com Costa e Jorge (2015), o predomínio de ácido palmítico e esteárico sob os outros SAFAs na NP se deve por esses dois serem os mais abundantes lipídeos presentes em vegetais, principalmente o ácido palmítico. Já a associação entre as concentrações dos AGs insaturados (oleico, linoleico e linolênico) na NP está relacionada com a via biossintética dos

AGs em células vegetais. A produção dos lipídeos acontece tanto no retículo endoplasmático quanto nos plastídios, e inicia-se por meio da síntese do ácido palmítico (16:0), que é então alongado à ácido esteárico (18:0). Esse AG com 18 carbonos é essencial para a síntese de lipídeos insaturados e, através da dessaturase, enzima presente em plantas que realiza uma insaturação entre os carbonos 9 e 10 da cadeia, converte o ácido saturado no ácido oleico (18:1). Outras dessaturações podem ocorrer e levar à produção dos AGs linoleico (18:2) e linolênico (18:3), e a medida que são produzidos é reduzida a concentração do oleico (MOREIRA; CURI; MANCINI FILHO, 2002; TORO-VAZQUEZ; CHARÓ-ALONSO; PÉREZ-BRICEÑO, 1999). Por esse motivo, observa-se que há uma menor quantidade dos ácidos poli-insaturados em comparação com a concentração do ácido oleico, que é elevada na fração lipídica obtida da NP.

As nozes são consideradas uma ótima fonte de energia e o seu conteúdo de AGs, principalmente do tipo poli-insaturados, pode ser benéfico para a saúde pois apresenta efeitos protetores contra o DM, dislipidemia e doenças cardiovasculares (FLORES-CÓRDOVA et al., 2016). Essas últimas podem ser influenciadas por uma dieta balanceada de AG linoleico, que devido a sua conversão em ácido araquidônico induz a uma produção endógena de eicosanoides. Na dislipidemia, os AGs insaturados conseguem regular a homeostase do colesterol por reduzirem as frações de LDL e VLDL, que são as responsáveis pelo aumento do CT (FERNANDES, 2011). Segundo Atanasov et al. (2018), os AGs oleico e linoleico interferem no DM através dos mecanismos de ativação de receptores ativados por proliferadores de peroxissomas (PPARs) e também o de inibidores da proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1B). Essas duas atividades, tanto em PPARs e PTP1B, estão relacionadas com a estimulação da secreção de insulina em células pancreáticas, sendo a primeira, um grupo de fatores de transcrição que regulam o catabolismo de AGs e a segunda, PTP1B, uma das principais reguladoras na via da sinalização da insulina.

5.6 RENDIMENTO DO ENP

Partindo-se de 200 g de material vegetal e chegando-se a 12,45 g de extrato seco, o rendimento calculado foi de 6,23%. Esse resultado se deve pelo fato da maioria dos compostos polares, que foram extraídos com o líquido extrator etanol 70% (v/v), estarem em menor concentração no extrato e, de somente uma parcela da totalidade dos constituintes lipofílicos na

oleaginosa serem obtidos. Portanto, isso corrobora com o baixo rendimento resultante do processo extrativo.

5.7 AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DO ENP

Na análise da atividade antimicrobiana do ENP foram determinadas as concentrações inibitórias de 50% do crescimento (MIC₅₀) e 90% (MIC₉₀) do ENP frente a algumas leveduras do gênero *Candida* sp, bem como de bactérias Gram Positiva (*Staphylococcus aureus*) e Gram Negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*).

O extrato de *C. illinoensis* apresentou atividade antimicrobiana sobre quase todos os micro-organismos, exceto para *E. coli*, em concentrações que variaram entre 1,95 a 1000 µg/mL, e os resultados encontram-se detalhados na tabela 11.

Tabela 11 – Avaliação do perfil de sensibilidade do extrato da noz pecã

Microrganismo	Extrato hidroetanólico 70% (µg/mL)		Fluconazol (µg/mL)		Cloranfenicol (µg/mL)	
	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	-	500	-	0,5	-	-
<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	-	1000	-	1	-	-
<i>C. krusei</i> ATCC 6258	125	31,25	-	32	-	-
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	-	7,81	-	16	-	-
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	-	250	-	1	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	4	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	500	-	-	64	32
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	1000	-	-	4	2

Fonte: Do autor

Legenda: IC₅₀ - inibição de 50% do crescimento; IC₉₀ - inibição de 90% do crescimento; - ausência de atividade nas concentrações analisadas.

Os extratos quando são testados para avaliar a atividade antimicrobiana seguem uma divisão, onde aqueles que possuem MIC₅₀ maior que 1000 µg/mL, são classificados como inativos; aqueles com MIC₅₀ entre 500-1000 µg/mL, como pouco ativos; os com MIC₅₀ de 100-500 µg/mL, como moderadamente ativos; e aqueles com MIC₅₀ menor que 100 µg/mL, recebem a classificação como muito ativos (CHAVASCO et al., 2014; TANAKA et al., 2005; HOLETZ et al., 2002; SIMONETTI, 2015). Levando-se em conta essa informação, o ENP pode ser categorizado como pouco ativo para *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *C. albicans* e *C. tropicalis*, moderadamente ativo para *C. parapsilosis* e para *C. krusei* e *C. glabrata* é considerado muito ativo. De acordo com a tabela 6, o ENP apresentou valores de MIC₅₀ entre 7,81 a 1000 µg/mL, sendo considerado mais ativo para *C. glabrata* e *C. krusei*, com valores iguais a 7,81 e 31,25 µg/mL, respectivamente.

A atividade antimicrobiana ENP revelou um significativo potencial antifúngico com resultados altamente satisfatórios para *Candida glabrata* e *Candida krusei*, porém, ele não foi tão efetivo para bactérias se comparado os valores com o controle positivo (cloranfenicol) e com os encontrados por Prado (2013). Esse autor avaliou alguns extratos polares (aquoso e etanólico) da casca de *Carya illinoensis*, obtidos por diferentes técnicas, e confirmou a atividade antimicrobiana para *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Bacillus cereus*, atribuindo os metabólitos secundários como responsáveis.

A espécie *Candida glabrata* é uma levedura saprofítica, sendo considerada a terceira mais comum em infecções nos Estados Unidos (EUA) que acometem crianças e, o mais prevalente, em pacientes idosos e oncológicos. De acordo com Bastos (2016), essa levedura e também a *C. parapsilosis* são um grande risco para infecções hospitalares, pois podem formar biofilmes em cateteres, agulhas e outros materiais, levando a uma resistência na terapêutica. Já a *Candida krusei*, é encontrada em doentes transplantados, neutropênicos ou com neoplasias hematológicas e são responsáveis pela maior porcentagem de infecções nosocomiais. Essas espécies do gênero *Candida* são resistentes a vários antibióticos (CAMPOS, 2017; CASTRO, 2017).

A atividade antimicrobiana, segundo Mazzutti (2012) e Huang (2011), é devido à elevada quantidade de AGs presentes no ENP, principalmente do tipo oleico e linoleico. Os óleos possuem como mecanismo de ação o rompimento das células dos micro-organismos devido à lise de suas membranas. A ação antifúngica dos ácidos graxos provoca uma elevação do fluxo de substâncias nas membranas das células dos fungos, alterando a estrutura das proteínas ou a atividade de alguma enzima, consequentemente, levando à morte do micro-

organismo. Nascimento et al. (2014) ainda relatam que as células fúngicas mais susceptíveis à ação dos AGs apresentam uma menor quantidade de esterol em suas membranas.

É importante levar em consideração que o ENP apresenta uma pequena quantidade de AGs, devido a polaridade do líquido extrator usado, se comparado com os trabalhos publicados na literatura que utilizam o óleo bruto da NP. Conseqüentemente, a atividade antimicrobiana reduzida ou inexistente nesse estudo do ENP também poderia ser justificada por essa baixa concentração de compostos graxos.

Em contraste, o ENP frente às bactérias não foi tão efetivo, apresentando inatividade para *E. coli* e pouca atividade para *P. aeruginosa* e *S. aureus*, com valores de MIC₅₀ de 500 µg/mL e 1000 µg/mL, respectivamente. Considerando que a bactéria Gram Negativa *P. aeruginosa* possui em sua composição uma bicamada lipídica mais externa constituída de lipopolissacarídeos (LPS), os componentes graxos do ENP tiveram um maior poder de penetração sobre a membrana celular dessa bactéria, atuando de forma mais ativa se comparada com a estrutura do *S. aureus* (BASTOS, 2016). Porém, mesmo que a bactéria *E. coli* tenha composição semelhante a *P. aeruginosa*, o ENP não foi efetivo, fato esse que pode ser justificado pela sua cepa patogênica com maior resistência, dificultando a ação de *C. illinoensis*. De acordo com Catão et al. (2014), as cepas de *E. coli* que causam infecções do trato urinário, meningite neonatal, enterites e septicemia nosocomial tem sido bem corriqueiras, e o tratamento dessas patologias é dificultado devido à resistência da espécie aos antimicrobianos.

Ademais, sabe-se que, a *P. aeruginosa* é um patógeno muito importante para a saúde pública e animal, e que nos últimos anos vem causando preocupação em relação a sua crescente resistência aos antimicrobianos (CARVALHO et al., 2014). O *S. aureus*, também recebe uma atenção especial, visto que, é uma espécie extremamente patogênica podendo causar desde intoxicação alimentar até infecções hospitalares, com grande possibilidade de levar a óbito. Além disso, essa espécie também tem um amplo espectro de resistência a antimicrobianos (BRAGA; SILVA, 2007; SUBRAMANI, NARAYANASAMY; FEUSSNER, 2017).

Analogamente, os compostos fenólicos também presentes na espécie contribuem com a atividade antimicrobiana. Dentre os diversos grupos que compõe essa classe, destaca-se os taninos, que de acordo com Bottari et al. (2017), atuam em alguns elementos necessários para a sobrevivência dos micro-organismos, uma vez que eles apresentam características de precipitação de proteínas do meio, e de quelação com metais, como o ferro.

A partir dos resultados e da preocupação atual com as infecções fúngicas que acometem milhares de pessoas, pode-se inferir que o ENP seja um candidato, futuro, ao tratamento de

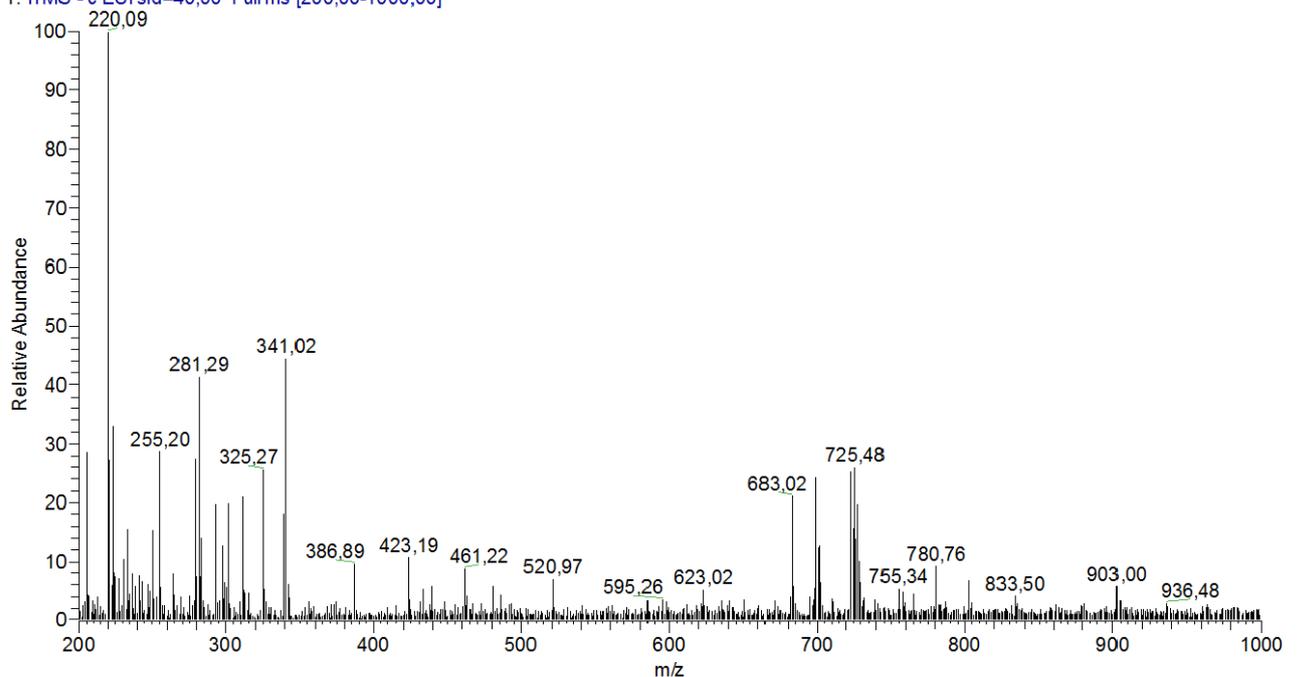
fungos, principalmente de *C. glabrata*, entretanto, é necessário que o mesmo seja melhor investigado. Além disso, como nas plantas existem diversos compostos, o efeito antimicrobiano não pode ser atribuído somente aos ácidos graxos presentes na espécie, mas, possivelmente, ao sinergismo deles com os metabólitos secundários. Porém, para a comprovação é necessário testes mais específicos.

5.8 ANÁLISE DOS COMPOSTOS PRESENTES DO ENP POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Na análise por UPLC-ESI-IT-MSⁿ do ENP obteve-se o espectro de massas *full scan* nos modos negativo (Figura 11) e positivo (Figura 12) e também do screening do branco, o metanol (figura 13).

Figura 11 - Espectro de massas, *full scan*, modo negativo do extrato hidroetanólico 70% (v/v) das amêndoas de *C. illinoensis*

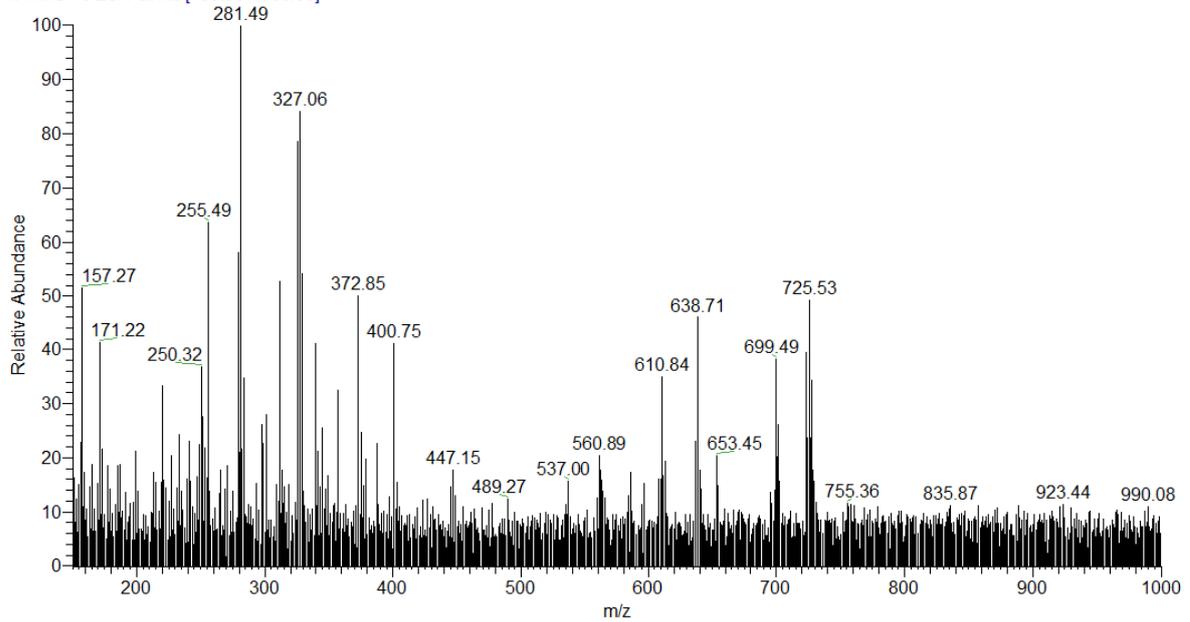
NO3_Peca_ID #1 RT: 0,00 AV: 1 NL: 3,88E3
T: ITMS - c ESI sid=40,00 Full ms [200,00-1000,00]



Fonte: Do autor

Figura 12 - Espectro de massas, *full scan*, modo positivo do extrato hidroetanólico 70% (v/v) das amêndoas de *C. illinoensis*

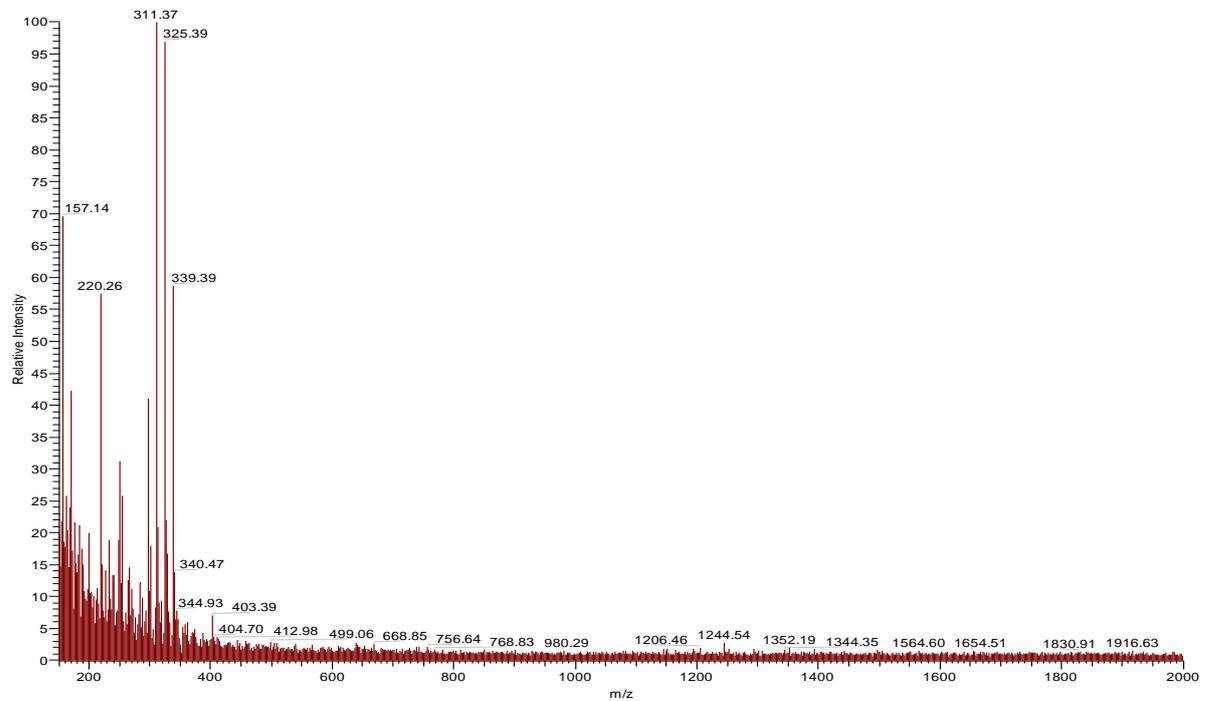
ENP2_pos_180307133113 #1 RT: 0.00 AV: 1 NL: 6.46E3
T: ITMS - c ESI Full ms [150.00-1000.00]



Fonte: Do autor

Figura 13 - Espectro de massas, *full scan*, do branco (metanol)

#17369 AV: 10 IT: 47.516 ST: 0.23 uS: 1 NL: 1.02E4
F: ITMS - c ESI Full ms [150.00-2000.00]



Fonte: Do autor

A análise química foi realizada em modo negativo, devido à maior estabilidade dos compostos, sugerindo que grande parte dos metabólitos secundários determinados no ENP possui grupos ácidos, provavelmente decorrentes de compostos fenólicos da espécie (DIERKES et al., 2012; MAGUIRE et al., 2004; MOKOCHINSKI, 2015).

Os compostos não foram identificados por eles não apresentarem as fragmentações características dos metabólitos secundários relatados na literatura para a espécie *C. illinoensis*, como descrito na parte de referencial teórico da NP. As fragmentações observadas são bastante semelhantes, em que se observa a perda de massas com valores de $m/z = 180$, $m/z = 182$, $m/z = 262$, geralmente com pico base $m/z = 279$ ou $m/z = 281$.

Essa dificuldade em identificar os compostos encontrados no massas se deve pela parte química da NP não ser totalmente explorada, tendo uma literatura muito escassa no reconhecimento dos metabólitos especiais presentes na espécie. Contudo, sabendo-se que *C. illinoensis* é composta em grande quantidade por lipídeos, principalmente do tipo AG insaturado, como mostrado nos resultados de CG e composição centesimal dessa pesquisa. Por isso, sugere-se que a maioria dos picos não descobertos dos compostos, nessa espécie, possa ser de substâncias graxas, tendo em vista que a massa molecular do AG oleico, lipídeo majoritário da NP, corresponde à 282 e do linoleico, o segundo composto graxo mais presente, 280. Como na análise por espectrometria de massas no modo negativo tem-se a perda de um hidrogênio de cada composto, a razão massa/carga desses AGs coincidiria com os valores encontrados nos espectros (De LIMA et al., 2014). Ainda, de acordo com Simas (2010) e Saraiva (2008), é comum a apresentação dos lipídeos em vegetais na forma de TAGs, simples ou compostos, e a possibilidade de identificação desses no espectrômetro de massas é visualizada por meio das fragmentações de cada AG que compõe os TAGs.

Logo, esses compostos não foram detalhados considerando-se a escassez de referências já relatada. Entretanto, nosso grupo de pesquisa pretende continuar trabalhando com *Carya illinoensis*, principalmente na parte química, para agregar novas informações na literatura que, futuramente, possam contribuir para outros pesquisadores interessados na espécie.

6. CONCLUSÃO

Dos resultados gerados nesse trabalho, é possível classifica-los naqueles de maior relevância e também nos que tiveram algumas limitações. Os primeiros, detalhados abaixo, são considerados dados de grande valia por contribuírem de forma positiva para o binômio dieta/saúde e demonstrarem as atividades exercidas pela espécie *C. illinoensis*.

- a) Atividade antidiabética – Efeito hipoglicêmico das amêndoas da NP na concentração de 10% em ratos diabéticos;
- b) Manutenção do peso corporal – A ingestão de NP contribuiu para a não elevação do peso dos ratos experimentais por meio dos mecanismos termogênicos, da saciedade e da diminuição da absorção intestinal;
- c) Atividade antifúngica do extrato hidroetanólico 70% (v/v) das amêndoas da NP (ENP) – O potente efeito da espécie pode ser visto contra *Candida glabrata* e *Candida krusei*, cepas patogênicas e com grande resistência na terapêutica;
- d) Elevada concentração de AGs insaturados – A determinação desses lipídeos favoreceu a discussão dos possíveis mecanismos dos efeitos de *C. illinoensis*, mostrando que o AG oleico e o AG linoleico são os grandes responsáveis por eles.

Os outros resultados que tiveram limitações por não apresentarem dados confiáveis e/ou que não puderam ser interpretados, também podem ser úteis e servir como base para os próximos pesquisadores interessados em investigarem a espécie. São eles:

- e) Perfil lipídico da NP à 6% - Os parâmetros bioquímicos CT, HDL e TAG do soro de ratos diabéticos e não diabéticos tratados com a NP à 6%, mostraram-se incoerentes, apresentando aumentos discrepantes e com desvios padrões altos;
- f) Perfil químico do ENP – A determinação por espectrometria de massas dos metabólitos secundários na espécie não foi conclusiva, apresentando espectros de moléculas desconhecidas e, portanto, inéditas, sendo questionadas também como possíveis responsáveis pelos efeitos de *C. illinoensis*.

Em suma, é possível concluir que as amêndoas da espécie *C. illinoensis* apresentam diversas atividades que contribuem para a manutenção da saúde. Entretanto, algumas dessas ainda necessitam de estudos mais aprofundados para uma melhor compreensão.

REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, H. M. et al. Antidiabetic activity of phenolic compounds from Pecan bark in streptozotocin- induced diabetic rats. **Phytochem. Lett**, v. 4, 337–341, 2011.
- AGROLINE. **Pecanita lança projeto para ampliar plantação de nogueiras no RS**, 2010. Disponível em: <http://www.agronline.com.br/agronoticias/noticia.php?id=19388>. [Consulta em 17 de outubro de 2017].
- AMARAL, L. F. T. **Remodelamento de partículas lipoprotéicas de alta densidade (hdl) e atividade antioxidante entre pacientes diabéticos e não diabéticos com doença aterosclerótica coronária**. 2015. 51f. Dissertação (mestrado em Biotecnologia em saúde e medicina investigativa) – FioCruz, Salvador, 2015.
- AMARAL, L. F. G.; FIERRO, I. M. Profile of medicinal plants utilization through patente documents: the andiroba example. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n.4, p. 716-722, 2013.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Classification and Diagnosis of Diabetes. **Diabetes Care**, v. 40, s. 1, p. 11-24, 2017.
- ANDRADE, R. A. M. S. et al. Optimization of the extraction of polyphenols from cashew apple agro-industrial residues. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 2, p. 354-360, 2015.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA.). **RDC Nº 26, de 13 de maio de 2014**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Brasília: ANVISA, 2014.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Method of Analysis**. Washington, DC, USA, 18. ed, 2005.
- ARAÚJO, E. J. F. et al. Aspectos toxicológicos da planta medicinal *Casearia sylvestris* Swartz: revisão de literatura. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v. 35, n. 3, p. 355-361, 2014.
- ATANASOV, A. G. et al. Pecan nuts: A review of reported bioactivities and health effects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 246–257, 2018.
- BASTOS, R. G. **Caracterização fitoquímica e avaliação das atividades biológicas dos extratos obtidos das folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae)**. 2016. 180 f. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2016.
- BEGASHAW, B. et al. Methanol leaves extract *Hibiscus micranthus* Linn exhibited antibacterial and wound healing activities. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 337, p. 1-11, 2017.
- BENEVIDES, J. A. J.; MARINHO, G. M. Degradação de pesticidas por fungos – Uma revisão. **Holos**, v. 2, n. 31, p. 110-129, 2015.

BERTOLANI, K. C., VENTRIGLIO, S. I., DAVANÇO, T. Benefícios da dieta Mediterrânea. **Revista Multidisciplinar da Saúde**, v. 1, n. 10, 2014.

BES-RASTROLLO, M. et al. Prospective study of nut consumption, long-term weight change, and obesity risk in women. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 89, n. 6, p. 1913-1919, 2009.

BHARDWAJ, E.; SHARMA, D. Medicinal and therapeutic properties of pecan (*Carya illinoensis*). **International Journal of Herbal Medicine**, v. 5, n. 6, p. 1-3, 2017.

BIESEK, S.; ALVES, L. A.; GUERRA, I. **Estratégias de nutrição e suplementação no esporte**. 3. ed. Editora Manole, 2015.

BORGES, A. et al. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. **Microbial Drug Resistance**, v. 19, n. 4, p. 256-265, 2013.

BOVANOVA, L.; BRANDŠTETEROVÁ, E.; BAXA, S. HPLC determination of stevioside in plant material and food samples. **European Food Research & Technology**, v. 207, n. 5, p. 352-355, 1998.

BRAGA, A. D. A.; BARLETA, V. C. N. Alimento Funcional: uma nova abordagem terapêutica das dislipidemias como prevenção da doença aterosclerótica. **Cadernos UniFOA**, v. 2, n. 3, p. 100-120, 2017.

BRAGA, D. C. et al. Avaliação da função renal em pacientes com diabetes *mellitus* em um município rural do meio oeste de Santa Catarina. **Arq. Catarin. Med.**, v. 45, n. 3, p. 84-92, 2016.

BRAGA, M. D.; SILVA, C. C. M. Atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *Copaifera langsdorffii* Desf. sobre *Staphylococcus aureus*. **Unimontes**, v.9, n.1, p. 91-97, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica**. Brasília, 2012.

BURSTEIN, M.; SCHOLNICK, H. R.; MORFIN, R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. **Journal of Lipid Research**, v. 11, n. 6, p. 583-595, 1970.

BURTIS, C. A.; BRUNS, D. E. **Tietz fundamentos de química clínica e diagnóstico molecular**. Rio de Janeiro, Elsevier, 2016.

CAMPOS, R. S. **Atividade antifúngica da *Palmatina* frente a isolados de *Candida spp.* resistentes a Azólicos e sua atividade contra biofilme formado e em formação**. 2017. 104f. Tese (doutorado em Microbiologia Médica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

CARDOZO, L.; MAFRA, D. Alimentação pode levar a benefícios para o sistema cardiovascular: fato ou ficção?. **Int J Cardiovasc Sci**, v. 28, n. 2, p. 87-88, 2015.

CARVALHO, A. F. et al. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexano a partir das flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L.). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 16, n. 3, p. 521-526, 2014.

CASADO, M. A soja (*Glycine max (L.) Merril*) como alimento funcional auxiliar na prevenção do câncer de mama. 2010. 37f. Monografia (Graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

CASAS-AGUSTENCH, P. et al. Effects of one serving of mixed nuts on serum lipids, insulin resistance and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 21, p.126-135, 2011.

CASTRO, M. C. A. Ocorrência de espécies do complexo *Candida parapsilosis* em amostras biológicas de pacientes e profissionais de saúde de hospitais do Natal/RN. 2017. 77f. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.

CATÃO, R. M. R. et al. Atividade antibacteriana e efeito interativo in vitro de um produto a base de cranberry sobre *Escherichia coli*. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 35, n. 4, p. 723-729, 2014.

CAXAMBÚ, S. et al. Evaluation of the antimicrobial activity of pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] shell aqueous extract on minimally processed lettuce leaves. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 36, p. 42-45, 2016.

CAZAL, M. M. Práticas alimentares, efeito do índice glicêmico e da hidratação no desempenho de ciclistas. 2010. 128f. Dissertação (mestrado em Ciências da Nutrição) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

CHACÓN-GARZA, E. et al. Elaboration and sensory evaluation of pecan nut butter (*Carya Illinoensis* K) suitable for people with chronic diseases L. **Journal of Engineering Research and Application**, v. 6, n. 12, p .97-101, 2016.

CHANEY, A. L; MARBACH, E. P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v. 8, n. 2, p. 130-132, 1961.

CHAVASCO, J. M. et al. Evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of plant extracts from southern Minas Gerais Cerrado. **Revista Instituto Medicina tropical de São Paulo**, v. 56, n. 1, p. 13-20, 2014.

CHAYAROP, K. et al. Hypoglycaemic activity of Mathurameha, a Thai traditional herbal formula aqueous extract, and its effect on biochemical profiles of streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, p. 343, 2017.

CHRISTIE W. W. Gas Chromatography and Lipids: A Practical Guide. **The Oil Press**, 1989.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. CLSI document M100-S24**. Wayne, USA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2014.

CORREIA, A. F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas do Cerrado brasileiro sobre isolados clínicos de *Candida Spp*. 2016. 95f. Tese (doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. **Alimentos Funcionais: Componentes Bioativos e Efeitos Fisiológicos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2016.

COSTA, T.; JORGE, N. Characterization of *Carya illinoensis* and *Juglans regia* oils obtained by different extraction systems. **Acta Scientiarum Technology**, v. 37, n. 2, p. 279-285, 2015.

COSTA, T. **Caracterização e propriedades funcionais de óleos extraídos de castanhas e nozes**. 2011. 121f. Dissertação (mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São Jose do Rio Preto, 2011.

COSTA, T.; JORGE, N. Compostos bioativos benéficos presentes em castanhas e nozes. **Cient Ciênc Biol Saúde**, v.13, n. 3, p. 195-203, 2011.

CRUZ-VEGA, D. E. et al. Antimycobacterial activity of *Juglan regia*, *Juglans mollis*, *Carya illinoensis* and *Bocconia frutescens*. **Phytotherapy Research**, v. 22, p. 557-559, 2008.

CUNHA, R.G. **Adesão ao tratamento de diabetes na equipe do Programa de Saúde da Família da Cidade Industrial no município de Montes Claros**. 2015. 27f. Monografia (conclusão de curso) - Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2015.

Da SILVA, V. D.; NOGUEIRA, R. M. B. Diabetes mellitus experimental induzido com aloxana em ratos Wistar. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciencies**, v. 36, n. 1, 2015.

De La ROSA, L. A. et al. Content of major classes of polyphenolic compounds, antioxidant, antiproliferative, and cell protective activity of pecan crude extracts and their fractions. **Journal of Functional Foods**, p. 1-10, 2014.

De LIMA, B. R. et al. Solid phase extraction of phospholipids from Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*) and their characterization by Mass Spectrometry Analysis. **Mass Spectrometry Letters**, v. 5, n. 4, p. 115-119, 2014.

De LIMA, S. S. **O cultivo de noz pecã no município de Itaqui-RS: O estudo de caso do sítio Parintins**. 2011. 50f. Monografia (conclusão do curso de Planejamento e Gestão para o Desenvolvimento Rural) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Itaqui, 2011.

De ROSSI, T. et al. Interações entre *Candida albicans* e Hospedeiro. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 32, n. 1, p. 15-28, 2011.

DIERKES, G. et al. High-Performance Liquid Chromatography – Mass Spectrometry Profiling of Phenolic Compounds for Evaluation of Olive Oil Bitterness and Pungency. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 60, p. 759 –766, 2012.

DOMÍNGUEZ-AVILA, J. A. et al. The pecan nut (*Carya illinoensis*) and its oil and polyphenolic fractions differentially modulate lipid metabolism and the antioxidant enzyme activities in rats fed high-fat diets. **Food Chemistry**, v. 168, p. 529-537, 2015.

Dos SANTOS, J. E. F. et al. Atividade antifúngica in vitro de plantas medicinais frente a leveduras isoladas de secreção vaginal. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 11, n. 3, p. 34-44, 2017.

Dos SANTOS, E. F. **Avaliação da suplementação de povidexose no metabolismo de ferro, na morfologia do intestino e alterações hepáticas após a derivação jejuno-ileal.** 2011. 172f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

EAGAPPAN, K.; SASIKUMAR, S. Therapeutic effects of nuts in various diseases. **International Journal of Recent Scientific Research**, v. 5, n. 1, p. 190-197, 2014.

ESTRUCH, R. et al. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet. **N Engl J Med**, n. 368, v. 14, p. 1279-1290, 2013.

EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (EUCAST). **Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts. DOCUMENT E.DEF 7.3.1**, 2017a.

EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (EUCAST). **Media preparation for EUCAST disk diffusion testing and for determination of MIC values by the broth microdilution method. Version 5.0**, 2017b.

FABINY, D. L.; ERTINGHAUSEN, G. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the CentrifChem. **Clinical Chemistry**, v. 17, n. 8, p. 696-700, 1971.

FARIAS, H. G. Considerações sobre dietas experimentais para animais de laboratório: formulações, aplicações, fornecimento e efeitos experimentais. In: **I Simpósio de bioterismo da Fiocruz-PE**, 2010.

FERNANDES, D. C. **Efeito da amêndoa de bauru, amendoim e castanha do pará no perfil sérico e na peroxidação de lipídeos em ratos com dieta hiperlipídica.** 2011. 61. Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

FERREIRA, A. M. et al. Utilização dos ácidos graxos no tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura nacional. **Rev. esc. enferm.**, n. 3, v. 46, 2012.

FIRESTONE, D. **Physical and Chemical Characteristics of Oil, Fats and Waxes**, AOCS Press, Washington, 1999.

FLORES-CÓRDOVA, M. A. et al. Bioactive compounds and phytonutrients in edible part and nutshell of pecan (*Carya illinoensis*). **Cogent Food & Agriculture**, p. 9, 2016.

FOSTER-POWEL, K.; HOLT, S. H. A.; BRAND-MILLER, J. C. International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. **Am J Clin Nutr.**, v. 76, p. 5-56, 2002.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.

GARDEA, A. A.; MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M. A. Pecan (*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch.). **Research Center for Food and Development**, p. 143-166, 2011.

- GHIRAVANI, Z. et al. Evaluation of hypoglycemic and hypolipidemic effects of internal septum of walnut fruit in alloxan-induced diabetic rats. **Afr J Tradit Complement Altern Med**, v. 13, n. 2, p. 94-100, 2016.
- GHORBANI, R.; et al. The Effect of Walnut on the Weight, Blood Glucose and Sex Hormones of Diabetic Male Rats. **Int. J. Morphol.**, v. 32, n. 3, p. 833-838, 2014.
- GOIS, G. C. et al. Composição de ácidos graxos na carne ovina. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management** v. 12, n. 3, 2016.
- GOVERNA, P. et al. Phytotherapy in the management of diabetes: a review. **Molecules**, v. 23, n. 105, 2018.
- GRAUKE, L. J.; THOMPSON, T. E. **Pecans and hickories**,. In: J. Janick and J. N. Moore (eds.). Nuts Fruit breeding vol. III. Wiley, New York, p. 185 – 239, 1996.
- GREEN, C. J. et al. Ketamine alone and combined with diazepam or xylazine in laboratory animals: a 10 year experience. **Laboratory Animals**, v. 15, p. 163-170, 1981.
- GUASCH-FERRÉ, M. et al. Polyphenols, Mediterranean Diet, Prediabetes, and Type 2 Diabetes: A Narrative Review of the Evidence. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1-16, 2017.
- HILBIG, J. et al. Aqueous extract from Pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] shell show activity against breast cancer cell line MCF-7 and Ehrlich ascites tumor in Balb-C mice. **Journal of Ethnopharmacology**, 2017.
- HIPÓLITO, A.; FRANCISCO, W. C. **Compreensão da rotulagem nutricional por universitários da Universidade Tecnológica Federal do Paraná: Campus Londrina**. 2015. 61f. Monografia (Conclusão de Curso de Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2015.
- HOLETS, F. B. et al. Screening of some slants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.
- HUANG, C. B. et al. Short- and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms. **Archives of Oral Biology**, v. 56, n. 7, p. 650-654, 2011.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). **Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems — Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. ISO 20776-1:2006**. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2006.
- JIANG, R. et al. Nut and peanut butter consumption and risk of type 2 diabetes in women. **Jama**, v. 288, n. 20, p. 2554-60, 2002.
- KABIR, M. A.; AHMAD, Z. Review Article: *Candida* Infections and Their Prevention. **ISRN Preventive Medicine**, p. 1-13, 2013.

KURECK, I. **Obtenção e caracterização de micropartículas de zeína carregadas com extratos antioxidantes de casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (wangenh) C. Koch]**. 2014. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

LEITZMANN, C. Characteristics and Health Benefits of Phytochemicals. **Forsch Komplementmed**, v. 23, p. 69-74, 2016.

LENHARD, L. G. et al. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodieséis produzidos a partir de óleos vegetais. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n. 2, p. 10529-10536, 2015.

LEY, S. H. et al. Prevention and management of type 2 diabetes: dietary components and nutritional strategies. **The Lancet**, v. 383, p. 1999-2007, 2014.

LIMA, R. K.; et al. Bactericidal and antioxidant activity of essential oils from *Myristica fragrans* Houtt and *Salvia microphylla* H.B.K. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, p. 523-528, 2012.

LIMA, I. O. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia - Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 2, p. 197-201, 2006.

LINS, T. C. L. **Efeitos de ácidos graxos-poli-insaturados ômega-3 no tratamento de pacientes com Diabetes Mellitus: Revisão sistemática e meta-análise**. 2014. 30f. Monografia (conclusão de curso de Nutrição) - Universidade de Brasília, Brasília, 2014

LUCHTENBERG, R. **Caracterização e atividade antimicrobiana de micropartículas carregadas de ácidos graxos de cadeia curta obtidas por spray drying**. 2014. 95f. Dissertação (mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

LUO, C. et al. Nut consumption and risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis. **Am J Clin Nutr**, v. 100, n. 1, p. 256-269, 2014.

MAGUIRE, L. S. et al. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 55, n. 3, p. 171-178, 2004.

MALTA, D. C. et al. Fatores associados ao diabetes autorreferido segundo a Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Rev. Saude Publica**, v.51, p. 1-12, 2017.

MATTISON, C. P. et al. RNA-Seq Analysis of Developing Pecan (*Carya illinoensis*) Embryos Reveals Parallel Expression Patterns Among Allergen and Lipid Metabolism Genes. **J. Agric. Food Chem.**, v. 27, p. 1-44, 2017.

MAZZUTTI, S. **Obtenção de extrato de cogumelo do sol (*Agaricus brasiliensis*): atividade antioxidante, antibacteriana e antifúngica**. 2012. 119f. Dissertação (mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

MCLELLAN, K. C. P. et al. *Diabetes mellitus* do tipo 2, síndrome metabólica e modificação no estilo de vida. **Rev. Nutr.**, v. 20, n. 5, p. 515-524, 2007.

MERCON, F. O que é uma Gordura Trans? **Química nova na escola**, v. 32, n. 2, 2010.

MILECH, A. et al. Diretrizes da sociedade brasileira de diabetes (2015-2016). **São Paulo: AC Farmacêutica**, 2016.

MORAES, A. L.; ARAÚJO, N. G. P.; BRAGA, T. L. Automedicação: revisando a literatura sobre a resistência bacteriana aos antibióticos. **Revista Eletrônica Estácio Saúde**, v. 5, n. 1, p. 122 – 132, 2016.

MOREIRA, N. X.; CURI, R.; MANCINI FILHO, J. Ácidos graxos: uma revisão. **Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, v. 24, p.105-123, 2002.

MOKOCHINSKI, F. M. **Estimativa de produção, caracterização física e perfil químico de amêndoas de noqueira-pecã**. 2015. 67f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2015.

NASCIMENTO, G. O. et al. Ação de óleos vegetais no controle de Sigatoka-Negra (*Mycosphaerella fijiensis morelet*) de bananeiras (*Musa* sp.), na região do Alto Juruá, Acre. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 19, p. 2014

NAKABAYASHI, R.; SAITO, K. Metabolomics for unknown plant metabolites. **Anal Bioanal Chem**, p. 1-7, 2013.

NETO, M. P. L.; ROSA, F. C. F.; BARBOSA, T. J. A. Monitoramento dos níveis séricos de ureia e creatinina de pacientes com diabetes mellitus em um laboratório público de Teresina-pi. **R. Interd.**, v. 7, n. 3, p. 37-49, 2014.

OLIVEIRA, L. F. V. **Influências do espaço e do tempo nas comunidades microbianas ao longo do Rio dos Sinos**. 2015. 50f. Tese (doutorado em Ciências Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

ORO, T. **Composicao nutricional, compostos bioativos e vida util de noz e óleo extravirgem de noz-peca [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]**. 2007. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

ORTIZ, E. R. N. **Propriedades nutritivas e nutracêuticas das nozes**. 2000. 49f. Monografia (Especialização em Tecnologia de Alimentos) - Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2000.

OZCARIZ FERMOSELLE, M. V. **Aprovechamiento de residuos agroforestales, con particular interés en los originados en explotaciones de Nuez Pecán (*Carya illinoensis*), por medio del cultivo de hongos saprófitos saludables ibéricos**. 2016. 122f. Tese (doutorado em engenharia agrária e florestal) - Universidade de Valladolid, 2016.

PAULUS, E. **Preparo do solo no estabelecimento inicial da noqueira-pecã *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch em argissolo vermelho no Rio Grande do Sul.** 2015. 93f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2015.

PASINI, F. et al. Phospholipids in cereals, nuts and some selected oilseeds. **Recent Res. Devel. Lipids**, v. 9, p. 139-201, 2013.

PELICER, M. L. S. A importância da atenção farmacêutica no uso de medicamento fitoterápico *Tribulus terrestris* no âmbito da farmácia de manipulação. **Revista Especializada On-line IPOG**, v. 1, n. 6, 2013.

PIRES, A. F. **Atividade antifúngica de plantas medicinais sobre o desenvolvimento de *Fusarium verticillioides* em sementes de milho crioulo.** 2015. 40f. Monografia (conclusão do curso de Engenharia agrônoma) - Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2015.

POLETO, T. et al. **Análise de características dos frutos de cultivares de noqueira-pecã cultivadas no Rio Grande do Sul.** In: XVI Simpósio de Ensino, Pesquisa e Extensão. Santa Maria: UNIFRA, 2012.

PORTO, L. C. S. et al. The Antidiabetic and Antihypercholesterolemic Effects of an Aqueous Extract from Pecan Shells in Wistar Rats. **Plant Foods Hum Nutr**, 2015.

PORTO, L. C. S. et al. Evaluation of acute and subacute toxicity and mutagenic activity of the aqueous extract of pecan shells [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch]. **Food and Chemical Toxicology**, v. 59, p. 579-585, 2013.

POULOSE, S. M.; BIELINSKI, D. F.; SHUKITT-HALE, B. Walnut diet reduces accumulation of polyubiquitinated proteins and inflammation in the brain of aged rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, p. 912-919, 2013.

PRADO, A. C. P. et al. Effect of the extraction process on the phenolic compounds profile and the antioxidant and antimicrobial activity of extracts of pecan nut [(Wangenh.) C. Koch] shell. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 552-561, 2014.

PRADO, A. C. P. **Identificação e avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de compostos fenólicos da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch].** 2013. 244f. Tese (doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

RAJARAM, S.; SABATE, J. Nuts, body weight and insulin resistance. **British Journal of Nutrition**, v. 96, n. 2, p. S79-S86, 2006.

RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. A Química dos Óleos e Gorduras e seus Processos de Extração e Refino. **Rev. Virtual Quim.**, n. 5, v.1, p. 2-15, 2013.

RECKZIEGEL, P. **Efeitos benéficos do extrato das cascas de noz pecã (*Carya illinoensis*) sobre parâmetros bioquímicos e comportamentais de camundongos expostos ao fumo passivo.** 2011. 97f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

REIS, M. A. **Avaliação dos efeitos do óleo obtido das amêndoas de baru (*Dipteryx alata* vog.) sobre marcadores de risco cardiovascular e funções hepática e renal em ratos normais e dislipidêmicos.** 2016. 73f. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2016.

REIS, A. R. R. et al. Conhecendo os benefícios dos alimentos: alimentos funcionais. **Revista de Extensão da UNIVASF**, v. 4, n. 2, 2016.

RENGEL, A. et al. Lipid Profile and Antioxidant Activity of Macadamia Nuts (*Macadamia integrifolia*) Cultivated in Venezuela. **Natural Science**, v. 7, p. 535-547, 2015.

RICCARDI, G.; GIACCO, R.; RIVELLESE, A. A. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. **Clinical Nutrition**, v. 23, p. 447–456, 2004.

ROBBINS, K. S. **Bioactive constituents of pecans [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K.** 2012. 235f. Tese (doutorado em Filosofia) - Universidade de Geórgia, Georgia, 2012.

ROCHA, F. A. G. et al. O uso terapêutico da flora na história mundial. **Holos**, v. 1. p. 49-61, 2015.

RODWELL, V. W. et al. **Bioquímica Ilustrada de Harper.** Lange, 30. ed. São Paulo: McGraw-Hill, 832 p., 2016.

ROVANI, F. F. M.; WOLLMANN, C. A.; MONTEIRO, A. Exigências bioclimáticas e riscos climáticos ao cultivo da noqueira pecã (*Carya illinoensis*) no Rio Grande do Sul, Brasil. In: **Os Valores da Geografia: Atas do X Congresso da Geografia Portuguesa.** 2015.

SCHERR, C. et al. Concentração de ácidos graxos e colesterol de peixes habitualmente consumidos no Brasil. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 104, n. 2, p. 152-158, 2015.

SALGADO, J. **Alimentos funcionais.** Oficina de Textos, 2016.

SALVADOR, A. A. et al. Increasing the value of pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh) C.Koch] cake by means of oil extraction and antioxidant activity evaluation. **J. of Supercritical Fluids**, v. 116, p. 215–222, 2016.

SALLES, B. C. C. **Avaliação dos efeitos do extrato e da fração flavonoídica obtidos das folhas do maracujá (*Passiflora edulis* Sims) sobre a modulação da NADPH oxidase e agregação plaquetária em ratos diabéticos.** 2017. Tese (doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2017.

SALLES, L. G. **Os alimentos funcionais no Brasil: uma análise dos produtos registrados com alegações de propriedade funcional e/ou de saúde entre 1999 e 2013.** 2013. 109f. Monografia (conclusão do curso de Ciências Sociais) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

SARAIVA, S. A. **Caracterização de matérias-primas e produtos derivados de origem graxa por Espectrometria de Massas.** 2008. 76f. Dissertação (mestrado em Química Orgânica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

SCAPINELLO, J. et al. Fatty acid profile of pecan nut oils obtained from pressurized n-butane and cold pressing compared with commercial oils. **J Food Sci Technol**, 2017.

SEKI, M. O.; MATSUO, T.; SEKI, M. Colesterol não-HDL em escolares de 7 a 17 anos de idade em um município brasileiro. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 21, p. 307-312, 2007.

SILVA, A. C. C. et al. Alimentos Contendo Ingredientes Funcionais em sua Formulação. **Revista Conexão Ciência**, v. 11, n. 2, p. 133 – 144, 2016.

SILVA, C. M. A. **Metabólitos secundários de plantas do semi-árido de Pernambuco – Uma nova inovação no controle de fitopatógenos**. 2013. 112f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

SILVA, N. A. O. et al. Níveis Séricos de Colesterol não HDL como Marcador de Risco Cardiovascular em Pacientes com Hipotireoidismo Subclínico. **Rev SOCERJ**, v. 22, n. 2, p. 80-85, 2009.

SIMAS, R. C. **Caracterização de óleos vegetais e petróleo por Espectrometria de Massas em condições ambiente e com alta exatidão e resolução**. 2010. 179f. Tese (doutorado em Química Analítica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

SIMÕES, G. D. Crem (*Tropaeolum pentaphyllum* Lam): **Caracterização Química, antioxidante e sua aplicação como condimento em uma pasta vegetal**. 2015. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria, 2015.

SIMONETTI, E. **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de Eugenia anomala e Psidium salutare (Myrtaceae) frente à Escherichia coli e Listeria monocytogenes**. 2015. 101f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, 2015.

SISENANDO, H. A., et al. Microalbuminúria e clearance de creatinina: importância do diagnóstico precoce na prevenção da disfunção renal em pacientes com diabetes mellitus tipo 1. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 8, n.1, p. 14 - 21, 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES(SBD). **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018**. São Paulo: Ed. Clannad; 2017. Disponível em: <http://www.diabetes.org.br/profissionais/images/2017/diretrizes/diretrizes-sbd-2017-2018.pdf>. Acesso em: 05 de março de 2018.

SODRÉ, F. L.; COSTA, J. C. B.; LIMA, J. C. C. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 5, p. 329-337, 2007.

SOUSA, D. N. **Levantamento de patentes sobre a planta *Moringa oleifera* no Brasil e no mundo**. 2016. 79f. Dissertação (Mestrado em Engenharia, Tecnologia e Gestão) - Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2016.

STELLA, A. L. S.; LUCCHESI, O. A. Avaliação da bibliografia livre como subsídio aos sistemas de cultivo de noqueira-pecã (*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch). **Salão do conhecimento**, v. 1, n. 1, 2015.

SUBRAMANI, R.; NARAYANASAMY, M. e FEUSSNER, K. D. Plant-derived antimicrobials to fight against multi-drug-resistant human pathogens. **Biotech**, v. 7, n. 172, p. 1-15, 2017.

SZWEDA, P. et al. Essential oils, silver nanoparticles and propolis as alternative agents against fluconazole resistant *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Candida krusei* clinical isolates. **Indian J Microbiol**, v.55, n. 2, p. 175-183, 2014.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). 4. ed revisada e ampliada. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011.

TANAKA, J. C. A. et al. Constituintes químicos de *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). **Química Nova**, v.5, p.834- 7, 2005.

TIAN, C. et al. Chong et al. Green tea polyphenols reduced fat deposits in high fat-fed rats via erk1/2-PPAR γ -adiponectin pathway. **PloS one**, v. 8, n. 1, p. e53796, 2013.

TORO-VAZQUEZ, J. F.; CHARÓ-ALONSO, M. A.; PÉREZ-BRICEÑO, F. Fatty Acid Composition and Its Relationship with Physicochemical Properties of Pecan (*Carya illinoensis*) Oil. **JAACS**, v. 76, n. 8, 1999.

TRIGUERO, M. L. M. et al. Alteraciones del metabolismo de las lipoproteínas. **Medicine**, v. 11, n. 19, p. 1125-9, 2012.

TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor. **Journal of Clinical Pathology**, v. 22, n. 2, p. 158-161, 1969.

VAZ, L. C. M. A. **Efeito da ingestão de proteína de amaranto no metabolismo do colesterol em ratos**. 2010. 113f. Dissertação de mestrado em Ciências pela Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-28, 2005.

VENKATACHALAM, M. **Chemical composition of select pecan [*Carya illinoensis*(Wangenh.) K. Koch] varieties and antigenic stability of pecan proteins**. 2004. 90p. (Dissertação de mestrado em Ciências sociais) - The Florida State University, 2004.

VESSBY, B. et al. Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study. **Diabetologia**, v. 44, n. 3, p. 312-319, 2001.

VIANA, D. E. L.; DANTAS, M. M.; MENEZES, M. E. S. Ácidos graxos e sua utilização em doenças cardiovasculares: uma revisão. **RSC online**, v. 5, n. 2, p. 65-83, 2016.

VIANA, M. R.; RODRIGUEZ, T. T. Complicações cardiovasculares e renais no diabetes mellitus. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 10, n. 3, p. 290–296, 2011.

VIDAL, V. T.; PINTOS, V. V. G. **Caracterización de la nuez pecan “*Carya illinoensis*” y sus perspectivas de comercialización en el Uruguay**. Tese (doutorado em Engenharia Agrônoma) - Universidade da República do Uruguai, Montevideo, 2013.

VIGULIOUK, E. et al. Effect of tree nuts on glycemic control in diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled dietary trials. **PloS one**, v. 9, n. 7, 2014.

VILLARREAL-LOZOYA, J. E.; LOMBARDINI, L.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars. **Food Chemistry**, n. 102, p. 1241–1249, 2007.

WILLIS, L. M. et al. Dose-dependent effects of walnuts on motor and cognitive function in aged rats. **British Journal of Nutrition**, v. 101, p. 1140–1144, 2009.

XAVIER, H. T. et al. V Diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 101, n. 4, p. 1-20, 2013.